

**STUDI TENTANG BIOLOGI REPRODUKSI
DAN INSEMINASI BUATAN PADA TERNAK KAMBING ***

**YUHARA SUKRA, MOZES R. TOELIHERE, BARIZI,
MANSOERDIN BUYUNG T. dan LUKMAN RAHARDJA**

Institut Pertanian Bogor

SUMMARY

**A STUDY ON THE BIOLOGY OF REPRODUCTION
AND ARTIFICIAL INSEMINATION IN GOATS**

A series of experiments was carried out in 1981 through 1982 to study the estrous cycle and its control with $PGF_2 \alpha$; semen evaluation, dilution and preservation; separation of X and Y chromosomes and its identification; and artificial insemination using fresh and frozen semen in native goats.

Estrus was detected twice a day on 30 female native goats using a teaser he-goat. An amount of 7.5 mg of $PGF_2 \alpha$ was injected intramuscularly between day-5 and day-12 of the cycle.

Semen was collected from 10 he-goats and diluted in egg-yolk citrate diluter, whole milk and skim milk in various concentrations.

Sephadex series G and C were used in the trial to separate the X and Y chromosomes. The filtrate was identified using quinacrine hydrochloride.

AI using fresh and frozen semen was compared with the natural service. Pregnancy was diagnosed through laparotomy on the 40th to 45th day after service.

The result of these experiments shows that the estrous cycle length of the native she-goat ranges from 17 to 23 days, averaging 20 days. Estrus lasts about 2 days, ranging from 1.5 to 2.5 days.

All she-goats came in heat one to 5 days, averaging 2.7 days, after the injection of $PGF_2 \alpha$. Most of them (70%) showed estrus 2 to 3 days post injection.

The best diluter for the native goat semen is apparently the 12% skim milk. Spermatozoa in this diluter were held alive for 14 to 16 days in 5°C.

The X and Y chromosomes could not be separated in this experiment. Their identification after the filtration through Sephadex was negative.

The pregnancy resulting from natural mating (90%) was higher than AI using fresh semen (50%) as well as frozen semen (60%). This difference is statistically significant ($P=0.062$).

RANGKUMAN

Serangkaian penelitian telah dilakukan antara tahun 1981 sampai 1982 untuk mengamati berahi dan siklus berahi serta pengendalian siklus berahi memakai $PGF_2 \alpha$: evaluasi, pengencer-

* Proyek Studi Sektoral/Regional, Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Departemen P dan K, No. 592/PSSR/DP3M/7/80.

an dan pembekuan semen; percobaan pemisahan spermatozoa X dan Y dan identifikasinya; dan percobaan inseminasi buatan dengan semen cair dan semen beku pada sekelompok kambing kacang.

Pengamatan berahi dilakukan dua kali sehari memakai pejantan pengusik. Penyerentakan berahi dilakukan dengan penyuntikan $\text{PGF}_2 \alpha$ 7.5 mg. i.m. antara hari ke-5 dan ke-12 siklus berahi.

Pengenceran semen dilakukan memakai pengencer sitrat kuning telur, air susu sapi, dan susu skim dalam berbagai konsentrasi.

Percobaan pemisahan spermatozoa X dan Y dilakukan dengan Sefadeks seri G dan seri C. Hasil penyaringan dengan Sefadeks diuji dengan identifikasi memakai kuinakrin-hidrokhlorida.

Inseminasi buatan dengan semen cair dan semen beku dibandingkan terhadap hasil perkawinan alam. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan dengan laparotomi 40 sampai 45 hari kemudian.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lama berahi pada kambing kacang berkisar antara 1,5 sampai 2,5 hari, rata-rata 2 hari. Lama siklus berahi berkisar antara 17 sampai 23 hari, rata-rata 20 hari.

Semua hewan betina percobaan memberi respons positif terhadap penyuntikan $\text{PGF}_2 \alpha$ dengan memperlihatkan berahi satu sampai 5 hari, rata-rata 2,7 hari, sesudah penyuntikan preparat tersebut. Jumlah terbanyak (70%) memperlihatkan berahi 2–3 hari sesudah penyuntikan $\text{PGF}_2 \alpha$.

Nampaknya pengencer yang terbaik untuk pengawetan semen kambing kacang adalah susu skim 12%. Spermatozoa di dalam pengencer ini yang disimpan pada suhu 5°C bertahan hidup sampai 14–16 hari.

Ternyata bahwa spermatozoa X dan Y tidak dapat dipisahkan dengan Sefadeks. Percobaan identifikasi spermatozoa X dan Y tidak memberi hasil yang positif.

Kebuntingan hasil perkawinan alam (90%) jauh lebih tinggi daripada inseminasi buatan memakai semen cair (50%) maupun semen beku (60%). Perbedaan tersebut nyata secara statistik ($P=0.062$).

PENDAHULUAN

Dengan tercapainya penyediaan karbohidrat non tepung pada akhir Pelita III, makin banyak perhatian mulai ditujukan untuk meningkatkan produksi protein. Kebutuhan dasar protein untuk penduduk Indonesia diperkirakan rata-rata 55 gram/kapita/hari. Dari jumlah tersebut 15 gram berasal dari protein hewani, yaitu 10 gram berasal dari ikan dan 5 gram berasal dari ternak. Sampai saat ini konsumsi protein hewani asal ternak baru mencapai sekitar 3 gram/kapita/hari.

Menghadapi kenyataan tersebut di atas, pemerintah terus melakukan pelbagai usaha pengembangan peternakan di Indonesia. Semua sumber daya ternak yang ada perlu digali dan dimanfaatkan semaksimal mungkin untuk pemenuhan kebutuhan gizi dan peningkatan pendapatan rakyat banyak. Salah satu sumberdaya ternak yang penting yang dianggap sebagai ternak rakyat serta mendapat prioritas dalam Pelita IV yang akan datang adalah kambing.

Ternak kambing tersebar pada setiap propinsi di Indonesia sampai ke daerah-daerah transmigrasi dan dimiliki oleh sebagian besar petani peternak. Di samping manfaatnya sebagai sumber protein hewani dalam bentuk daging yang disuplai untuk penduduk kota, ternak ter-

sebut merupakan sumber pupuk kandang dan berfungsi sebagai tabungan bagi para petani peternak di pedesaan. Di beberapa tempat di pulau Jawa, ternak kambing sudah dimanfaatkan pula sebagai penghasil susu. Dalam masyarakat Indonesia, daging kambing mempunyai nilai popularitas tersendiri dan harganya lebih mahal daripada daging sapi, kerbau dan domba.

Mengingat potensi pengembangan ternak kambing cukup tinggi, maka potensi tersebut perlu digali dan ditingkatkan. Oleh karena itu efisiensi reproduksi dan produksinya perlu mendapat perhatian dan diangkat ke skala prioritas utama dalam pembangunan peternakan. Pengetahuan reproduksi dasar maupun terapan mengenai ternak kambing di Indonesia sebagai bagian integral pengetahuan untuk peningkatan produksi ternak tersebut belum pernah diteliti secara mendalam.

Populasi ternak kambing di Indonesia cenderung menurun selama Pelita II. Jumlah ternak tersebut yang tercatat sebanyak 6,793 juta ekor pada tahun 1973 menurun menjadi 6,112 juta ekor pada tahun 1976, suatu penurunan sebesar 3,4% (Anonim, 1977). Pada permulaan Pelita III populasi ternak kambing sudah menurun sampai 5,886 juta ekor (Anonim, 1980).

Penurunan populasi ternak kambing terutama disebabkan oleh rendahnya produktivitas karena kekurang-pengetahuan peternak mengenai biologi reproduksi dan penanganan perkembangan ternaknya. Di samping itu laju pertumbuhan penduduk dan peningkatan standar pendapatan tidak seimbang dengan daya dukung penyediaan sumber hasil ternak, khususnya ternak kambing, sehingga peningkatan jumlah konsumsi jauh melebihi produksi.

Pemerintah berusaha untuk meningkatkan populasi ternak kambing sebesar 2% per tahun dan pada akhir Pelita III diperkirakan jumlahnya mencapai 6,498 juta ekor (Anonim, 1980). Bahkan menurut rancangan Pelita IV jumlah ternak tersebut akan ditingkatkan menjadi 8,527 juta ekor pada tahun 1988 (Anonim, 1982). Usaha besar dan mulia ini tidak dapat berhasil secara sempurna apabila tidak dilandasi dan dibekali dengan pengetahuan dasar tentang biologi reproduksi ternak yang bersangkutan.

Walaupun belum banyak diteliti, telah diketahui bahwa peternakan kambing dapat memberi keuntungan bagi petani peternak. Ternak kambing mempunyai kapasitas reproduksi yang tinggi dan cepat (Horst, 1978). Selain fertilitas yang tinggi, musim perkawinannya berlangsung sepanjang tahun dengan 2 kali kelahiran setahun, masing-masing 2,0 sampai 2,2 ekor ternak. Keuntungan-keuntungan ini belum diketahui dan dimanfaatkan sepenuhnya oleh petani peternak.

Penyerentakan berahi mempunyai arti ekonomis penting bagi petani peternak. Konsentrasi periode berahi dalam 2 atau 3 hari akan menghemat waktu dan tenaga dalam inseminasi buatan, dan waktu partus serta pemasaran dapat dikonsentrasikan sesuai dengan keinginan peternak yang disesuaikan pula dengan permintaan di pasaran menurut pertimbangan-pertimbangan ekonomis. Sinkronisasi berahi terutama dilakukan dengan prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$). $PGF_2\alpha$ sudah banyak dipakai dalam penyerentakan berahi pada domba. Sinkronisasi berahi pada kambing memakai $PGF_2\alpha$ di Indonesia belum pernah dilakukan.

Pemisahan spermatozoa X dan Y mempunyai berbagai keuntungan jika dapat diterapkan pada usaha-usaha peternakan. Dengan pemisahan kedua jenis spermatozoa ini produktivitas ternak dapat dikendalikan sesuai dengan keperluan "breeding", produksi susu dan pemasaran hasil ternak. Teknik pemisahan yang dicoba pada kambing dapat dipakai sebagai model untuk dikembangkan pada jenis ternak lainnya. Teknik ini dapat dipergunakan untuk memperbaiki performans inseminasi buatan dan mengubah nisbah kelamin 50 : 50 ke arah perbandingan yang sampai menjadi agar-agar atau "gel". Perendaman dilakukan pada suhu kamar dalam jangka waktu tertentu sesuai dengan tipe Sefadeks (Tabel 3).

Dengan pemisahan spermatozoa X dan Y, nisbah ini dapat dirubah sesuai dengan keinginan petani peternak.

Pemisahan spermatozoa X dan spermatozoa Y telah diusahakan oleh beberapa peneliti memakai berbagai metoda. Berbagai metoda tersebut meliputi sedimentasi, sentrifugasi, imunologi, elektroforesis dan filtrasi (Lindhahl, 1958; Ericsson *et al.*, 1973; Steeno *et al.*, 1975; Goodall dan Roberts, 1976; Adimulya *et al.*, 1977; Bhattacharya *et al.*, 1979; Dmowski *et al.*, 1979). Penelitian ini pada umumnya dilakukan terhadap semen manusia.

Metoda yang paling sederhana ialah filtrasi dengan menggunakan Sefadeks. Metoda ini didasarkan pada ukuran spermatozoa dan sifat Sefadeks sebagai media penyaring. Spermatozoa X yang lebih besar memiliki gravitasi yang lebih besar pula daripada spermatozoa Y (Shettles, 1960a; 1960b). Selain ukuran spermatozoa, tipe Sefadeks merupakan faktor penentu dalam keberhasilan proses penyaringan (Anonim, 1969). Tiap tipe Sefadeks hanya dapat melewatkan substansi dengan kisaran berat molekul tertentu.

Penentuan keberhasilan pemisahan spermatozoa dengan Sefadeks dapat dilakukan memakai dua cara. Cara pertama dan terbaik adalah dengan menginseminasikan fraksi yang dianggap mengandung sperma X pada hewan betina yang sedang berahi. Namun cara ini memerlukan banyak biaya dan waktu. Cara kedua yang lebih cepat dan lebih murah adalah identifikasi spermatozoa X dan spermatozoa Y dengan pewarnaan kuinakrin hidroklorida yang telah dilakukan terhadap spermatozoa manusia. Dengan pewarnaan ini spermatozoa yang mengandung khromosom Y di bawah mikroskop fluoresen akan memperlihatkan noktah terang di bagian depan kepala yang biasa disebut badan Y atau badan F (Pearson dan Brobow, 1970). Noktah terang tersebut disebabkan karena kuinakrin mengikat DNA spermatozoa dan menghasilkan sifat fluoresen di bawah sinar ultraviolet (Casperson *et al.*, 1970, dikutip oleh Lueck dan Zaneveld, 1970). Dengan pewarnaan kuinakrin didapatkan bahwa $48,2 \pm 2,9$ persen spermatozoa manusia mengandung khromosom Y (Broer *et al.*, 1970).

Inseminasi buatan telah lama diterapkan di Indonesia walaupun masih terbatas pada sapi. Teknik ini telah diterapkan pada kambing di luar negeri. Inseminasi Buatan memakai semen beku pada kambing sudah dirintis oleh Smith dan Polge pada tahun 1950 (Perry, 1963). Hasil yang memuaskan dengan fertilitas mencapai 78,4% pada inseminasi memakai semen beku dalam bentuk butiran telah dilaporkan di Jepang (Nagase, 1966). Praktek inseminasi buatan yang dilandasi dengan penggunaan air mani yang telah dipisahkan akan lebih cepat diterima oleh masyarakat, karena memberi harapan keuntungan-keuntungan ekonomis yang besar. Dengan demikian teknik inseminasi buatan dapat lebih dikembangkan pada berbagai jenis ternak, termasuk ternak kambing.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mempelajari aspek-aspek dasar biologi reproduksi pada kambing betina maupun jantan, yang meliputi pengamatan berahi dan siklus berahi, penampungan, evaluasi, pengenceran dan pembekuan semen. Di samping itu dilakukan pula percobaan mengenai sinkronisasi berahi, percobaan pemisahan spermatozoa X dan Y, dan percobaan inseminasi buatan dengan semen cair dan semen beku pada ternak tersebut. Dengan diketahuinya berahi, siklus berahi dan metoda penyerentakan berahi maka siklus reproduksi ternak tersebut dapat dikendalikan dan ditingkatkan efisiensinya dalam produksi. Pemisahan spermatozoa X dan Y dapat dipakai dalam penentuan kelamin anak untuk tujuan produksi, sedangkan metoda inseminasi buatan dapat mempercepat proses pengembangbiakan ternak tersebut secara masal dan bebas penyakit.

MATERI DAN METODA

Rangkaian penelitian ini dilakukan di Departemen Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, selama 2 tahun, 1981 sampai 1982.

Ternak kambing ditempatkan di dalam kandang sederhana yang terdiri dari kerangka kayu, atap asbes dan plastik bergelombang, dinding tembok dan ram kawat, alas beton yang sebagian ditutup dengan panggung anyaman bambu. Di samping kandang tersebut disediakan halaman tempat gerak badan seluas 30 m x 15 m yang dipagar dengan kawat berduri.

Makanan diberikan dalam bentuk hijauan yang terdiri dari rumput lapangan dan daun-daunan sebanyak 2,5–3 kg per ekor per hari, dan makanan penguat yang terdiri dari 50% dedak halus, 25% tepung jagung dan 25% bungkil kelapa, 1 kg tepung tulang dan 1 kg garam dapur sebanyak 250 gram per ekor per hari. Air minum diberikan *ad libitum*.

Pengamatan Berahi, Siklus Berahi dan Penyerentakan Berahi

Dalam percobaan ini dipergunakan 30 ekor kambing kacang betina dewasa yang berumur rata-rata 1,5–2 tahun dengan berat badan rata-rata 13,95–15,55 kg. Tiga pejantan yang agresif dipakai sebagai pengusik.

Pengamatan berahi dilakukan dua kali sehari, yaitu sekitar jam 7.00 pagi dan jam 17.00 sore. Selain kesediaan betina untuk dinaiki pejantan pengusik, tanda-tanda berahi lainnya yang diamati meliputi usaha mencari dan mendekati pejantan, mengibas-ngibaskan ekor, vulva membengkak, nafsu makan menurun, kadang-kadang keluar lendir berahi dan menaiki betina lain atau diam dinaiki betina berahi lainnya. Betina yang telah nyata memperlihatkan berahi dikeluarkan dari kandang pengamatan untuk memberi kesempatan kepada pejantan pengusik mencari betina berahi lainnya.

Penyerentakan berahi yang dikaitkan dalam rangka menunjang penyelesaian studi S₂ Sdr. Drh. Sodikin Atmamihardja dilakukan dengan penyuntikan i.m. 7,5 mg prostaglandin F₂ α antara hari ke-5 dan hari ke-12 siklus berahi. Penyuntikan dilakukan pada sore hari sekitar jam 16.00 sampai 17.00. Sesudah penyuntikan, kambing-kambing diamati dengan pelacakan menggunakan pejantan pengusik dua kali setiap hari.

Penampungan, Evaluasi, Pengenceran dan Pembekuan Semen

Semen ditampung dari 10 ekor pejantan dengan memakai elektroejakulator. Segera setelah penampungan semen, dilakukan pemeriksaan secara makroskopis yang meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH, serta pemeriksaan secara mikroskopis meliputi gelombang masa, gerakan individu, prosentase spermatozoa hidup yang bergerak progresif dan konsentrasi.

Uji pengenceran dilakukan terhadap 5 bahan pengencer yaitu sitrat kuning telur (A), air susu sapi (B) dan susu skim dalam berbagai konsentrasi (C, D dan E). Komposisi kelima bahan pengencer tersebut adalah sebagai berikut :

- A : Natrium sitrat 2,9 gram di dalam 100 ml air suling, dan ditambah kuning telur dengan perbandingan 1 : 4.
- B : Air susu sapi segar, dipanaskan 90°C selama 10 menit, dibuang skim dan didinginkan sampai 32°C.
- C : Susu skim 8% di dalam air suling.
- D : Susu skim 10% di dalam air suling.
- E : Susu skim 12% di dalam air suling.

Konsentrasi dan pengamatan motilitas sperma dilakukan secara gabungan dalam dua kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor pejantan. Panggabungan ini dilakukan mengingat bahwa volume semen relatif kecil, sangat kental dan cepat mengering. Sesudah pengenceran, pengamatan dilakukan tiap dua hari sampai tidak ada lagi pergerakan spermatozoa di dalam masing-masing pengencer.

Pembekuan semen dilakukan dalam bentuk butiran. Komposisi kesatuan bahan pengencer untuk pembuatan semen beku butiran adalah sebagai berikut: Susu skim 12, natrium bikarbonat 0,1, D(-) fruktosa 3, gliserol 4 dan air suling ditambahkan sampai mencapai volume 100 ml. Semen yang telah diencerkan dibiarkan 1,5 sampai 2 jam pada suhu 5°C untuk ekuilibrasi.

Pembekuan dilakukan dengan meneteskan semen yang sudah mengalami ekuilibrasi ke dalam lubang-lubang kecil pada permukaan es kering (*dry ice*) yang dibuat dengan strika listrik berpaku. Semen dibiarkan selama 2-5 menit di dalam lubang-lubang tersebut sampai membeku dalam bentuk butiran. Setiap butiran mengandung 0,1 ml semen dengan konsentrasi sekitar 60 juta spermatozoa. Butiran-butiran semen beku tersebut kemudian ditampung dan disimpan di dalam bejana nitrogen cair.

Percobaan Pemisahan dan Identifikasi Spermatozoa X dan Y

Sebagai bahan pemisah spermatozoa X dan Y dipakai Sefadeks seri G dan seri C, tabung tipe K-9/15 (diameter 0,9 cm, panjang 15 cm) buatan Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Swedia yang dibeli dari Pharmacia Fine Chemical, Division of Pharmacia Inc. Piscataway, New Jersey, USA. Data Sefadeks seri G tertera pada Tabel 1. Karena Sefadeks G-50 tidak ada maka Sefadeks C-50 dipakai sebagai penggantinya. Secara umum kedua tipe tersebut tidak berbeda.

Tabel 1.
Data Sefadeks seri G dan seri C (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Swedia)

Tipe	Berat/Tube (gram)	Ukuran Partikel (mikron)	Vol. Agar-agar/ gr. kering (ml)	Nomor Daftar
G-10	100	40-120	2- 3	9869
G-15	100	40-120	2,5-3,5	6693
G-25	100	100-300	4-6	3324
G-75	100	40-120	12-15	1471
G-100	100	40-120	15-20	5176
G-200	100	40-120	30-40	7724
C-50	100	40-120	-	10035

Dari setiap tipe diambil Sefadeks kering secukupnya berdasarkan panduan Pharmacia Fine Chemicals (Tabel 2). Sefadeks tersebut kemudian direndam dalam larutan penyangga fosfat sampai menjadi agar-agar atau "gel". Perendaman dilakukan pada suhu kamar jangka waktu tertentu sesuai dengan tipe Sefadeks (Tabel 3).

Setelah penyediaan agar-Sefadeks, disiapkan perlengkapan tabung (kolom) Sefadeks. Tabung dipasang pada tiang penyangga, larutan Sefadeks dituangkan dari bagian atas tabung secara perlahan-lahan sampai ketinggian 12 cm (Steeno *et al.*, 1975). Bagian atas tabung dibiarkan ada ruangan kosong untuk menyimpan contoh semen.

Tabel 2.
Jumlah Sefadeks kering yang diperlukan untuk mengisi tabung
(Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Swedia)

Tipe tabung (kolom)	Diameter (cm)	Panjang (cm)	Volume agar-agar (ml)		Berat Sefadeks kering (g)						
			10	15	Seri G						
					25	50	75	100	150	200	
K 9/15	0,9	15	9,5	4,5	4	2,5	1	0,8	0,6	0,5	0,3
K 9/30	0,9	30	19,0	9	8	5	2	1,5	1,2	1	0,6
K 9/60	0,9	60	38,0	18	10	10	4	3	2,5	2	1,2

Tabel 3.
Jangka waktu perendaman Sefadeks seri G dalam penyangga fosfat (Anonim, 1969)

Tipe Sefadeks	Waktu pengembangan (minimum)	
	Dalam suhu kamar	Dalam penangas air mendidih
G-10; G-15; G-25; G-50	3 jam	1 jam
G-75	24 jam	3 jam
G-100; G-150; G-200	3 hari	5 jam
LH-200	3 jam	Tidak dicoba

Di ujung tabung bagian bawah disediakan tabung reaksi sebanyak-banyaknya (± 50 buah). Sebelum dipakai agar-Sefadeks diuji-coba dengan mengalirkan penyangga fosfat dari tabung reservoir yang telah disiapkan sebelumnya. Tabung reservoir harus selalu penuh dengan larutan penyangga fosfat. Bila uji coba menunjukkan hasil yang memuaskan barulah disiapkan contoh semen kambing.

Sejumlah 3 ml semen segar yang telah dievaluasi dituangkan ke dalam ruangan di atas agar-Sefadeks, kemudian penyangga fosfat dialirkan sesaat setelah contoh semen dituangkan. Terjadilah suatu aliran di dalam kolom Sefadeks, yaitu larutan semen dalam penyangga fosfat.

Tetes yang keluar ditampung pada tabung reaksi dalam beberapa fraksi, masing-masing selama 3 menit. Setiap fraksi diperiksa di bawah mikroskop terhadap adanya spermatozoa dan mobilitasnya. Kriteria pengamatan adalah jumlah fraksi yang mengandung spermatozoa. Setiap perlakuan memerlukan waktu pengerjaan selama satu hari dan perlakuan untuk setiap tipe

Sefadeks diulang 5 kali. Semen yang dipakai adalah campuran dari beberapa ekor kambing untuk mendapatkan contoh semen yang cukup bervariasi.

Hasil penyaringan diuji dengan identifikasi memakai kuinakrin-hidrokhlorida. Identifikasi dilakukan menurut metoda Lueck dan Zeneveld (1977) yang dibagi dalam tahap fiksasi, pewarnaan dan pengamatan. Dalam tahap fiksasi, dibuat preparat ulas pada gelas obyek yang dikeringkan pada suhu kamar, kemudian difiksasi selama 5 menit di dalam etanol 95%, 2 menit di dalam etanol 70% dan 2 menit di dalam penyangga fosfat-sitrat dengan pH 6.8. Penyangga fosfat-sitrat tersebut dibuat dengan mencampurkan 155 ml larutan 28,4 gram garam fosfat di dalam 1000 ml air suling dengan 4 ml larutan 21 gram asam sitrat di dalam 1000 ml air suling.

Pewarnaan dilakukan dengan meneteskan preparat tersebut dengan $KMNO_4$ kemudian drendam di dalam larutan kuinakrin-dihidrokhlorida 1% selama 20 menit. Selanjutnya preparat dicuci dengan larutan penyangga fosfat-sitrat tiga kali berturut-turut, masing-masing selama 5 menit, diwarnai lagi dengan merendamnya di dalam larutan kuinakrin 5 menit dan dicuci kembali dengan larutan penyangga fosfat-sitrat tiga kali lagi seperti di atas, kemudian dikeringkan pada suhu kamar. Setelah kering, preparat ditutup dengan gelas penutup yang direkat dengan perekat sukrosa. Perekat sukrosa dibuat dengan cara melarutkan 10 gram sukrosa di dalam 15 ml penyangga, kemudian dipanaskan sampai larut. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop fluoresen pada pembesaran 100 x 10.

Semua pengerjaan di atas diulang 10 kali, masing-masing memakai 25 preparat semen kambing yang berbeda.

Hasil aspek penelitian penggunaan Sefadeks dalam pemisahan spermatozoa X dan Y akan dipakai sebagai dasar penelitian selanjutnya dalam rangka menunjang penyelesaian studi S3 Sdr. Ir. Suparna, MS.

Inseminasi dan Pemeriksaan Kebuntingan.

Inseminasi buatan (IB) dilakukan sekitar jam ke-24 sampai jam ke-30 setelah timbul berahi. Metoda yang digunakan dalam tehnik IB adalah metoda spekulum. Kambing yang berahi dipegang dan diangkat bagian belakangnya lebih tinggi daripada bagian depan.

Inseminasi buatan dengan semen cair dilakukan dengan menyemprotkan 0,5 ml semen yang sudah diencerkan ke dalam cervix melalui spekulum. Inseminasi dengan semen beku dilakukan dengan prinsip yang sama.

Semen beku diambil dari goblet di dalam bejana nitrogen cair, memakai pinset dan dimasukkan ke dalam tabung mani berisi pengencer. Pencairan kembali (thawing) dilakukan sekaligus dengan pengenceran sedemikian rupa sehingga setiap 0,5 ml semen mengandung sekitar 60 juta spermatozoa motil. Semen yang sudah diencerkan dihisap dengan kateter sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan sejauh mungkin ke dalam cervix melalui vagina yang telah dikuatkan memakai spekulum. Semen disemprotkan perlahan-lahan dan kambing tersebut dipegang dalam posisi miring ke depan selama kira-kira satu menit untuk mencegah semen keluar lagi.

Kambing yang tidak kembali berahi (*non return*) dalam satu periode berahi dianggap bunting. Namun untuk memastikan adanya kebuntingan, dilakukan laparotomi pada umur kebuntingan 40 sampai 45 hari setelah kawin. Semua kambing yang dilaparotomi dipuasakan selama 20 jam untuk mengosongkan usus sehingga tidak menutupi uterus. Anestesi dilakukan dengan penyuntikan Sagatal sebanyak 25 mg/kg berat badan secara intravenous pada vena jugularis. Bulu di daerah median antara umbilicus dan mammae dicukur, dibersihkan dengan alkohol 70%, diolesi dengan tinctura jodii 2,5%. Sayatan dilakukan di daerah median pada linea alba sepanjang 10–12 cm. Uterus dan ovaria diraba dan dilihat untuk menentukan adanya kebunting-

an. Kebuntingan ditandai dengan kebengkakan dan fluktuasi pada uterus serta corpus luteum pada ovarium. Selesai pemeriksaan, luka laparotomi ditutup kembali dan diberikan suntikan antibiotika secukupnya. Jahitan pembedahan dapat dibuka 7 hari kemudian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lama Berahi, Siklus Berahi dan Penyerentakan Berahi.

Hasil pengamatan terhadap berahi selama 4 siklus menunjukkan bahwa gejala-gejala berahi pada kambing berkisar antara 1,5 sampai 2,5 hari, atau rata-rata 2 hari (Tabel 4). Namaknya gejala berahi pada kambing berlangsung agak lebih lama daripada domba yang berkisar sekitar 24 sampai 48 jam, rata-rata 35,5 jam (Toelihere, 1972). Periode berahi yang lama tentu berkaitan dengan proses perkembangan dari folikel yang matang sampai evaluasi dan pembentukan *corpus luteum*. Dalam hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang waktu ovulasi dalam rangka menentukan waktu terbaik untuk perkawinan atau inseminasi buatan.

Siklus berahi berkisar antara 17 sampai 23 hari, rata-rata 20 hari. Ternyata bahwa siklus berahi pada kambing lebih lama daripada domba, tetapi hampir sama dengan pada sapi dan kerbau. Lama siklus berahi bersifat genetik. Dengan demikian dapatlah dinyatakan bahwa kambing memiliki sifat genetik yang lebih mirip sapi dan kerbau daripada domba?

Ternyata ternak kambing memberi respons positif terhadap prostaglandin $F_{2\alpha}$. Semua hewan percobaan memperlihatkan tanda-tanda berahi satu sampai 5 hari, rata-rata 2,7 hari sesudah penyuntikan $PGF_{2\alpha}$. Tujuh puluh persen hewan tersebut memperlihatkan berahi 2-3 hari sesudah pemberian $PGF_{2\alpha}$ (Tabel 5 dan Ilustrasi 1). Dengan demikian dapat diperkirakan waktu terbaik untuk mengadakan inseminasi buatan atau perkawinan alam pada suatu kelompok ternak kambing yang diserentakkan berahinya memakai $PGF_{2\alpha}$ tanpa pengamatan berahi secara terus-menerus.

Tabel 4.

Rata-rata lama berahi dan panjang siklus berahi dari 30 ekor kambing selama 4 periode

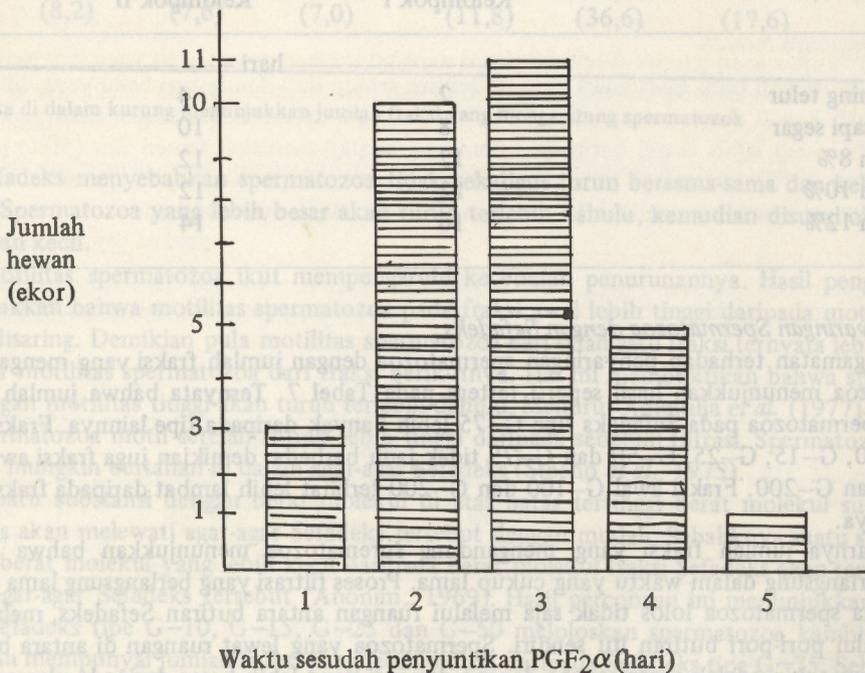
Periode Berahi	Rata-rata dan simpangan baku ^a			
	Lama berahi		Siklus berahi	
	jam		hari	
1	40.77	(10.10)	19.87	(1.28)
2	40.33	(9.37)	20.23	(1.38)
3	38.70	(9.30)	20.17	(1.68)
4	42.77	(8.37)	19.80	(1.42)

^aBilangan di dalam tanda kurung menunjukkan simpangan baku.

Tabel 5.

Jumlah kambing yang berahi setelah disuntik $\text{PGF}_2\alpha$ dengan dosis 7,5 mg/ekor

Hari penyuntikan setelah fase luteal	Hari mulai berahi setelah penyuntikan					Jumlah
	1	2	3	4	5	
6	1	1	1	1	0	4
7	0	3	4	0	0	7
8	0	2	1	3	0	6
9	2	3	0	0	0	5
10	0	0	3	0	1	4
11	0	1	2	1	0	4
Jumlah	3	10	11	5	1	30



Ilustrasi 1. Penyebaran hewan dalam waktu manifestasi berahi sesudah penyuntikan $\text{PGF}_2\alpha$

Sifat-sifat Semen dan Pengaruh Pengenceran.

Volume semen kambing kacang berkisar antara 0,4 sampai 1,3 ml, rata-rata 0,8 ml. Warnanya antara putih susu sampai krem. Kekentalan berkisar antara sedang sampai kental dan pH antara 6,6 sampai 6,8 rata-rata 6,7. Semen tersebut berbau khas kambing.

Semen kambing ternyata lebih pekat daripada semen sapi. Dibawah mikroskop terlihat bahwa gerakan masa adalah optimum (+++). Konsentrasi spermatozoa berkisar antara 865×10^6 sampai 4013×10^6 per ml, atau rata-rata $2916,8 \times 10^6$ per ml semen. Namun demikian jumlah spermatozoa yang mati mencapai 21,5%.

Spermatozoa yang disimpan di dalam pengencer sitrat kuning telur pada suhu 5°C mati dalam waktu 2-4 hari, sedangkan di dalam susu skim 12% dapat bertahan hidup sampai 14-16 hari (Tabel 6). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa bahan pengencer yang terbaik untuk pengawetan semen pada suhu 5°C adalah susu skim 12%. Pengencer sitrat kuning telur yang dipakai dengan memuaskan pada pengenceran semen sapi ternyata tidak baik untuk semen kambing. Perbedaan ini mungkin terletak pada perbedaan komposisi plasma semen kambing dan sapi. Komposisi plasma semen kambing kacang belum pernah diteliti.

Tabel 6.

Daya tahan hidup spermatozoa kambing di dalam beberapa macam pengencer pada suhu 5°C

Pengencer	Lama hidup spermatozoa	
	Kelompok I	Kelompok II
	----- hari -----	
Sitrat kuning telur	2	4
Air susu sapi segar	8	10
Susu skim 8%	12	12
Susu skim 10%	12	12
Susu skim 12%	16	14

Hasil Penyaringan Spermatozoa dengan Sefadeks.

Pengamatan terhadap penyaringan spermatozoa dengan jumlah fraksi yang mengandung spermatozoa menunjukkan hasil seperti tertera pada Tabel 7. Ternyata bahwa jumlah fraksi larutan spermatozoa pada Sefadeks tipe G-75 lebih banyak daripada tipe lainnya. Fraksi awal tipe G-10, G-15, G-25, G-50 dan G-75 tidak jauh berbeda; demikian juga fraksi awal tipe G-100 dan G-200. Fraksi awal G-100 dan G-200 terlihat lebih lambat daripada fraksi awal tipe lainnya.

Besarnya jumlah fraksi yang mengandung spermatozoa menunjukkan bahwa proses filtrasi berlangsung dalam waktu yang cukup lama. Proses filtrasi yang berlangsung lama mungkin karena spermatozoa lolos tidak saja melalui ruangan antara butiran Sefadeks, melainkan juga melalui pori-pori butiran itu sendiri. Spermatozoa yang lewat ruangan di antara butiran Sefadeks mungkin adalah spermatozoa dengan dimensi yang lebih besar daripada ukuran pori-pori Sefadeks. Sebagian spermatozoa yang mempunyai ukuran lebih kecil daripada pori-pori Sefadeks lolos dan keluar dari perangkap pori-pori tersebut, sedangkan sebagian lagi akan tetap tinggal di dalam agar-agar Sefadeks (Anonim., 1969; Fahey dan Terry, 1979). Perangkap pori-

Tabel 7.
Fraksi tipe Sefadeks yang mengandung spermatozoa

Ulangan	Tipe Sefadeks						
	G-10	G-15	G-25	C-50	G-75	G-100	G-200
1.	3-10 (8)*	3-7 (5)	3-9 (7)	2-12 (11)	3-35 (33)	15-36 (22)	22-25 (4)
2.	3-11 (9)	3-8 (6)	4-10 (7)	4-15 (12)	4-38 (35)	20-41 (22)	21-28 (8)
3.	2-9 (8)	2-10 (9)	2-11 (10)	4-16 (13)	3-39 (37)	21-30 (10)	17-30 (14)
4.	3-8 (6)	2-11 (10)	3-9 (7)	4-12 (9)	4-42 (39)	17-30 (14)	19-25 (7)
5.	2-11 (10)	2-9 (8)	2-5 (4)	3-16 (14)	3-41 (39)	16-25 (20)	21-30 (10)
Rata-rata	2,6-9,8 (8,2)	2,4-9 (7,6)	2,8-8,8 (7,0)	3,4-14,2 (11,8)	3,4-39 (36,6)	17,8-34,4 (17,6)	20-27,6 (8,6)

* Angka di dalam kurung menunjukkan jumlah fraksi yang mengandung spermatozoa

pori Sefadeks menyebabkan spermatozoa tidak sekaligus turun bersama-sama dan keluar dari kolom. Spermatozoa yang lebih besar akan turun terlebih dahulu, kemudian disusul oleh yang berukuran kecil.

Motilitas spermatozoa ikut mempengaruhi kecepatan penurunannya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada fraksi awal lebih tinggi daripada motilitas sebelum disaring. Demikian pula motilitas spermatozoa dari salah satu fraksi ternyata lebih tinggi daripada motilitas spermatozoa dari fraksi berikutnya. Hal ini membuktikan bahwa spermatozoa dengan motilitas tinggi akan turun terlebih dahulu. Menurut Adimulja *et al.* (1977), persentase spermatozoa motil setelah filtrasi lebih tinggi daripada sebelum filtrasi. Spermatozoa yang immotil mungkin bertahan di dalam agar-agar Sefadeks (Steen *et al.*, 1975).

Suatu substansi dengan berat molekul di atas batas tertinggi berat molekul suatu tipe Sefadeks akan melewati agar-agar Sefadeks tersebut dengan mudah. Sebaliknya suatu substansi dengan berat molekul yang lebih kecil daripada berat molekul fraksi Sefadeks akan tertahan di dalam agar-agar Sefadeks tersebut (Anonim., 1969). Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa fraksi Sefadeks tipe G-10, G-15, G-25 dan G-50 meloloskan spermatozoa kambing lebih cepat dan mempunyai jumlah fraksi yang lebih sedikit daripada Sefadeks tipe G-75. Sebaliknya spermatozoa kambing tidak dapat turun dengan segera di dalam agar-agar Sefadeks tipe G-100 dan G-200 dibandingkan dengan di dalam tipe G-75. Sebagian besar spermatozoa terperangkap dan mati di dalam agar-agar Sefadeks tipe G-100 dan G-200. Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa berat molekul spermatozoa kambing lebih berat daripada berat molekul fraksi Sefa-

deks tipe G-10, G-15, G-25 dan C-50, tetapi rendah daripada berat molekul Sefadeks tipe G-100 dan G-200. Berat molekul spermatozoa kambing mungkin sesuai dengan berat molekul substansi yang umum dipisahkan melalui Sefadeks tipe G-75, yaitu antara 3000 sampai 70.000 karena ternyata bahwa filtrasi spermatozoa kambing dengan Sefadeks tipe G-75 memberikan hasil filtrasi dalam sejumlah fraksi yang cukup banyak.

Usaha Identifikasi Spermatozoa X dan Y dengan pewarnaan Kuinakrin

Percobaan identifikasi spermatozoa X dan Y dengan pewarnaan kuinakrin tidak memberi hasil yang positif. Ternyata tidak ada spermatozoa yang telah diwarnai memperlihatkan noktah-noktah khromosom Y yang meyakinkan. Hal ini membuktikan bahwa khromosom Y pada spermatozoa kambing tidak mengikat kuinakrin. Pada manusia, kuinakrin berikatan dengan DNA di dalam rangkaian khromosom Y spermatozoa (Casperson *et al.*, 1970 yang dikutip oleh Lueck dan Zaneveld, 1977) yang terlihat sebagai noktah-noktah terang di bagian distal kepala spermatozoa Y tersebut (Pearson dan Brobow, 1970).

Perbedaan pengikatan spermatozoa Y pada kambing dan manusia terhadap kuinakrin mungkin terletak pada perbedaan jumlah khromosom yaitu 24 pada manusia dan 30 pada kambing (Winters, 1958) dan pada perbedaan struktur khromosom kedua species tersebut. Menurut Pearson *et al.* (1971) yang dikutip oleh Ericsson *et al.* (1973), tidak mungkin mengidentifikasi khromosom Y pada spermatozoa mamalia kecuali pada gorila. Mungkin kuinakrin hidrokhlorida hanya bereaksi spesifik dengan khromosom Y pada spermatozoa primata.

Hasil Inseminasi Buatan

Kebuntingan hasil inseminasi buatan dengan semen cair dan semen beku yang dibandingkan dengan kawin alam tertera pada Tabel 8. Ternyata bahwa kebuntingan hasil perkawinan alam (90%) jauh lebih tinggi daripada inseminasi buatan memakai semen cair (50%) maupun semen beku (60%). Perbedaan tersebut nyata secara statistik ($P = 0.062$). Proporsi kebuntingan oleh IB dengan mani cair dan oleh IB dengan mani beku tidak nyata berbeda.

Tabel 8
Kebuntingan pada kambing kacang dari hasil perkawinan alam dan inseminasi buatan memakai semen cair dan semen beku

Metoda perkawinan	Hasil pemeriksaan				Jumlah (ekor)
	Bunting (ekor)	(%)	Tidak bunting (ekor)	%	
Perkawinan alam	9	90	1	10	10
IB dengan semen cair	5	50	5	50	10
IB dengan semen beku	6	60	4	40	10
Jumlah	20	66,67	10	33,33	30

Walaupun metoda perkawinan alam memberi hasil yang lebih baik daripada inseminasi buatan, namun metoda inseminasi buatan lebih efisien pada suatu kelompok ternak yang besar. Demikian pula metoda inseminasi buatan lebih efektif dalam usaha pencegahan penularan penyakit dari pejantan ke betina maupun dari betina ke betina yang dikawini oleh pejantan yang sama yang berpenyakit. Akan tetapi pada sistem peternakan tradisional dengan jumlah pemilikan yang sedikit dan tersebar di daerah yang luas akan menyulitkan pelaksanaan tehnik IB. Dalam hal ini perlu disediakan pejantan yang bukan hanya unggul dalam produksi dan kesuburannya tetapi juga yang sehat. Masih banyak penelitian yang perlu dilakukan sebelum tehnik IB dapat diterapkan pada ternak kambing di Indonesia.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Gejala-gejala berahi pada kambing kacang berlangsung lebih lama daripada domba, yaitu sekitar 1,5 sampai 2,5 hari, rata-rata 2 hari.
2. Siklus berahi pada kambing kacang lebih lama daripada domba dan hampir sama dengan pada sapi dan kerbau, yaitu berayun antara 17 sampai 23 hari, rata-rata 20 hari.
3. Kambing betina memberi respons positif terhadap penyuntikan prostaglandin $F_2 \alpha$. Gejala-gejala berahi timbul antara satu sampai 5 hari, rata-rata 2,7 hari, sesudah pemberian $PGF_2 \alpha$.
4. Pengencer yang terbaik untuk penyimpanan semen kambing kacang pada suhu $5^{\circ}C$ adalah susu skim 12%. Sitrat kuning telur tidak baik dipakai sebagai pengencer semen kambing kacang.
5. Filtrasi spermatozoa kambing terbaik dilakukan dengan Sefadex tipe G - 75.
6. Pewarnaan dengan kuinakrin hidroklorida tidak dapat mengidentifikasi spermatozoa Y pada kambing kacang.
7. Kebuntingan hasil perkawinan alam (90%) jauh lebih tinggi daripada inseminasi buatan memakai semen cair (50%) maupun semen beku (60%).

DAFTAR PUSTAKA

- ADIMOELJO, A., R. HARIADI, I.G.B. AMITABA, P. ADISETYO dan SOEHARNO. 1977. The separation of X and Y spermatozoa with regard to the possible clinical application by means of artificial insemination. *Andrologia*, 9 : 289 - 292
- ANONIMOUS, 1969. Sefadex gel filtration in theory and practice. Pharmacia Fine Chemicals. Uppsala, Sweden
- ANONIM. 1977. Perkembangan Peternakan di Indonesia. Ditjen Peternakan, Dep. Pertanian
- ANONIM. 1980. Rancangan Kebijaksanaan Operasional dan Program/Proyek Pembangunan Peternakan di Indonesia. Ditjenak, Jakarta
- ANONIM. 1982. Kebijaksanaan Operasional Pembangunan Peternakan Dalam Repelita IV (1984/1985 - 1988/1989). Direktorat Bina Program, Ditjenak, Jakarta. Temu Karya PELITA IV, 4 - 7 April 1982 di Cibogo, Bogor

- BHATTACHARYA, P., B.M. EVANS dan P. SHOME. 1979. Semen separation technique monitored with greater accuracy by B-body test. *J. Fertil.*, 24 : 256 - 259.
- BROER, K.H., I. WINKHAUS, H. SOMBROEK dan R. KAISER. 1976. Frequency of Y - chromatin bearing spermatozoa in intracervical and intrauterine postcoital tests. *Int. J. Fertil.*, 21 : 181 - 185
- DMOWSKI, W.P., L. GAYNOR, R. RAO, M. LAWRENCE dan A. SCOMMEGNA. 1979. Use of albumin gradients for X and Y sperm separation and clinical experience with male sex preselection. *Ferti. & Steril.*, 31 : 52 - 57
- EPSTEIN, H. dan A. HERS. 1964. Fertility and birth weights of goats in a subtropical environment. *J. Agric. Sci.*, 62 : 237 - 244
- ERICSSON, R.J., C.N. LANGEVIN dan M. NISHONO. 1973. Isolation of fractions rich in human Y sperm. *Nature*, 246 : 421 - 424
- FAHEY, J.L. dan E.W. TERRY. 1979. Ion exchange chromatography and gel filtration. Dalam: *Handbook of Experimental Immunology, Immunochemistry*, D.M. Weir (Ed.). Blackwell Scientific Publ. Oxford
- GANI, A.K. 1976. Laporan tahap pertama. Usaha peningkatan efisiensi produksi ternak kambing di desa Cicurug dan Cigombong, Bogor
- GOODALL, H. dan A.M. ROBERTS. 1976. Differences in motility of human X and Y bearing spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 48 : 433 - 436
- HORST, P. 1978. The economic importance of the goat in the tropics and subtropics. *Animal Research and Development. Institute for Scientific Cooperation*, 4 : 70 - 86
- LINDAHL, P.E. 1958. Separation of bull spermatozoa carrying X and Y chromosomes by counterstream centrifugation. *Nature*, 181 : 784
- LUECK, J. dan L.J.D. ZANEVELD. 1977. Cytogenetics of spermatozoa: Y-chromosome staining. Dalam: *Human Reproductive Medicine*. E.S.E. Hafez (Ed.), North Holland Publ. Co., Amsterdam
- MINETT, F.C. 1950. Mortality in sheep and goats in India. *Indian J. Vet. Sci. & Anim. Husb.*, 20 : 69 - 103
- NAGASE, H. 1966. Artificial insemination. Deep freezing bull, goat and stallion semen in concentrated pellet form. *Jap. Agric. res. Quarterly*, 2 : 1 - 10
- PEARSON, P.L. dan BROBOW. 1970. Fluorescent staining of the Y chromosome in meiotic stages of the human male. *J. Reprod. Fertil.*, 22 : 177 - 179
- PERRY, E.J. 1963. *The Artificial Insemination of Farm Animals*. Rutgers Univ. Press. New Brunswick. New Jersey
- SHETTLES, L.B. 1960a. Nuclear morphology of human spermatozoa. *Nature*, 186 : 648.
- SHETTLES, L.B. 1960b. Nuclear structure of human spermatozoa. *Nature*. 188 : 918
- STEENO, O., A. ADIMOELJO dan J. STEENO. 1975. Separation of X and Y bearing human spermatozoa with the Sephadex gel filtration method. *Andrologia*, 7 : 95 - 97
- TOELIHERE, M.P. 1972. Kegiatan reproduksi domba betina pada kondisi musim dan iklim tropis di Indonesia. Proyek Penelitian No. 187. Ditjen Perguruan Tinggi. Dep. P & K.