

PENGGUNAAN KOMBINASI TEKNIK LAPAROTOMI DAN LAPAROSKOPI DALAM PEMANENAN EMBRIO HASIL OVULASI GANDA PADA KAMBING ANGORA (*Capra sp.*)

Dradjat, A.S.

Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Mataram
(Diterima 26-06-2000; disetujui 24-10-2000)

ABSTRACT

The present study was performed to evaluate embryo recovery by employing combination of laparotomy and laparoscopy techniques. Induction of estrous synchronization was performed by inserting CIDR (goat) intravaginally for 14 days. At the day 7th of insertion, the CIDR was replaced with the new one. Stimulation of multiple ovulation was performed by intramuscular injection of 12 mg FSH, 300 IU PMSG on the day 12 following the first CIDR insertion. Then GnRH of 50 µg was injected intramuscularly 24 hours following CIDR removal. The results of total ovarian observation indicated that there were 27 corpora lutea and 6 follicles persistent. Embryo collection using combination laparotomy and laparoscopy was performed on the day 5 following oestrus (D₅) or day 7 following CIDR removal. Embryo collection resulted in recovering 13 embryos and 1 oocyte (51.8%). All embryos (13) were categorized in early morulla stage and they were all in a good quality for being transferred. Finally, it can be concluded that combination techniques laparotomy and laparoscopy is a successful technique which can be performed to collect embryos in Angora goats.

Keywords : Angora goat, laparotomy, laparoscopy.

PENDAHULUAN

Peternakan kambing telah berkembang di seluruh dunia (Raun, 1982; Demiruden, 1982), untuk menghasilkan daging, bulu dan air susu (Addrizzo, 1976; Terrill, 1993; Machen, 1995). Peningkatan produktivitas kambing telah dilakukan dengan menggunakan galur murni ataupun dengan persilangan. Untuk mempercepat peningkatan produksi, telah dikembangkan teknik ovulasi ganda (*multiple ovulation*) dan embrio transfer (Armstrong & Evans, 1983; Smith, 1986; Wallace, 1992) yang merupakan teknologi yang tepat untuk mempercepat perbanyakan dan distribusi materi genetik unggul.

Teknologi ovulasi ganda dan embrio transfer telah dikembangkan (Armstrong & Evans, 1983; Armstrong *et al.*, 1993; Bessoudo *et al.*, 1988; Heyward, 1993), namun problem yang timbul pada ruminansia kecil yaitu teknik untuk pengambilan embryo. Pada ruminansia besar pengambilan embrio dapat dilakukan secara transcervical, karena memiliki alat reproduksi yang relatif besar dan penanganannya dapat dilakukan dengan bantuan eksplorasi rektal (Salisbury *et al.*, 1978). Pada ruminansia kecil khususnya kambing, hal tersebut tidak dapat dilakukan sehingga telah dikembangkan beberapa teknik pengambilan embrio yaitu secara laparotomi (Armstrong & Evans, 1983), transservikal (Jackson, 1993), laparoskopi (Mutiga & Baker, 1984) dan

kombinasi antara laparotomi dan laparoskopi (Heywood, 1993).

Pada ruminansia kecil (kambing dan domba) pengambilan embrio secara laparotomi adalah teknik yang konvensional, yang telah digunakan secara umum, namun terdapat kendala bahwa teknik ini menyebabkan trauma pada alat perkembangbiakan. Trauma tersebut yaitu perlekatan alat perkembangbiakan yang dapat menurunkan kemampuan perkembangbiakan berikutnya (Tervit *et al.*, 1992). Teknik yang relatif lebih baru yaitu pengambilan embrio secara transcervical. Teknik ini dinilai sebagai teknik yang bersifat noninvasif (Jackson, 1993), namun kelemahan teknik ini yaitu untuk memasukkan pipet melalui servik uteri tidak selalu berhasil dan untuk melaksanakan teknik ini diperlukan keterampilan khusus (Heywood, 1993; Jackson, 1993).

Pengambilan embrio secara laparoskopi telah dikembangkan oleh Mc Kelvey & Robinson, (1984), tetapi untuk melaksanakan metode ini diperlukan keterampilan dan pengalaman yang cukup. Kombinasi teknik laparotomi dan laparoskopi telah dilaporkan (Tervit *et al.*, 1992), menghasilkan jumlah embrio yang terambil lebih banyak dibanding dengan teknik laparotomi dan kemungkinan perlekatan relatif lebih kecil dibanding dengan teknik laparotomi.

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk evaluasi pengambilan embrio secara kombinasi laparotomi dan laparoskopi dan membandingkan

jumlah embrio/oosit yang terambil dengan jumlah *corpora lutea* yang ada di ovarium.

METODE PENELITIAN

Hewan dan pemeliharaan

Enam kambing Angora yang terdiri atas lima betina dan satu jantan digunakan dalam penelitian ini. Kambing-kambing tersebut dilepaskan pada padangan untuk merumput dan diberi pakan tambahan *lucerne hay*.

Sinkronisasi berahi dan induksi ovulasi ganda

Induksi sinkronisasi sebagai dasar pelaksanaan ovulasi ganda dilakukan dengan memasukkan CIDR

(goat) (Heriot AgVet, Australia) secara intra-vaginal (Ainsworth & Downey, 1986) selama 14 hari dan kemudian diganti dengan CIDR yang baru pada hari ke-7 (Tabel 1). *Follicle stimulating hormone* (FSH) yaitu Follitropin-V (Vetrepharm, Australia) digunakan untuk menginduksi multipelovulasi dengan kombinasi *Pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG) yaitu Folligon (Intervet, Australia) dan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yaitu Fertagyl (Intervet, Australia). Pada hari yang ke-12 setelah CIDR dimasukkan, pada pukul 8 pagi, diinjeksikan secara intramuscular 12 mg FSH 300 IU. PMSG dan 50 µg GnRH diinjeksikan secara intramuscular pada jam 8 pagi, 24 jam setelah CIDR diambil (Tabel 1).

Tabel 1. Jadwal pemberian hormon untuk induksi ovulasi ganda dan panen embrio

No	Hari	Perlakuan
1	1	CIDR dipasang secara intravaginal
2	7	CIDR diganti dengan yang baru
3	12	Injeksi (i.m.) 12 mg FSH dan 300 IU PMSG (8 pagi)
4	14	CIDR diambil, crayon harness dipasang pada jantan (8 pagi)
5	15	Injeksi (i.m.) 50 (g GnRH (24 jam setelah CIDR diambil, 8 pagi)
6	15-16	Deteksi berahi dan kawin alam
7	21	Panen embrio

Deteksi birahi dan kawin alam

Perkawinan dilakukan secara alami pada hari kedua dan hari ketiga setelah CIDR diambil, dengan mencampurkan dengan kambing jantan yang dipasangi *crayon harness*. Observasi tingkahlaku birahi dan perkawinan dilakukan empat kali sehari dan tiap pengamatan dilakukan selama setengah jam. Tanda *crayon* pada bagian belakang kambing betina yang terlihat merupakan tanda menunjukkan berahi.

Anestesi dan persiapan

Anestesi dilakukan sebagai persiapan untuk pengambilan embrio, yaitu dengan injeksi intramuscular 1 mg/kg BB xylazine HCl dicampur dengan 1 mg/kg BB ketamine HCl. Untuk mencegah *regurgitasi*, yaitu isi rumen keluar dan menyumbat saluran pernapasan, dipasang *endotracheal tube*. Rambut dan bulu pada perut bagian bawah dicukur dan dibersihkan. Bagian ini diolesi dengan desinfektan yaitu 70% alkohol (O'Malley & Co., Guildford NSW Aust) dan cairan povidone-iodine (O'Malley & Co., Guildford NSW Aust). Berikutnya kambing

ditempatkan terlentang pada tempat operasi (*Sheep and goats cradle*) dengan kepala berada pada bagian bawah.

Pengambilan embrio

Pengambilan embrio dilakukan dengan kombinasi teknik laparotomi dan laparoskopi (Tervit *et al.*, 1992) pada hari ke-7 setelah CIDR diambil atau hari ke-5 setelah birahi. Teknik ini dilakukan dengan membuat irisan sepanjang 0,5 cm pada kulit kira-kira 3 sampai 5 cm sebelah kiri *linea alba* dan kira-kira 5 cm di bawah kelenjar susu. Trokar dengan diameter 7 mm ditusukkan ke dalam perut melalui irisan kulit, berikutnya trokar tersebut dihubungkan dengan sumber udara (*medical air*). Udara tersebut ditiupkan untuk membuat ruangan pada perut yang dapat memudahkan mengamati *corpora lutea* pada ovarium dan melihat *cornu uteri*. Berikutnya kanula pada trokar diambil dan teleskop (Storz surgical model 26031B) yang dihubungkan dengan sumber cahaya (Storz light source 485D) dimasukkan ke dalam trokar. Pada *linea alba* kira-kira 3 cm dari kelenjar susu

dibuat irisan sepanjang 1,5 cm sampai menembus dinding perut. *Forsep atraumatik* (Storz *atraumatic grasping forceps*) dimasukkan pada irisan dinding perut. Forsep ini digunakan untuk menyingkirkan isi perut bagian bawah agar ovarium dapat terlihat dan *corpora lutea* dapat terlihat dan dapat dihitung. Berikutnya forsep diambil dan Babcock forsep dimasukkan untuk mengait, menarik dan mengeluarkan *cornu uteri* ke luar dinding perut (Tervit *et al.*, 1992). Uterus yang telah berada di luar dinding perut diberi cairan NaCl fisiologis untuk mempertahankan agar tidak kering dan uterus dijepit dengan kain kasa perban agar tidak tertarik ke dalam perut. Melalui lubang yang terbuat dari benda tumpul pada basal uterus, Folley catheter (Argyle silicon no 10) dimasukkan dan ditiup hingga ruang uterus tertutup oleh balon kateter. Irigasi uterus dilakukan dengan cara injeksi 5 sampai 10 ml MPBS (Dulbecco's phosphate buffer) dengan 10% serum kambing yang telah diinaktivasi, pada *utero-tubal junction* menggunakan jarum tumpul. Selanjutnya MPBS dialirkan kembali melalui kateter menuju cawan petri yang telah disterilisasi. Udara yang ada di Folley catheter kemudian dibiarkan keluar dan bekas lubang pada basal uterus dijahit dengan satu jahitan, kemudian uterus dicuci dengan Na Cl fisiologis untuk membersihkan dari bekas darah. Prosedur yang sama dilakukan pula pada uterus yang satunya. Berikutnya 100 ml Na Cl fisiologis dimasukkan ke ruang perut setelah uterus dicuci dan dimasukkan ke dalam ruang perut. Lubang pada kulit bekas trokar laparoskop dijahit dengan satu jahitan, sedangkan bekas lubang pada *linea alba* dijahit menggunakan *cal gut* dan kulit menggunakan nilon masing-masing dua jahitan matras vertikal. Kemudian embrio yang didapat diperiksa menggunakan mikroskop stereo

dan dievaluasi terhadap jumlah sel seperti yang dilaksanakan oleh Wagner, (1987). Selanjutnya kambing yang telah diambil embrionya diinjeksi dengan anti biotik Terramycin LA 20 mg/kg berat badan dan ditempatkan pada posisi duduk untuk menghindari terjadinya regurgitasi, sampai bangun kembali.

Analisis data

Data yang didapat yaitu jumlah *corpora lutea*, *follikel persisten* dan jumlah embrio atau oosit yang terambil dianalisis secara diskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengambilan embrio menunjukkan bahwa 13 embrio dan 1 oosit (51,8%) dari jumlah total 27 ovulasi dapat terambil menggunakan teknik kombinasi laparotomi dan laparoscopi (Tabel 2). Hasil pengambilan ini relatif lebih baik dibanding dengan hasil penelitian Copehart *et al.* (1984), yang menghasilkan 45,9% (17/37) embrio dari jumlah total *respons multiple ovulation* menggunakan kombinasi laparoscopi dan laparotomi. Namun hasil penelitian ini lebih rendah dari hasil penelitian Tervit *et al.* (1992) yang dapat mengumpulkan embrio sampai 83% dari jumlah ovulasi. Penyebab relatif rendahnya hasil embrio yang dapat diambil dalam penelitian ini tidak diketahui dengan pasti, diperkirakan bahwa sebagian embrio masih tertinggal bersama MPBS di dalam uterus. Dalam penelitian ini tingkat pengambilan (*recovery*) MPBS tidak dilakukan sehingga persentase MPBS yang kembali ke cawan petri tidak diketahui. Untuk itu disarankan pada penelitian lebih lanjut untuk memperhatikan MPBS yang dapat diambil kembali.

Tabel 2. Hasil embrio yang dipanen dari jumlah korpus luteum yang dihasilkan

No.	Korpus luteum		Folikel persisten		Embrio yang didapat
	Ovarium kanan	Ovarium kiri	Ovarium kanan	Ovarium kiri	
303	3	1	-	3	0
302	2	5	-	-	7
310	5	0	1	2	2
602	4	1	-	-	1
074	3	3	-	-	4
Total	17	10	1	5	14 (51.8%)
Rata-rata±SD	3,4±1,1	2±2			

Lebih lanjut ternyata 6 folikel belum mengalami ovulasi hingga pengambilan embrio dilakukan. Kambing No. 303 mempunyai 3 folikel yang belum mengalami ovulasi pada ovarium kiri, dan kambing No. 310 mempunyai 2 dan 1 folikel yang belum diovolasikan pada ovarium kiri dan kanan berturut-turut.

Hasil evaluasi menunjukkan bahwa semua (13) embrio termasuk dalam stadium awal morula dan semuanya termasuk dalam kualitas yang baik. Teknik pengambilan embrio secara kombinasi ini menyebabkan perlukaan yang relatif sedikit dibanding dengan teknik laparotomi (Copehart *et al.*, 1984), yaitu hanya 1.5 cm irisan pada *linea alba* untuk mengeluarkan uterus menggunakan *babcock forceps*. Lebih lanjut menggunakan teknik ini, Tervit *et al.*, (1992) mengulangi teknik ini pada hewan yang sama sebanyak 14 kali tanpa menurunkan kesuburan hewan.

Teknik pengambilan embrio dengan minimum kelukaan menggunakan laparoscopi, pertama kali teknik ini diperkenalkan oleh Mc Kelvey *et al.*, (1986). Mutiga & Baker, (1984) melaporkan bahwa tidak ditemukan perlekatan jaringan menggunakan teknik laparskopik ini. Dari 8 domba yang digunakan tidak ditemukan perlekatan sama sekali (Mc Kelvey & Robinson, 1984), tetapi 2 ekor domba menunjukkan adanya pertumbuhan jaringan endometrium ke luar (*endometrial outgrowth*). Akibat dari pertumbuhan jaringan endometrium ini pada kesuburan, pembuahan dan kebuntingan berikutnya belum diketahui dengan pasti. Pengambilan embrio dengan cara laparotomi dari uterus telah digunakan sejak lama dan teknik ini menyebabkan perlekatan sedikit dibanding dengan cara pengambilan embrio menggunakan laparotomi dengan cara mengambil embrio dari oviduct (Tervit & Havik, 1976; Copehart *et al.*, 1984; Moore, 1987). Kelukaan yang disebabkan oleh cara laparotomi ini yaitu insisi sepanjang 5 sampai 7 cm berikutnya menarik ke luar uterus dengan sendirinya diperlukan 2 atau 3 jahitan matrass pada tiap lapisan dinding perut.

Kelebihan teknik laparotomi dibanding laparoscopi yaitu uterus dapat dikeluarkan dan dapat dipijat perlahan lahan sehingga sebagian besar cairan yang digunakan untuk mengambil embrio dapat diambil kembali. Teknik kombinasi juga mempunyai kekurangan yaitu uterus pada posisi tarikan, karena uterus harus ditarik ke luar melalui lubang pada dinding perut (Tervit *et al.*, 1992).

KESIMPULAN

Akhirnya hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa induksi ovulasi ganda menggunakan sinkronisasi dengan CIDR goat, FSH, GnRH dan PMSG dari lima ekor kambing menghasilkan 27 ovulasi dan 6 folikel persisten. Teknik kombinasi laparotomi dan laparoscopi adalah teknik yang noninvasif berhasil untuk mengambil embrio pada kambing Angora sebesar 51.8% dari jumlah *corpus luteum* yang teramati. Penelitian lebih lanjut perlu dilaksanakan menggunakan kambing dalam jumlah besar dan juga memperhatikan *recovery* MPBS.

DAFTAR PUSTAKA

- Addrizzo, J.R. 1976. *Composition of foods; Dairy and Egg Products*. Agricultural Handbook No.8-1, Agriculture Research Services, Washington, DC. USDA.
- Ainsworth, L. & B.R. Downey. 1986. A controlled internal drug release dispenser containing progesterone for control of the estrus cycle of ewes. *Theriogenology*. 26: 847-856.
- Armstrong, D.T. & G. Evans. 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*. 19: 31-42.
- Armstrong, D.T., A.P. Pfitzner, G.M. Warnes & R.F. Seamark. 1983. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *Journal of Reproduction and Fertility*: 403-410.
- Bessoudo, E, L. Davies, S. Coonrod & D.C. Kraemer. 1988. Commercial embryo transfer in Australian angora goats. *Theriogenology*. 29. No.1:222.
- Cameron, A.W.N., K.M. Batty & A.O. Trounson. 1988. Time of ovulation in goats (*Capra hircus*) induced to superovulate with PMSG. *J.Reprod Fert.* 83:747-752.
- Copehart, J.S., M.J. Bowen, J.W. Bassett, J.M. Shelton & D.C. Kraemer. 1984. A modified technique for the collection of uterine stage ovine embryos. *Theriogenology* 21:227.
- Demiruden, A.S. 1982. The emerging of goats in world food production: World production trend and potentials. *Proceedings of the 3 rd International Conferences on goats production and diseases*. Tucson: The university of Arizona: 142-143.
- Heyward, E.R.J. 1993. Practical aspect of sheep embryo transfer. *Animal health and production*

- for 21 st Century. Editor K.J. Beh. CSIRO Australia: 41-42.
- Heywood, T. 1993. Embryo transfer in sheep. *Proceedings 215 Postgraduate Committee in Veterinary Science*, University of Sydney:69-76.
- Jackson, P. 1993. Laparoscopic insemination of sheep and goats. *Proceedings 215 Postgraduate Committee in Veterinary Science*, University of Sydney:65-66.
- Machen, R.V. 1995. *Great potential in a New Industry*. Texas Agricultural Extension Services-Uvalde, Texas.
- Mc Kelvey, W.A.C. & J.J. Robinson. 1984. Normal lambs born following transfer of embryos by laparoscopy. *Veterinary Record*. 1:230.
- Mc Kelvey, W.A.C., J.J. Robinson, R.P. Aitken & I.S. Robertson. 1986. repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology*, 25:855-865.
- Mutiga, E.R. & A.A. Baker. 1984. Transfer of sheep embryos through a laparoscope. *The Veterinary Record*. 114:401-402.
- Raun, N.S. 1982. The emerging role of goats in world food production *Proceedings of the 3 rd International Conferences on goats production and diseases*. Tucson: The university of Arizona: 133-142.
- Salisbury, G.W., N.I. Van Demark & J.R. Lodge. 1978. *Physiology of Reproduction and artificial insemination of cattle*. W.H. Freeman:106.
- Senn, B.J. & M.E. Richardson. 1992. Seasonal effects on caprine response to synchronization of oestrus and superovulation treatment. *Theriogenology* 37:579-585.
- Smith, C. 1986. Faster genetic improvement in sheep by multiple ovulation and embryo transfer (MOET). *Exploiting New Technology in Animal Breeding: Genetic development*. Oxford University Press:163-169.
- Terrill, C.E. 1993. Goat meat in our future. the status of meat goats in the United States. *Live Animal Trade & Transport Magazine*. V no 4: 36-39.
- Tervit, H.R. & P.G. Havik. 1976. A modified technique for flushing ova from the sheep uterus. *New Zealand Veterinary Journal*. 24:138-140.
- Tervit, H.R., J.G.E. Thompson, R.W. James, L.T. McGowan & G.J.A. Paton. 1992. Development of improved surgical uterine embryo recovery techniques in sheep. *Proceedings of the 12 th International Congress on Animal Reproduction* (ICAR). The Hague:820-822.
- Wagner, H.G.R. 1987. Present status of embryo transfer in cattle. *World Animal Review*. 64:2-11.
- Wallace, J.M. 1992. Artificial insemination and embryo transfer. *Progress in sheep and goat research*. CAB International:1-24.