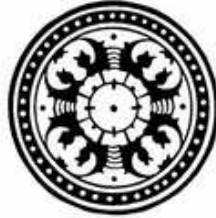


# **TEKNOLOGI REPRODUKSI DALAM UPAYA MENINGKATKAN PRODUKTIVITAS TERNAK**



**Oleh  
Ir. Suciani, MSi.  
NIP. 19520331 198601 2001**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS UDAYANA  
2015**

## **KATA PENGANTAR**

Berkat asung kerta wara nugraha Ida Shang Hyang Widhi Wasa, Tuhan Yang Maha Esa, tulisan dengan judul Teknologi Reproduksi Dalam Upaya Meningkatkan Produktivitas Ternak dapat diselesaikan tepat pada waktunya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

- Bapak Prof.D.K. Harya Putra, Ph.D. atas bimbingan yang telah diberikan .
- Rekan-rekan dosen di Lab. Penyuluhan dan Ekonomi Peternakan atas kerjasamanya.

Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Kami menyadari bahwa tulisan yang kami susun ini tidak luput dari berbagai kekurangan, untuk itu kami sangat mengharapkan kritik dan saran dalam rangka penyempurnaan tulisan ini.

Denpasar, Januari 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	i	
DAFTAR ISI .....	ii	
DAFTAR TABEL .....	iii	
DAFTAR GAMBAR .....	iv	
I PENDAHULUAN		
1.1 Teknologi Inseminasi Buatan .....	1	
1.2 Teknologi Transfer Embrio .....	3	
1.3. Teknologi Sperma Sexing (Pemisahan Spermatozoa x dan y).....	6	
1.4. Teknologi Seksing Embrio dan Fetus .....	9	
1.5 Fertilisasi In Vitro .....	9	
II. TEKNOLOGI CRIOPRESERVASI GAMET (SPERMATOZOA dan OVA)		
2.1. <i>Criopreservasi Spermatozoa</i> .....	12	
2.2. <i>Criopreservasi Oosit</i> .....	13	
III. PEMBENTUKAN TERNAK TRANSGENIK .....		14
IV. KLONING		
4.1. <i>Cloning</i> Pada Embrio Awal .....	15	
4.2. Kloning dalam Industri Pembibitan Sapi .....	18	
4.3. Kloning Komersial pada Kuda .....	19	
V. SIMPULAN .....		22
DAFTAR PUSTAKA .....	23	

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Berbagai Metode Seksing .....	9
2. Contoh-contoh locyt-locyt gen dan aplikasi pada ternak .....	18

## I. PENDAHULUAN

Ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) dari tahun ke tahun bertambah maju dan berkembang sangat pesat yang ditandai dengan berbagai penemuan. Kemajuan IPTEK tersebut, juga berpengaruh terhadap kemajuan teknologi di subsector peternakan. Perkembangan IPTEK di bidang reproduksi ternak misalnya telah memberikan dampak kemajuan di subsektor peternakan terutama dalam meningkatkan produktivitas ternak. Penelitian-penelitian reproduksi hewan di berbagai institusi riset telah menghasilkan teknologi yang diaplikasikan pada berbagai spesies hewan. Teknologi reproduksi yang terdedia saat ini ada dalam berbagai bentuk, mulai bantuan perkawinan alami yang sederhana sampai kloning hewan dewasa dengan prosedur yang kompleks.

Di negara maju telah lama di kembangkan teknologi reproduksi Inseminasi Buatan (*AI, Artificial Insemination*), Transfer Embrio (*TE, Transfer Embryo*), yang kemudian terus berkembang ke teknologi *processing* semen (pemisahan spermatozoa X dan Y), Fertilisasi *In Vitro* (*IVF, In Vitro Fertilization*), teknologi *Preservasi* dan *Criopreservasi* gamet (spermatozoa dan ova) dan embrio. Saat ini sedang dikembangkan teknologi rekayasa genetik untuk menghasilkan klon-klon ternak unggul yang meliputi transfer gen, pemetaan genetik, *cloning, chimera*, dll. Penemuan-penemuan teknologi di bidang reproduksi ternak tersebut dapat dimanfaatkan untuk mengatasi masalah-masalah dan tantangan yang dihadapi subsector peternakan terutama dalam meningkatkan populasi, produksi dan produktivitas ternak baik secara kualitas maupun kuantitas. Dalam tulisan ini akan dibahas tentang teknologi inseminasi buatan (IB), transfer embrio (TE), teknologi *processing* semen, fertilisasi *in vitro*, teknologi *criopreservasi* gamet, pembentukan ternak *transgenik, cloning* dan pembentukan ternak *chimera*.

### 1.1 Teknologi Inseminasi Buatan

Inseminasi Buatan (IB) adalah proses pemasukan semen (mani) ke dalam saluran reproduksi (kelamin) betina dengan menggunakan alat buatan manusia. Tujuan penerapan teknologi IB adalah untuk introduksi/ penyebaran pejantan unggul di suatu daerah yang tidak memungkinkan untuk kawin alam serta pelestarian plasma nutfah ternak jantan yang diinginkan. Prosedur inseminasi buatan tersebut meliputi :

- Seleksi Pejantan

Pejantan-pejantan unggul diseleksi dari program *breeding* terencana dipakai dalam penyediaan semen beku. Seekor pejantan unggul dapat menghasilkan 25.000 ekor anak per tahun melalui penggunaan semen beku, sehingga selama hidup dari seekor pejantan unggul dapat diperoleh 150.000 ekor anak (Sumbung, 2002).

- Penampungan Semen

Penampungan semen dapat dilakukan dengan cara menggunakan vagina buatan, *elektroejakulator*, dan *massage* (pengurutan). Penampungan semen yang umum dan rutin dilakukan dalam kegiatan IB adalah menggunakan vagina buatan. Vagina buatan adalah selongsong karet yang keras dan kuat kemudian dilapisi dengan karet yang lembut dan diberi pelicin (vaselin), salah satu ujungnya dilengkapi dengan tabung untuk menampung semen. Metode penampungan semen dengan vagina buatan dilakukan dengan membuat pejantan berejakulasi dalam vagina buatan, kemudian semen ditampung di dalam tabung.

- Evaluasi Semen

Sesudah penampungan semen, dilakukan evaluasi semen berupa penilaian keadaan umum (volume, warna, dan *konsistensi*), *motilitas* (gerakan massa dan gerakan individual), konsentrasi dan penilaian morfologik (kelainan primer dan sekunder).

- Pengenceran Semen

Pengenceran semen dapat dilakukan dengan menggunakan bahan seperti *buffer isotonik* yang berisi karbohidrat sebagai sumber energi, protein pelindung, antibiotik, dan semen yang akan dibekukan ditambah dengan *crioprotectan* (*glycerol* atau *dimethylsulphoxide*).

Semen sapi dapat diencerkan 10 – 75 kali, semen domba 5 – 10 kali, dan semen kambing 10 – 25 kali, tetapi semen babi dan kuda hanya 2 – 4 kali saja. Satu kali inseminasi diperlukan 10 – 15 juta spermatozoa *motil* pada sapi, 200 juta pada domba dan kambing, 500 juta pada babi, dan 1.500 juta pada kuda. Dengan dosis inseminasi ini dapat dihitung berapa banyak betina dapat diinseminasi dari seekor pejantan.

- Penyimpanan/ Pembekuan Semen

Semen yang telah diencerkan yang tidak dapat langsung digunakan, dapat disimpan atau dibekukan. Semen dimasukkan ke dalam *straw* plastik volume 0,5 cc atau 0,25 cc (mini *straw*) kemudian dibekukan dalam nitrogen cair pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  di dalam kontainer.

- *Thawing*/ Pencairan Semen

Semen yang telah dibekukan dapat dicairkan kembali (*thawing*) pada temperature tertentu, kemudian langsung diinseminasikan ke dalam *cervix* atau *corpus uteri*. Semen yang

sudah dicairkan tidak boleh dikembalikan lagi/ dibekukan tetapi harus segera dideposisikan pada saluran reproduksi betina.

- **Pelaksanaan Inseminasi Buatan**

Pelaksanaan inseminasi buatan meliputi : deteksi berahi, waktu optimum untuk inseminasi, tempat deposisi semen, dan metode inseminasi buatan.

1. **Deteksi berahi**, dapat dilakukan oleh peternak dengan melakukan pengawasan secara intensif kepada ternak. Sinkronisasi berahi dapat dilakukan untuk mendapatkan kelahiran anak dalam waktu yang bersamaan, terutama untuk memperhitungkan musim saat kelahiran anak.
2. **Waktu optimum untuk inseminasi**, perlu diketahui agar diperoleh angka konsepsi yang tinggi. Lama berahi pada masing-masing jenis ternak berbeda, sehingga waktu optimum untuk inseminasi berbeda-beda.
3. **Tempat deposisi semen**, yang paling baik untuk memperoleh angka konsepsi paling tinggi dilakukan pada posisi 4 yaitu pada pangkal *corpus uteri* di belakang *cervix*.
4. **Cara pelaksanaan IB**, ada dua metode yaitu metode *rektovaginal* dan metode *spekulum*. Metode *rektovaginal* digunakan pada ternak besar sedang metode *spekulum* pada ternak kecil (domba dan kambing).

## **1.2 Teknologi Transfer Embrio**

Transfer Embrio (TE) merupakan generasi kedua teknologi reproduksi setelah inseminasi buatan (IB). Teknologi IB hanya dapat menyebarkan bibit unggul ternak jantan, sedang pada teknologi TE dapat menyebarkan bibit unggul ternak jantan dan betina. Walaupun demikian, keuntungan utama yang dapat diperoleh adalah meningkatkan kemampuan reproduksi ternak betina unggul. Aplikasi TE memerlukan waktu dan biaya yang relatif lebih singkat dan murah dalam pembentukan mutu genetika yang dikehendaki, sehingga teknologi ini dapat mempercepat perbaikan mutu ternak dalam rangka meningkatkan produktivitas ternak.

Kemajuan teknologi dibidang TE menyebabkan terjadinya perubahan perdagangan ternak dari ternak hidup menjadi embrio beku. Teknologi ini juga telah memungkinkan dihasilkannya anak kembar identik atau lahirnya anak kembar dari bangsa yang berbeda dan tipe yang berbeda, menghasilkan anak yang diketahui jenis kelaminnya, menghasilkan anak dari hasil pembuahan dalam tabung (*in vitro fertilization*), menghasilkan hewan *chimera*,

kebuntingan *interspecies*, dihasilkannya ternak *transgenik*, pengobatan infertilitas dan pengendalian penyakit.

Teknik TE merupakan suatu manipulasi fungsi alat reproduksi dengan perlakuan berbagai hormon *superovulasi* pada betina donor dan menyebabkan pematangan dan ovulasi sel telur dalam jumlah yang besar. Sel telur hasil *superovulasi* setelah dibuahi oleh sperma pejantan unggul dikoleksi dari donor dan dievaluasi sebelum ditransfer ke induk resipien yang selanjutnya terjadi kebuntingan dan kelahiran.

Pelaksanaan transfer embrio merupakan suatu rangkaian kegiatan yang terdiri dari : seleksi donor dan resipien, penyerentakan berahi donor dan resipien, *superovulasi* donor, inseminasi buatan, panen embrio, penilaian dan penyimpanan embrio, dan transfer embrio ke resipien.

- Seleksi Donor dan Resipien

Ada dua kriteria yang digunakan untuk seleksi donor pada program TE, yaitu : (1) mempunyai nilai genetik yang baik (meneruskan sifat-sifat yang diinginkan), (2) mempunyai sifat yang dapat memproduksi embrio yang dapat ditransfer kemampuan reproduksinya, nilai jual anak yang tinggi, dan kondisi kesehatan yang baik. Saat seleksi genetik dilakukan, penilaian harus obyektif. Kondisi kesehatan donor harus dipelihara dengan tepat dengan dengan cara karantina, tes darah, dan vaksinasi. Pada waktu donor diseleksi , sistem reproduksi diuji dengan palpasi rektal untuk mengetahui adanya ketidaknormalan pada saluran reproduksi dan mengetahui apakah dalam keadaan tidak bunting.

Seperti pada donor, resipien yang ideal adalah sapi betina yang masih muda dan bebas penyakit, memperlihatkan fertilitas yang tinggi serta mampu melahirkan dan memelihara anak. Sapi yang akan dijadikan resipien terlebih dahulu diuji kesehatan dan keadaan reproduksinya meliputi keabnormalan pada sistem reproduksi, kebuntingan awal dan adanya penyakit. Sapi resipien juga harus dikarantina sehingga lebih muda mengamati kesehatannya, temperatur tubuh, dan beberapa infeksi yang berpengaruh besar terhadap infertilitas dan abortus.

- Penyerentakan Berahi Donor dan Resipien

Keberhasilan TE sangat tergantung pada sinkronisasi berahi sapi donor dan resipien. Penyerentakan berahi umumnya menggunakan *Prostaglandin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α)*.

- Superovulasi Donor

Sapi adalah ternak *uniparous* (ternak yang hanya menghasilkan satu keturunan dalam satu masa kebuntingan), sehingga biasanya hanya sebuah sel telur terovulasi setiap siklus



berahi. *Superovulasi* (menghasilkan banyak sel telur yang diovulasikan) pada donor dapat dilakukan dengan pemberian obat penyubur yakni hormone *gonadotropin* berupa PMSG atau FSH. Standar obat yang sering digunakan untuk *superovulasi* adalah *Pregnant Mare's Serum Gonadotropin* (PMSG). Penyuntikan dengan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) menghasilkan CL dan daya hidup embrio yang lebih baik daripada perlakuan PMSG.

- Inseminasi Buatan

Donor yang telah dirangsang dengan *superovulasi*, dikawinkan umumnya dengan cara inseminasi buatan (IB) dengan memakai semen pejantan unggul. Dosis semen ditingkatkan agar jumlah sel telur yang dibuahi lebih banyak. Umumnya IB dilakukan dua kali dengan tenggang waktu 12 jam.

- Panen/ Koleksi Embrio

Panen embrio dapat dilakukan dengan dengan pembedahan atau tanpa pembedahan. Pemanenan embrio melalui pembedahan dilakukan pada ternak ternak kecil seperti kambing dan domba, sedangkan untuk ternak besar seperti sapi, kerbau dan kuda kedua cara tersebut dapat dipakai. Cara tanpa pembedahan pada ternak besar sekarang ini lebih populer, karena sarana dan pelaksanaannya lebih sederhana dan resikonya lebih kecil dibandingkan dengan cara pembedahan.

Cara memanen embrio tanpa pembedahan dilakukan dengan membilas uterus dengan cairan *phosphate buffer saline* (PBS) steril yang dimasukkan dengan menggunakan kateter *Foley* yang dilengkapi dengan balon penyumbat melalui *cervix (transcervical)*. Infusi cairan ini dilakukan dengan gerak gravitasi, dan bila uterus telah penuh, infus dihentikan dan cairan pembilas dikumpul melalui kateter yang sama ke dalam gelas penampung. Pembilasan dilakukan beberapa kali pada kedua tanduk uterus (*uterine horn*). Dengan mendinginkan cairan pembilas maka, embrio akan mengendap, dan dengan mengurangi volume cairan embrio dapat diambil dengan *pipet Pasteur*. Pada ternak sapi embrio berpindah dari oviduct ke uterus antara hari ke 3 sampai 5 sesudah ovulasi. Waktu untuk memanen embrio yang terbaik pada saat berumur 7 hari. Pada umur ini embrio berada pada fase *blastosis* belum diimplantasikan pada dinding uterus (*endometrium*).

- Penilaian dan Penyimpanan Embrio

Seluruh embrio yang terkoleksi harus diuji secara individual di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 – 200 kali mengenai tahap perkembangan sel, bentuk dan kualitas embrio. Embrio yang terkoleksi harus mempunyai tahap perkembangan yang sama. Kualitas embrio dibedakan berdasarkan kondisinya, jumlah, kekompakan sel, degenerasi sel dan

jumlah serta ukuran gelembung. Embrio yang telah diklassifikasikan disimpan dalam medium penyimpanan pada temperatur ruang (15 - 25°C) sebelum ditransplantasikan ke resipien atau dibekukan. Embrio harus disimpan dalam keadaan hidup dalam larutan nutrisi selama periode antara koleksi dari donor dan transfer ke resipien.

Embrio sapi dan ternak peliharaan lainnya tahan disimpan selama 2 hari pada temperatur 37°C atau dalam lemari es tanpa menurunkan daya hidupnya. Oviduct kelinci dan domba dapat pula dipakai sebagai inkubator biologis untuk penelitian.

Untuk tujuan praktisnya, pembekuan dalam nitrogen cair pada temperatur -196°C merupakan pilihan utama untuk menyimpan selama waktu yang dikehendaki atau untuk ditransportasikan. Keberhasilan pembekuan embrio tanpa menurunkan daya hidupnya merupakan salah satu faktor yang mempermudah tersebar luasnya penggunaan teknologi TE ini.

- Transfer Embrio Ke Resipien

Transfer embrio dapat dilakukan dengan pembedahan dan tanpa pembedahan. Metode pembedahan cenderung lebih tinggi dan lebih konsisten tingkat kebuntingannya, tetapi lebih membutuhkan tenaga yang terampil. Cara tanpa pembedahan sekarang banyak dipakai, karena lebih cepat dan sederhana, sedangkan angka kebuntingan yang dicapai sudah sama dengan tanpa pembedahan.

### **1.3 Teknologi Sperma Sexing (Pemisahan Spermatozoa x dan y)**

Kemungkinan praseleksi seks selalu mendapat perhatian besar diantara peneliti dan pengusaha peternakan. Semen yang sudah diseksing dapat meningkatkan keuntungan yang diharapkan industri sapi perah dan sapi potong melalui produksi anak dengan jenis kelamin yang diinginkan, menguntungkan untuk pemasaran spesifik atau kebutuhan produksi komersial. Sebagai contoh, produksi anak betina diharapkan pada ternak perah penghasil susu, dan produksi anak jantan diharapkan pada ternak potong penghasil daging. Seksing dapat juga diaplikasikan bagi perusahaan pembibitan dan balai IB untuk menguji pejantan unggul dengan jumlah betina yang sedikit (Hohenboken, 1999).

Pemanfaatan teknologi *sexing* spermatozoa merupakan salah satu pilihan yang tepat dalam rangka peningkatan efisiensi reproduksi ternak yang mampu meningkatkan efisiensi usaha peternakan baik dalam skala peternakan rakyat maupun dalam skala peternakan komersial. Salah satu sasaran dalam bidang reproduksi ternak adalah memproduksi anak yang mempunyai jenis kelamin sesuai dengan keinginan peternak.

Sebagai contoh, peternak sapi perah lebih mengharapkan sapi betina dari suatu kelahiran daripada sapi jantan, sebaliknya peternak sapi potong lebih mengharapkan kelahiran sapi jantan dari pada sapi betina.

Berbagai penelitian yang telah dilakukan untuk mengontrol jenis kelamin anak ternak dari suatu kelahiran agar sesuai dengan keinginan peternak. Penelitian dimulai dengan pengkondisian saluran reproduksi ternak betina agar lingkungan itu menjadi lebih baik bagi spermatozoa X daripada spermatozoa Y atau sebaliknya. Selanjutnya pemisahan spermatozoa X dan spermatozoa Y sebelum dilakukan IB atau IVF (*In Vitro Fertilization*).

- Pembentukan Jenis Kelamin

Keberadaan spermatozoa dalam proses pembentukan jenis kelamin pada kebanyakan makhluk hidup khususnya mamalia, mempunyai arti penting, karena spermatozoa menentukan jenis kelamin seekor ternak. Proses ini melibatkan penggabungan antara kromosom seks yang dibawa oleh spermatozoa dan kromosom seks yang dibawa oleh ovum (sel telur). Berdasarkan kromosom seks yang dibawanya, spermatozoa pada mamalia dapat dibedakan atas spermatozoa pembawa kromosom X (spermatozoa X) dan spermatozoa pembawa kromosom Y (spermatozoa Y).

Dalam suatu perkawinan, jika spermatozoa Y yang berhasil membuahi telur, anak yang akan dilahirkan adalah jantan, dengan komposisi kromosom secara normal yaitu XY. Hal ini terjadi karena dalam proses pembentukan jenis kelamin, spermatozoa Y yang mengandung gen *Testis determining factor* (tidak dimiliki oleh spermatozoa X) akan mengarahkan pertumbuhan *gonad primordial* untuk membentuk testes

Selanjutnya, testes (*sel-sel Sertoli*) akan menghasilkan hormon *Anti Mullerian duct factor* yang dapat meregresi pertumbuhan *Mullerian duct*, sehingga saluran reproduksi betina (*oviduct, uterus, cervix* dan *vagina*) tidak terbentuk. Selain itu, testes (*sel-sel Leydig*) juga mensekresikan hormon *testosteron* yang menyebabkan *maskulinisasi* pada foetus dan membantu dalam proses pembentukan *penis* dan *scrotum* serta merangsang pertumbuhan *Wolffian duct* untuk membentuk *epididymus, vas deferens*, dan *seminal vesicle*. Sebaliknya jika spermatozoa X yang berhasil membuahi sel telur, maka akan dilahirkan anak betina dengan komposisi kromosom yang normal, yaitu XX.

Ketidakhadiran gen testes *determining factor* akan menyebabkan *gonad primordial* berubah menjadi ovarium. Selanjutnya ovarium (*sel-sel granulosa* dan *sel-sel theca*) akan mensekresikan hormon *estrogen* yang merangsang pertumbuhan *Mullerian duct* untuk membentuk saluran reproduksi betina (Gilbert, 1988 dalam Sali dkk., 1998).

- Pemisahan Spermatozoa

Beberapa metode pemisahan spermatozoa dapat dilakukan adalah menggunakan kolom albumin, kecepatan sedimentasi, sentrifugasi dengan *gradient densitas percoll*, *motilitas* dan pemisahan *elektroforesis*, *isoelectric focusing*, teknik manipulasi hormonal, H-Y *antigen*, *flow sorting*, dan metode penyaringan menggunakan kolom *Sephadex*. Metode yang dianggap paling valid diantara beberapa metode tersebut adalah metode kolom albumin dan metode penyaringan menggunakan kolom *Shepadex* (Saili *dkk.*, 1998).

Perbedaan potensial antara spermatozoa X dan Y adalah kandungan DNA, sensitivitas pH dan perbedaan morfologi kepala serta *motilitas*. Perbedaan yang utama adalah kontribusi dari kromosom seksnya, yaitu spermatozoa X mengandung kromatin lebih banyak pada inti spermatozoa yang terdapat dalam kepalanya, sehingga ukuran kepala spermatozoa X lebih besar. Spermatozoa Y ukuran kepalanya kepalanya lebih kecil, lebih ringan dan lebih pendek dibandingkan spermatozoa X, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan lebih banyak bergerak serta kemungkinan mengandung materi genetik dan DNA lebih sedikit dibandingkan dengan spermatozoa X.

- Pemisahan Spermatozoa dengan Metode Kolom *Bovine Serum Albumin* (BSA)

Pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode kolom yang mengandung larutan BSA didasarkan pada perbedaan *motilitas* (kecepatan pergerakan) antara spermatozoa X dan Y dalam menembus larutan yang mengandung BSA.

Pemisahan spermatozoa dilakukan dengan cara memasukan sampel semen ke dalam kolom yang berisi larutan BSA. Kolom yang digunakan dilengkapi dengan kran pada masing-masing bagian (atas dan bawah) untuk memudahkan pengambilan semen pada setiap bagian proses pemisahan. Sedangkan larutan BSA yang digunakan mengandung campuran Tris (*hydroxy-methyl aminomethan*), asam sitrat, fruktosa, BSA dan aquades.

Sampel semen dibiarkan selama kurang lebih dua jam untuk mengendap. Pada proses ini diharapkan spermatozoa Y akan bergerak lebih cepat menembus larutan BSA, karena memiliki bentuk dan ukuran yang lebih kecil dan kandungan DNA nya lebih sedikit dibanding spermatozoa X. Selanjutnya semen bagian bawah dan atas diambil dengan cara memutar kran pada masing-masing bagian dan ditampung dengan menggunakan tabung sentrifuge. Sentrifuge masing-masing bagian semen pada kecepatan 2.800 – 3.200 *rpm* selama 15 menit untuk mendapatkan endapan semen yang bersih, sedangkan supernatannya dibuang. Endapan semen tersebut selanjutnya diencerkan kembali dengan menggunakan jenis pengencer awal, kemudian disentrifuge untuk mendapatkan endapan semen yang lebih bersih.

Hasil sentrifuge selanjutnya diencerkan dengan menggunakan pengencer yang mengandung Tris, glukosa, asam sitrat, kuning telur, dan aquades dengan perbandingan sama 1 : 1.

Semen yang diseksing sangat bermanfaat dalam program IB, ET, dan PEIV. Semen hasil seksing ini telah diuji coba di lapangan. IB sapi dara menggunakan semen hasil seksing menghasilkan angka kebuntingan yang sama baiknya antara dosis rendah ( $1-1,5 \times 10^6$  sperma) maupun dosis tinggi ( $3 \times 10^6$  sperma), sehingga dosis rendah cukup memadai untuk pelaksanaan IB. Semen beku yang hasil seksing yang dipakai dalam PEIV menghasilkan perkembangan embrio sampai tahap blastosis mencapai 18-26% (Lu *et al*, 2001).

#### 1.4 Teknologi Seksing Embrio dan Fetus

Selain diterapkan pada semen, teknologi seksing juga bisa diterapkan pada embrio dan fetus. Berbagai metode seksing pada semen, embrio maupun fetus telah dikembangkan (Tabel 1). Hasil dan akurasi sebagian besar teknik ini cukup memuaskan baik menggunakan metode praseleksi (seksing semen atau embrio) atau pascaseleksi (fetus). Pada skala komersial, metode yang rutin dipakai untuk seksing embrio adalah biopsi embrio dan amplifikasi DNA spesifik kromosom-Y menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Metode ini efektif untuk lebih dari 90% embrio dengan tingkat akurasi diatas 95% (Seidel, 1999).

Seksing embrio komersial dimulai di Trans Ova Genetics dengan memakai metode AB Technology (Pullman, WA). Prosedur membutuhkan waktu 5 menit untuk setiap biopsi embrio dan 2 jam untuk proses PCR (Faber *et al*, 2003).

Tabel 1. Berbagai metode seksing

Seksing	Metode
Semen	Kandungan DNA, volume kepala, imunologi
Embrio	Biopsi dan PCR, hibridisasi <i>in situ</i> fluorescence, kecepatan tumbuh <i>in vitro</i>
Fetus	Ultrasonografi hari ke-60 kebuntingan

#### 1.5 Fertilisasi In Vitro

Pertengahan tahun 1980-an, beberapa laboratorium yang memproduksi embrio *in vitro* komersial berkembang di Amerika Serikat, Canada dan Eropa (terutama Jerman, Italia, Perancis, dan Belanda). Beberapa tahun kemudian berdiri laboratorium-laboratorium lain di Amerika Latin (Brasil dan Argentina) dan Oceania (Australia dan Selandia Baru) (Faber *et al*,

2003). Di Asia beberapa negara juga mengembangkan laboratorium serupa tetapi belum mengarah sepenuhnya pada kepentingan komersial seperti di Jepang, Cina, Korea, India, Thailand dan Indonesia.

Adopsi *transvaginal ovum pick-up* (OPU) dengan bantuan ultrasonography memungkinkan PEIV memanfaatkan hewan hidup sebagai sumber oosit (Callensen *et al*, 1987). Manfaat PEIV komersial adalah mendapatkan embrio dari betina yang tidak bisa menghasilkan keturunan melalui teknik konvensional. Dengan menggunakan OPU, PEIV menghasilkan satu kebuntingan per donor per minggu. Sekarang, PEIV menjadi komplemen dari program embrio transfer (ET). PEIV sebagai bagian program ET dapat diaplikasikan pada betina yang tidak respon terhadap perlakuan superovulasi atau betina yang tidak dapat menghasilkan embrio layak transfer karena abnormalitas saluran reproduksinya. PEIV dengan OPU juga dimungkinkan pada betina yang berhenti produksi embrio (karena sudah tua, kecelakaan, penyakit, dan lain-lain), dara dan induk bunting trimester pertama, dara dan induk dengan atau tanpa anak 1-3 bulan post partum. Selain itu dapat pula dilakukan pada dara dan induk dengan siklus normal dan betina yang belum dewasa kelamin.

OPU-PEIV dilaksanakan oleh laboratorium komersial maupun riset dalam berbagai kategori yang berbeda dalam hal hewan yang digunakan, umur, bangsa, status reproduksi, frekuensi aspirasi, penggunaan hormon, dan protokol fertilisasi dan kultur *in vitro*. Hasil-hasil yang diperolehpun bervariasi (Blondin *et al*, 2002; Bousquet *et al*, 1999; Eikermann *et al*, 2000; Ferre *et al*, 2002; Reis *et al*, 2002). Perkembangan embrio dan persentase kebuntingan berbeda-beda antar perlakuan. Aplikasi FSH sebelum OPU meningkatkan jumlah oosit, embrio layak transfer, dan kualitas oosit. Hasil penelitian menunjukkan perlunya perbaikan

skema perlakuan superovulasi, meliputi kontrol perkembangan folikel dan menyempurnakan kompetensi tumbuh dari oosit (Blondin *et al*, 2002).

PEIV memungkinkan produksi embrio dalam jumlah besar dari ovarium donor yang dipotong jika asal usul betina tidak penting diketahui. Ovarium-ovarium donor dengan bangsa yang sama dapat diproses sebagai satu batch. Prosedur ini memudahkan semua tahapan produksi, identifikasi dan pembekuan sehingga biaya produksi embrio rendah dan dapat dikomersialkan dengan harga yang kompetitif. Tipe produksi seperti ini digunakan pada bangsa sapi potong premium untuk produksi anak komersial memanfaatkan ovarium sapi perah. Negara yang mengandalkan bangsa sapi potong unggul lokal untuk industry dagingnya (contoh: Italia dan Jepang) telah mengembangkannya. Produksi masal dapat juga digunakan untuk diseminasi embrio sapi perah bagi negara-negara berkembang.

Penelitian akhir-akhir ini dikonsentrasikan terhadap satu paket baru. Sel telur belum matang (*oosit*) diambil dari ternak hidup atau ovarium berasal dari ternak betina yang baru dipotong. *Oosit* tersebut kemudian dimatangkan dan dibuahi di laboratorium, dan dikultur sampai pada tahap tertentu dan selanjutnya ditransfer ke ternak resipien atau dibekukan untuk ditransfer kemudian. Proses ini dikenal sebagai pematangan *in vitro* atau fertilisasi buatan atau dikenal sebagai IVM / IVF (*In Vitro Maturation/ In Vitro Fertilization*)

Proses pengambilan *oosit* pada mulanya dikonsentrasi pada penggunaan ovarium dari rumah potong hewan. Sekarang proses ini diganti dengan suatu metode menghisap *oosit* belum matang (*ovum pick up*) dari ovarium betina hidup. Hasil percobaan telah memperlihatkan bahwa ovarium betina dapat dihisap berulang-ulang dengan aman, meskipun dalam keadaan bunting. Bila sapi betina donor berkualitas tinggi berkaitan dengan laboratorium IVF dengan baik, teknik ini dapat digunakan untuk menghasilkan embrio berkualitas tinggi dalam jumlah yang banyak.

*Oosit* dapat juga diperoleh dari folikel matang pada siklus berahi normal atau yang sengaja distimulasi hormon *gonadotropin* pada ovarium hewan *prepubertas* atau hewan yang tidak berjalan siklusnya. Pada kasus yang kedua *oosit* harus dimatangkan terlebih dahulu secara *in vitro* sebelum difertilisasi kemudian ditransfer ke resipien.

Sel-sel telur hasil *superovulasi* juga dapat dibuahi dengan teknik fertilisasi *in vitro*. Spermatozoa dari sapi jantan yang berkualitas tinggi dan sel telur sapi betina yang berkualitas tinggi dapat difertilisasi di laboratorium, kemudian ditransfer ke sapi lainnya sampai anak sapi lahir. Embrio hasil fertilisasi *in vitro* dapat dibawa dari suatu peternakan ke peternakan lain dan dari satu negara ke negara lain untuk meningkatkan sifat ternak. Lebih ekonomis jika mengirimkan satu kotak kecil berisi embrio beku yang disimpan dalam nitrogen cair daripada mengirimkan sapi dewasa.

Efisiensi teknologi PEIV dipengaruhi oleh banyak faktor, tetapi faktor utamanya adalah status donor, kualitas oosit, dan teknik yang digunakan untuk kultur embrio sampai tahap blastosis. Walaupun telah tercapai kemajuan berarti dalam PEIV sejak mulai diimplementasikan dalam pemuliabiakan hewan, beberapa hal masih perlu diperbaiki. Hal ini meliputi daya tahan oosit dan embrio terhadap pembekuan, menurunkan pengaruh kultur terhadap ukuran anak, meningkatkan kualitas oosit, penggunaan semen hasil seksing, ICSI, dan kultur folikel preantra

## II. Teknologi Criopreservasi Gamet (Spermatozoa dan Ova)

### 2.1 Criopreservasi Spermatozoa

Pembekuan spermatozoa diawali dengan pengenceran semen. Semen yang telah diencerkan dalam *beaker glass* direndam dengan air yang mempunyai suhu sama dengan suhu semen, kemudian dimasukkan ke *refrigerator* dan didinginkan sampai suhu 5°C. Perendaman semen di air dalam *beaker glass* untuk mencegah terjadinya *cold shock*. Penambahan *gliserol* ke dalam semen setelah pendinginan berfungsi sebagai *crioprotectan intraselluler*, digunakan untuk melindungi semen selama pembekuan dan *thawing*, sehingga perubahan permeabilitas membran sel dan perubahan pH dapat dicegah. Penambahan *crioprotectan gliserol* dilakukan beberapa jam sebelum pembekuan agar sel spermatozoa berkesempatan untuk berekuilibrasi dengan *gliserol*.

Pembekuan dilakukan dengan menempatkan *straw* pada *canister* yang kemudian ditaruh 5,5 cm di atas nitrogen cair selama dua menit. Uap nitrogen pada daerah ini akan membekukan semen sampai -140°C. *Canister* yang berisi *straw* selanjutnya dimasukkan ke dalam nitrogen cair yang bersuhu -196°C. Spermatozoa yang disimpan dalam kontainer yang berisi nitrogen cair dengan suhu -196°C dapat hidup dalam waktu yang sangat lama. Oleh sebab itu, keberadaan nitrogen harus selalu dikontrol secara periodik, karena kehabisan nitrogen cair menyebabkan kenaikan suhu yang dapat mematikan spermatozoa.

Proses pembekuan dan *thawing* mempengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup membran sel. Stabilitas membran sel spermatozoa dapat dipertahankan dengan pemberian pengencer. Fungsi pengencer adalah memperbanyak volume semen, melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* selama pembekuan, menyediakan zat makanan, menyediakan buffer sebagai penetralisasi asam laktat yang diproduksi oleh aktivitas metabolisme spermatozoa dan mencegah kemungkinan pertumbuhan kuman.

Pengencer harus *isotonis* dengan spermatozoa, karena pengencer *hipotonis* dan *hipertonis* akan mengubah transfer air melalui membran sel dan dapat merusak integritas membran sel spermatozoa.

Pengencer *Tris Aminomethan Kuning Telur* dapat digunakan untuk memperbanyak volume dan mencegah perubahan pH (buffer), sumber energi bagi spermatozoa, pelindung terhadap *cold shock* dan meningkatkan daya tahan spermatozoa. Pengencer tersebut terdiri dari *Tris aminomethan*, asam sitrat, laktosa, fruktosa, *raffinosa*, *penicillin*, *streptomycin*, dan *gliserol* ditambah kuning telur. Bahan lain yang dapat digunakan sebagai pengencer adalah



TCM Kuning Telur. Pengencer ini merupakan media biakan yang mengandung asam amino, vitamin, garam-garaman, dan glukosa.

## **2.2 Criopreservasi Oosit**

*Oosit* merupakan sel gamet betina yang merupakan dasar terjadinya proses reproduksi. Pembekuan *oosit* merupakan salah satu tantangan besar dalam teknologi *criopreservasi* sel gamet.

Jenis *crioprotectan* telah diteliti sebagai faktor yang berpengaruh terhadap kualitas hasil pembekuan *oosit* maupun embrio. Ada tiga jenis *crioprotectan* yang digunakan yaitu *gliserol*, *pronanadiol* dan DMSO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *propanediol* merupakan bahan *crioprotectan* terbaik untuk membekukan *oosit* sapi. Pada pembekuan *oosit* ini faktor-faktor yang perlu diperhatikan adalah : suhu inkubasi pra pembekuan, lama *ekuilibrasi*, kecepatan penurunan suhu pembekuan, dan metode koleksi *oosit*.

### III. PEMBENTUKAN TERNAK TRANSGENIK

Transfer materi genetik dengan teknologi rekombinan DNA merupakan suatu metode penemuan baru untuk menghasilkan ternak *transgenik*. Ternak *transgenic* memperlihatkan bermacam-macam fenotipe baru melalui ekspresi molekul DNA eksogen. Ternak *transgenik* dihasilkan dengan *injeksimikro* gen ke dalam *pronukleus* sesaat setelah fertilisasi dan sebelum terjadi pembelahan pertama zigot, selanjutnya ditanam di dalam rahim induk pengganti.

Transfer gen (*transgenik*) artinya penyatuan stabil dari suatu gen dari spesies lain atau bangsa ternak lain dalam satu spesies, sehingga gen itu berfungsi pada ternak penerima dan diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Ternak *transgenic* adalah seekor ternak DNA keturunannya telah ditingkatkan melalui penambahan atau penggantian DNA dari sumber lain melalui rekombinan DNA.

Para ilmuwan telah menggunakan teknologi tersebut mengembangkan ternak *transgenik* misalnya babi *transgenik* yang mempunyai laju pertumbuhan yang tinggi dan kualitas daging yang baik dan juga telah menghasilkan domba *transgenik* yang mempunyai bulu yang tebal. Di Inggris telah dihasilkan babi *transgenik* yang genetiknya telah diubah sehingga mempunyai bahan-bahan genetik manusia. Embrio babi tersebut telah disuntik bahan genetik manusia, sehingga dapat menghasilkan protein manusia. Hal ini berarti bahwa suatu saat, organ babi dewasa dapat ditransplantasikan ke manusia. Biasanya tubuh manusia akan menolak dengan cepat organ-organ yang bukan berasal dari tubuh manusia, tetapi dengan terdapatnya protein manusia akan memperkecil kemungkinan penolakan terhadap organ yang ditransplantasikan.

Pada hewan menyusui, kelenjar *mammae* adalah target utama untuk teknologi transgenik ini. *Laktoferin* merupakan protein yang terdapat dalam air susu ibu merupakan bahan makanan bernutrisi bagi bayi. *Laktoferin* merupakan sumber zat besi dan protein terbaik dan juga mengakibatkan kekebalan alami terhadap penyakit. Air susu ibu tidak selalu tersedia bagi bayi, sehingga para peneliti merancang untuk mengembangkan sapi perah jantan *transgenik* yang membawa gen *laktoferin*. Para peneliti tersebut berhasil menyisipkan gen *laktoferin* manusia ke dalam embrio sapi. Embrio tersebut berkembang menjadi “herman “ sapi jantan transgenik dan telah menjadi bapak dari 8 ekor anak sapi betina *transgenik* yang dapat menghasilkan produksi air susu mirip dengan air susu ibu.

## IV.KLONING

### 4.1 Cloning Pada Embrio Awal

Manipulasimikro embrio (*micromanipulation*) merupakan *cloning* dalam pembentukan kembar identik pada saat ini tidak hanya terbatas pada hewan laboratorium, tetapi juga telah berhasil pada ternak peliharaan. Kembar buatan identik telah berhasil dilakukan dengan pembelahan embrio (*splitting embrio*). Pembelahan embrio ini dilakukan dengan menggunakan suatu pisau pembelah mikroskopis untuk menembus *zona pelucida* (selaput pelindung embrio). Embrio yang berumur 7 hari dibelah menjadi dua bagian yang terdiri atas kira-kira 64 sel. Separuh dari hasil belahan itu kemudian dibungkus kembali dengan pembungkus alam yang terpisah (suatu *zona pelucida* dari embrio yang kurang baik atau yang tidak dibuahi).

Pembungkus yang kuat namun lentur (*zona pelucida*) yang menyelimuti bola sel, memungkinkan penempatan embrio di dalam uterus induk lain untuk dititipkan selama jangka waktu bunting. Dengan cara ini telah dihasilkan kembar identik pada sapi, kembar lima identik pada domba dan kembar identik pada kuda. Embrio yang telah dibelah dapat dibekukan dan bila dialihkan/ ditransfer pada waktu yang berbeda akan menghasilkan kembar identik yang berbeda umurnya. Dengan pembelahan embrio ini, maka nilai teknologi transfer embrio semakin besar dalam program perbaikan mutu ternak dan memungkinkan untuk memperoleh hewan percobaan yang identik.

*Cloning Pada Sel Tubuh (Somatic) Cloning* sebelumnya dihasilkan dari sel-sel yang diambil dari jaringan embrio dan janin. Pada Februari tahun 1997 telah lahir domba hasil *cloning* yang dilakukan oleh tim ilmuwan Roslin Institute di Scotlandia, domba ini diberi nama Dolly. Dolly tidak diproduksi secara normal (*perkawinan antara domba betina dan domba jantan*).

Dolly diciptakan dari satu sel yang berasal dari bukan organ reproduksi, akan tetapi berasal dari jaringan ambing (kelenjar *mammae*) domba betina yang berumur enam tahun. Teknologi ini menunjukkan bahwa sel dewasa yang telah berkembang menjadi sel yang telah mempunyai fungsi khusus seperti sel jaringan ambing (*mammae*) dapat dikembalikan ke bentuk semula dan sel tersebut tumbuh menjadi organisme.

Dolly dihasilkan dari sel yang diambil dari ambing domba betina *Finn Dorset*, yang kemudian dibiarkan tumbuh dan menggandakan diri di laboratorium. Sejumlah kecil dari sel itu digabungkan dengan telur yang telah dibuahi yang intinya telah diambil. Sel telur yang

telah direkonstruksi ini masing-masing dengan inti dari domba betina asal (*Finn Dorset*), lalu ditanamkan ke dalam induk titipan domba betina *Scotish Blackface*. Salah satunya melahirkan seekor domba hidup yang kemudian diberi nama Dolly, sekitar 148 hari kemudian. Domba Dolly yang lahir ini mirip/ identik dengan induknya *Finn Dorset*.

Teknologi *cloning* ini masih jauh dari sempurna. Dolly adalah anak domba yang satu-satunya lahir dari 227 *oosit* yang digabung dengan sel ambing. Untuk tujuan tertentu, kloning harus dapat diulang-ulang agar lebih ekonomis. Bila *cloning* ini dapat diulang-ulang, dua kesempatan baru yang benar-benar tersedia. *Pertama*, dengan *cloning* dapat diperoleh sejumlah besar keturunan yang secara genetik sama yang diperoleh dari sel-sel hewan dewasa yang mempunyai sifat unggul. Hal ini memungkinkan memproduksi sekelompok ternak dengan penampilan sama. *Cloning* ternak sangat berguna dalam penelitian terutama untuk mengeliminir variasi factor genetik. *Kedua*, dengan *cloning* sementara sel masih dikultur, sangat memungkinkan untuk merubah/ menambah genetik yang dikehendaki (mis, tahan terhadap penyakit) sebelum sel digunakan untuk produksi *clon*. Dengan teknologi *cloning*, bila *clon* itu sempurna, ia kemudian akan bereproduksi dalam jumlah besar secara cepat dan murah dengan jaminan kualitas yang tidak berubah (Tappa, 1998b).

Satu hal yang berbahaya yang dapat terlihat bila teknologi *cloning* berkembang dan diadopsi pada skala besar, yaitu resiko bila sekelompok *cloning* tersebut mudah terkena infeksi oleh penyakit yang sama atau masalah yang lain. Keragaman merupakan suatu elemen yang diperlukan oleh alam, oleh sebab itu *cloning* tampaknya hanya akan digunakan untuk tujuan terbatas dalam hal pemuliaan untuk meningkatkan mutu genetic ternak.

Kloning hewan pertama menggunakan sel somatis domba betina Finn Dorset dilaporkan di Skotlandia dan dinamakan Dolly (Wilmut *et al*, 1997). Sampai saat ini cloning telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies hewan, memperlihatkan minat yang besar dalam memproduksi (mengklon) genotipe spesifik (Baguisi *et al*, 1999; Campbell *et al*, 1996; Stice *et al*, 1998; Wells *et al*, 1999). Efisiensi kloning sangat bervariasi pada semua spesies yang berhasil dikloning. Pada sapi misalnya, angka kebuntingan berkisar 0-86%, angka kelahiran 0-28%, dan harapan hidup anak berkisar 0-100% (Faber *et al*, 2003). Variasi ditimbulkan bukan hanya oleh genotipe tetapi juga oleh sel donor inti yang digunakan, perlakuan sel donor sebelum transfer inti, dan sumber sel telur yang jadi resipien. Pemanfaatan teknologi kloning dalam industri masih menjadi perdebatan. Secara umum, aplikasi komersial kloning tergantung pada tiga faktor yaitu faktor ekonomi (perbandingan biaya dengan pendapatan), faktor norma-norma sosial (kesejahteraan ternak, kepedulian

terhadap lingkungan, dan penerimaan konsumen), dan factor perundanganundangan (kesehatan hewan dan keamanan pangan). Dari ketiga faktor tersebut, factor ekonomi tampaknya menjadi penggerak utama dalam komersialisasi kloning.

Variasi ekstrim dan inefisiensi relatif kloning yang telah dilakukan oleh banyak kelompok peneliti, aplikasi utama kloning adalah untuk keperluan biomedis dan pengembangbiakan ternak elite. Secara teknis, kloning menjadi satu-satunya pilihan dalam hal menyelamatkan genetik yang hilang dari hewan yang mati secara prematur atau menjadi steril karena penyakit dan kecelakaan. Dengan metode terbaru kloning mamalia, muncul kepedulian mengenai berbagai isu diantaranya pewarisan sifat mitokondria dan modifikasi epigenetik yang tidak diharapkan yang disebabkan oleh prosedur kloning (Humpherys *et al*, 2001; Meireles *et al*, 2001). Tentu saja, betina klon akan mempunyai perubahan permanen dalam pewarisan sifat mitokondria. Walaupun demikian, perubahan epigenetik tidak akan diturunkan pada generasi berikutnya (Tamashiro *et al*, 2002). Belum diketahui bagaimana masalah tersebut akan mempengaruhi aplikasi komersial kloning secara luas.

Dalam perkembangannya kloning dikombinasi dengan teknik transgenesis untuk memproduksi hewan transgenik. Pemanfaatan teknologi transgenik memungkinkan diperolehnya ternak dengan karakteristik unggul yang diinginkan (Pinkert, 1994; Prather *et al*, 2003). Aplikasi komersial hewan klon-transgenik nantinya akan diproduksi dengan penyisipan gen pada lokasi yang spesifik dalam genom. Teknik ini telah terbukti berhasil pada mencit dan intensif diteliti pada hewan-hewan besar. Dalam skala riset, telah diproduksi domba klon-transgenik pertama yang diberi nama Poly (Roslin Institute, Scotlandia), mengandung gen yang menyandi protein susu manusia sehingga potensi komersialnya tinggi. Gen-gen lain yang bernilai komersial untuk industri pangan dan biomedis terus diuji coba untuk produksi ternak trasgenik (Tabel 2).

Tabel 2. Contoh –contoh locyt-locyt gen dan aplikasi pada ternak

Spesies	Gen	Aplikasi
Babi	$\alpha$ -1,3-galactosyl transferase	Mencegah rejeksi hiperakut dalam xenotransplantasi
Babi, sapi	Fas, Fas-L	Menekan rejeksi yang dimediasi sel pada xenotransplantasi
Sapi	Serum albumin	Produksi serum albumin manusia dalam susu
Sapi	Milk casein	Meningkatkan produksi protein dan formula susu bayi
Semua	SRY dan penentu sex lainnya	Produksi daging dan susu yang lebih efisien
Semua	Growth/differentiation factor 8	Produksi daging yang lebih efisien

#### 4.2. Kloning dalam Industri Pembibitan Sapi

Contoh Kloning sapi sangat menjanjikan untuk diaplikasikan dengan skala luas. Hal ini didasarkan fakta bahwa embrio klon dapat diproduksi dengan efisien dan angka kebuntingan hasil kloning juga relatif tinggi. Pemeliharaan kebutuhan dan harapan hidup anak yang rendah menjadi kendala utama untuk menyebarluaskan aplikasi teknologi ini pada sapi. Permintaan pasar untuk sapi kloning adalah sapi yang mempunyai nilai genetik dan nilai jual yang tinggi diantaranya sapi pejantan yang mempunyai nilai jual semen potensial yang tinggi dan induk betina yang menghasilkan pendapatan signifikan dari produksi embrio. Kloning sel somatik dalam usaha pembibitan komersial dapat menjamin kualitas produk, keseragaman, dan konsistensi. Untuk mewujudkan hal ini dibutuhkan efisiensi yang lebih tinggi dan biaya yang lebih rendah pada proses produksi kloning.

Sebagian upaya kloning difokuskan pada ternak sapi transgenik dengan memanfaatkan genotip-genotip yang sudah diketahui melalui modifikasi genetik (Brink *et al*, 2000; Murray, 1999). Genotipe superior dapat diperbanyak menggunakan teknik kloning dan digabungkan dengan transgenesis untuk mengintroduksi sifat-sifat yang terkait karakteristik sekunder seperti resistensi terhadap penyakit dan fertilitas. Sifat-sifat ini belum dipertimbangkan dalam skema seleksi konvensional tetapi sekarang mendapat perhatian lebih intens, salah satu alasannya adalah untuk kesejahteraan ternak yang telah berkembang menjadi isu penting dalam segala aspek pemanfaatan hewan untuk keperluan manusia. Hambatan utama teknologi ini adalah tingginya angka kehilangan embrio (rata-rata 5% embrio klon yang berkembang sampai lahir) (Faber *et al*, 2003).

### 4.3. Kloning Komersial pada Kuda

Saat ini kloning kuda sedang dalam tahap pengembangan. Beberapa laboratorium riset akademik dan perusahaan komersial secara aktif meneliti pemanfaatan teknologi transfer inti untuk memproduksi kloning kuda (Li *et al*, 2002). Teknologi pendukung kloning seperti PEIV pada kuda mampu menghasilkan embrio kuda yang kompeten untuk tumbuh. Meskipun fertilisasi *in vitro* sulit dilakukan pada kuda, tetapi dapat diatasi dengan teknik *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) yang telah memfasilitasi lahirnya anak (Choi *et al*, 2002). Teknik-teknik dasar kloning kuda untuk produksi telah banyak dicoba dan berhasil memproduksi kuda kloning walaupun efisiensinya masih rendah (Long *et al*, 2003). Peluang komersialisasi kloning kuda terbuka dengan banyaknya penelitian intensif yang diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan produksi kloning sampai taraf efisien.

Pemasaran produk dan jasa kloning kuda tidak akan ditujukan pada peternak dan pemilik kuda pada umumnya. Kloning adalah metode reproduksi yang relatif mahal yang tampaknya hanya akan dimanfaatkan peternak kuda yang progresif yang memiliki kuda bernilai genetik tinggi dan terdaftar di asosiasi yang diakui. Di negara yang peternakan kudanya sudah maju seperti Amerika Serikat, pasar untuk kuda yang bernilai genetik tinggi terbuka lebar. Sebagai contoh, 1% kuda milik anggota NCHA (*National Cutting Horse Association*) secara rutin dijual dengan nilai lebih dari 100.000 US\$ setiap ekornya. Anggota asosiasi ini cepat mengadopsi teknologi reproduksi yang dapat meningkatkan keuntungan genetik program pemuliabiakan mereka dan peluang genetik yang maksimum untuk sifat-sifat yang diinginkan.

Proyek sekuensing genom kuda yang masih berjalan, berpotensi merevolusi pemuliabiakan kuda. Jika gen-gen yang mengkode sifat tertentu teridentifikasi dan hubungan dengan gen-gen lain diketahui, maka peternak dapat merencanakan perkawinan kuda secara spesifik, menghindari sifat-sifat yang merusak ketika menyeleksi sifat-sifat yang menguntungkan. Penyisihan sifat-sifat yang merusak sangat bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan kuda dengan menyelidiki kuda donor atas penyakit-penyakit yang dapat diturunkan. Kloning dikombinasi dengan modifikasi genetik memungkinkan penyingkiran secara permanen gen-gen yang merusak dari genom kuda. Teknologi yang sama juga dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja sifat-sifat tertentu dengan memasukan atau memodifikasi gen-gen yang mengkode tulang yang lebih kuat atau otot yang lebih besar.

Aplikasi kloning dan modifikasi gen dalam industri peternakan kuda harus mempertimbangkan kebutuhan dan penerimaan para pelaku industri. Banyak peternak

bersikap skeptis terhadap teknologi ini dan cenderung bertahan dengan teknologi reproduksi konvensional yang menurut mereka lebih aman dan alami. Sebagian diantaranya juga khawatir bahwa kloning menyebabkan produksi masal sejumlah kecil genotipe dan meningkatkan koefisien inbreeding dalam satu bangsa kuda. Walaupun demikian, studi kasus di Amerika Serikat menunjukkan bahwa jumlah peternak yang mengadopsi teknologi reproduksi (termasuk kloning) cenderung meningkat (Long *et al*, 2003). Para peternak tersebut berusaha memaksimalkan investasi mereka dan mempercepat peningkatan mutu genetik ternak yang mereka miliki.

#### **4.4. Pembentukan Ternak Chimera**

Ternak *chimera* dibentuk dengan cara meramu *blastomer* berbagai jenis ternak. Sel-sel dari beberapa embrio dapat digabungkan dalam suatu *zona pelucida* untuk menghasilkan seekor hewan yang merupakan kombinasi dari beberapa hewan yang telah digabung. Misalnya anak sapi *chimera* dihasilkan dengan menggabungkan *blastomer* dari *Bos taurus* (sapi Eropah) dan *Bos indicus* (sapi India), kemudian dialihkan ke resipien untuk dikandung sampai lahir. Demikian pula antara domba dan kambing, dengan prosedur yang sama telah dilahirkan turunan berbadan domba berwajah kambing. Komposisi tubuh maupun fenotipe ternak *chimera* ditentukan oleh jumlah *blastomer* dari masing-masing jenis yang telah diramu.

Proses ini masih terus dalam proses penelitian, memerlukan biaya yang mahal, dan memakan waktu yang panjang. Prosedurnya juga jauh lebih sulit dari pembelahan embrio, karena pada dasarnya melibatkan teknik bedah mikroskopis. Dua embrio atau lebih diambil pada tahapan awal perkembangannya, *zona pelucidanya* dilepaskan, lalu dua embrio atau lebih itu diletakkan bersama-sama dan terjadilah percampuran material genetik di dalam satu *zona pelucida* yang sama. *Chimera* ini kemudian dipindahkan ke dalam induk resipiennya.

Demikianlah perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) di bidang reproduksi ternak tersebut yang dapat diaplikasikan pada subsektor peternakan untuk meningkatkan populasi, produksi dan produktivitas ternak baik secara kualitas maupun kuantitas. Namun, yang menjadi kendala dalam pemanfaatan dan aplikasi teknologi tersebut terutama di negara-negara berkembang seperti di Indonesia adalah keterbatasan dalam hal peralatan dan dana serta tenaga ahli yang terampil.

Khusus di Indonesia, aplikasi kemajuan mutakhir di bidang teknologi reproduksi ternak itu, yang banyak dilaksanakan ke petani peternak baru sampai pada tahap penggunaan



inseminasi buatan (IB) dan transfer embrio (TE). Sedangkan tahap-tahap selanjutnya seperti *processing* semen, fertilisasi *in vitro*, dan teknologi rekayasa genetic lainnya masih dalam tahap pengembangan oleh Balai-balai dan Lembaga-lembaga penelitian.

## SIMPULAN

Perkembangan IPTEK di bidang reproduksi ternak dapat diaplikasikan di subsektor peternakan untuk meningkatkan populasi, produksi dan produktivitas ternak baik secara kualitas maupun kuantitas, antara lain teknologi inseminasi buatan (IB), transfer embrio (TE), processing semen (pemisahan permatozoa X dan Y), fertilisasi *in vitro*, teknologi *criopreservasi* gamet (spermatozoa dan ova), pembentukan ternak transgenik, *cloning* dan *chimera*.

Pemanfaatan teknologi reproduksi ternak tersebut memerlukan dukungan peralatan yang memadai dan dana yang cukup serta tenaga ahli yang terampil, sehingga menjadi kendala negara-negara berkembang seperti Indonesia. Aplikasi kemajuan mutakhir di bidang biologi reproduksi yang banyak dilaksanakan oleh petani peternak di Indonesia baru sampai pada tahap inseminasi buatan (IB) dan transfer embrio (TE).

## DAFTAR PUSTAKA

- Baguisi A, Behboodi E, Melican DT, Pollock JS, Destrempe MM, dan Cammuso T. 1999. Production of goat by somatic cell nuclear transfer. *Nat. Biotechnol.*, 17: 456-461.
- Blondin P, Bousquet D, Twagiramungu H, Barnes F, dan Sirard MA. 2002. Manipulation of follicular development to produce developmentally competent bovine oocytes. *Biol. Reprod.*, 66: 38-43.
- Bousquet D, Twagiramungu H, Morin N, Brisson C, Carboneau G, dan Durocher J. 1999. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, 51: 59-70.
- Brink MF, Bishop MD, dan Pieper FR. 2000. Developing strategies for the generation of transgenic cattle which produce biopharmaceutical in milk. *Theriogenology*, 53:139- 148.
- Callensen H, Greeve T, dan Christensen F. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 27:217.
- Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, dan Wilmut I. 1996. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 380: 64-66.
- Choi YH, Love CC, Love LB, Varner DD, dan Ingram LA. 2002. Developmental competence in vivo and in vitro-matured equine oocytes fertilized by intracytoplasmic sperm injection with fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reproduction*, 123:455-465.
- Eikermann E., Frank KU, Schindler L, dan Nieman H. 2000. Repeated ultrasound-guided follicular aspiration in pregnant heifers and cows. *Theriogenology*, 53:351.
- Faber DC, Molina JA, Ohlrichs CL, Zwaag DFV, dan Ferre LB. 2003. Commercialization of animal biotechnology. *Theriogenology* 59: 125-138.
- Ferre LB, Dalla Lasta M, Medina M, dan Brogliati G. 2002. In vitro embryo production and pregnancy rates from problem pregnant and cyclic cows by transvaginal ovum pick-up. *Theriogenology*, 57: 664.
- Gordon I. 1996. Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes. CABI, Wallington, Oxon.
- Hohenboken WD. 1999. Application of sexed semen in cattle production. *Theriogenology*, 52:1421-1433.
- Johnson LA dan Welch GR. 1999. Sex preselection: high speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*, 52:1323-1341.
- Li X, Morris LH, Allen WR. 2002. In vitro development of horse oocytes reconstructed with nuclei of fetal and adult cells. *Biol. Reprod.*, 66: 1288-1292.
- Long CR, Walker SC, Tang RT, dan Westhusin ME. 2003. New commercial opportunities for advanced reproductive technologies in horses, wildlife, and companion animals. *Theriogenology* 59: 139-149.

- Lu KH, Suh TK, dan Seidel Jr GE. 2001. In vitro fertilization of bovine oocytes with flowcytometrically sorted and unsorted sperm from different bulls. *Theriogenology*, 55:431.
- Murray JD. 1999. Genetic modification of animals in the next century. *Theriogenology* 51:149.
- Pinkert, C.A. 1994. *Transgenic Animal Technology*. CABI, Oxford, UK.
- Prather, R.S., R.J. Hanley, O.B. Center, L. Lai, and L. Greenstein. Transgenic swine for biomedicine and agriculture. *Theriogenology*, 59 : 115-122.
- Reis A, Staines ME, Watt RG, Dolman DF, dan McEvoy TG. 2002. Embryo production using defined oocyte maturation and zygote culture media following repeated opum pick-up (OPU) from FSH-stimulated Simmental heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 72: 137- 151.
- Seidel Jr GE. 1999. Sexing mammalian spermatozoa and embryos – state of art. *J. Reprod. Fertil.*, 54: 477-487.
- Smeaton DC, Harris BL, Xu ZZ, dan Vivanco WH. 2003. Factors affecting commercial application of embryo technologies in New Zealand: a modelling approach. *Theriogenology*, 59: 617-634.
- Stice SL, Robl JM, Ponce de Leon FA, Jerry J, Golueke PF, dan Cibelli JB. 1998. Cloning: new breakthroughs leading to commercial opportunities. *Theriogenology*, 49: 129-138.
- Wells DN, Misica PM, dan Tervit HR. 1999. Production of cloned calves following nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 60: 996-1000.
- Wilmut I. Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, dan Campbell KHS. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385:810-813.