Kajian Morfologi Spermatozoa Sapi Simmental di Beberapa Balai Inseminasi Buatan di Indonesia

Study of Simmental Bull Sperm Morphology at Several Artificial Insemination Centre in Indonesia

M. Riyadhi[1)*], R. I. Arifiantini[2)], dan B. Purwantara[2)]

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat[1)],
Jl. A. Yani Km 36 Banjarbaru 70714 Kalimantan Selatan. Telp/Faks 0511-4772254,
Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan
Institut Pertanian Bogor[2)], Darmaga, Bogor 16680
Telp/Faks 0251-8629461/ 0251-8629459.
*Korespondensi: E-mail: mryadhie@yahoo.com

Abstract

Morphological abnormality of sperm in semen of males have been associated with sub fertility and sterility for many years. This study to evaluated spermatozoa morphology especially primary abnormality of Simmental bull spermatozoa at several Artificial Insemination centre in Indonesia. One ejaculates were examined from each bull. Total of 70 bulls were tested in this study. One drop of semen was placed on each of 3-4 glass slides, and smears were prepared and air-dried. The spermatozoa were stained with carbolfluchsin-eosin (Williams stained). The types of morphological abnormalities were counted from 500 cells. Result demonstrated that from 70 bulls samples, 48 bulls (68.6%) were indicated low sperm abnormality (<5%) and the high-very high percentage of primer sperm abnormality (>10%) were found in 6 bulls (8.57%). The highest type of abnormality found in all samples was pearshape (2.81±0.36%) and the lowest were macrocephalus and double head (0.01±0.01%).

Keywords : Sperm abnormality, Simmental, artificial insemination centre

Pendahuluan

Balai Inseminasi Buatan (BIB) adalah suatu balai yang bertugas untuk menyediakan bibit sapi jantan, khususnya semen beku untuk memenuhi kebutuhan dinas-dinas Peternakan di Seluruh Indonesia. Menurut Direktorat Perbibitan, Direktorat Jenderal (Dirjen) Peternakan saat ini yang resmi tercatat ada 2 BIB berskala nasional dan 15 BIBD berskala lokal. Di Kabupaten Blora ada satu laboratorium IB yang memproduksi semen beku, akan tetapi belum secara resmi tercatat pada Direktorat Perbibitan Dirjen Peternakan.

Pada masing-masing BIB tersebut diproduksi semen beku dari berbagai jenis diantaranya sapi potong jenis Simmental. Sapi Simmental merupakan salah satu jenis sapi potong yang disukai oleh peternak di Indonesia. Kelebihan sapi Simmental antara lain, memiliki pertumbuhan yang cepat dengan pertambahan berat badan 0,9-1,2 kg per hari, sehingga berat badan sapi jantan yang berumur 2 tahun dapat mencapai 800-900 kg. Berat badan sapi jantan dewasa rata-rata 1.000-1.200 kg sedangkan sapi betina mempunyai berat rata-rata 700-800 kg (Balai Inseminasi Buatan Lembang 2009). Kelebihan lain sapi ini adalah bersifat *dual purpose* (penghasil daging dan susu), persentase karkas yang tinggi dan sedikit lemak, serta dapat berkembang biak dengan baik hampir di seluruh daerah di Indonesia. Tingginya animo peternak untuk sapi Simmental ini ditanggapi dengan baik oleh BIB/BIBD, terbukti dengan ketersediaan sapi-sapi pejantan ini di hampir semua Balai. Untuk memperoleh bibit pejantan Simmental yang unggul harus dilakukan proses

seleksi agar semen beku yang diproduksi dan diedarkan mempunyai kualitas yang baik.

Untuk mengetahui potensi seekor sapi jantan, telah dikembangkan suatu metode yang disebut *breeding soundness evaluation* (BSE). Di luar negeri BSE telah dilakukan pada berbagai ternak diantaranya pada domba (Bagley 2009), Babi (Shipley 1999), dan kuda (Griffin 2000). Pada sapi, BSE telah dilakukan pada pejantan sapi potong dan perah (Spitzer 2000) dan di berbagai negara diantaranya di Australia utara (Fitzpatrick *et al.* 2002), di Belgia dan Belanda (Hoflack *et al.* 2006), di pulau Virgin, US (Godfrey dan Dobson 2005).

Menurut Alexander (2008) BSE atau disebut juga BBSE (*bull breeding soundness evaluation*) mudah dilakukan dan relative tidak mahal dan sangat berguna untuk peternakan. Saat ini *Society for Theriogenology* (SFT) menggunakan standar BBSE yang diadopsi pada tahun 1993, dimana seekor pejantan harus memenuhi minimum standar 4 katagori yaitu organ reproduksi umum, index lingkar skrotum (*scrotal circumference indexed*) sesuai umurnya, motilitas spermatozoa, dan morfologi spermatozoa.

Di BIB/BIBD di Indonesia penerapan BSE yang meliputi pengukuran lingkar skrotum dan pemeriksaan kesehatan telah dilakukan dengan baik, akan tetapi analisis semen yang dilakukan masih sebatas pemeriksaan konsentrasi dan motilitas (pergerakan sperma), sedangkan morfologi (normalitas dan abnormalitas) spermatozoa masih belum dilakukan.

Di luar negeri kajian morfologi (abnormalitas) spermatozoa telah banyak dilaporkan (Barth dan Oko 1989; Ax *et al.* 2000), yakni pada pejantan sapi potong dan perah (Soderquist *et al.* 1996; Sarder 2004; Rocha *et al.* 2006, Makhzoomi *et al.* 2007, Freneau *et al.* 2009), kuda (Morrell *et al.* 2008), rodensia (*dasyprocta leprorina*) (Mollineau *et al.* 2008), ruminansia kecil (*capricornis sumatraensis*) (Suwanpugdee *et al.* 2009), anjing (Freshman 2002), dan *sterlet* (golongan ikan) (Psenicka *et al.* 2009). Di negara-negara maju seperti Amerika, Swedia dan Belanda, pengamatan morfologi merupakan salah satu faktor penghitungan pengenceran semen untuk tujuan pembuatan semen cair dan semen beku (Arifiantini *et al.* 2006). Hal ini dikarenakan, abnormalitas spermatozoa mempunyai hubungan dengan kemampuan membuahi sel telur dari betina. Menurut Ax *et al.* (2000) bahwa tingginya abnormalitas spermatozoa yang melebihi 20% dapat menurunkan fertilitas.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi tingkat abnormalitas primer spermatozoa pada sapi Simmental yang terdapat di beberapa balai inseminasi buatan (BIB) di Indonesia.

Bahan dan Metode

Sampel penelitian dikoleksi dari sapi Simmental yang ada di 14 BIB/BIBD di Indonesia. Sampel dikirim menggunakan angkutan udara. Pewarnaan dan pengamatan terhadap sampel dilakukan di Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Pengambilan, pewarnaan dan pengamatan sampel dimulai pada bulan Juli sampai Oktober 2009.

Pengambilan sampel preparat ulas semen segar dilakukan oleh teknisi di masing-masing BIB, dan selanjutnya sampel dikirimkan kepada peneliti. Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan protokol yang diberikan, dengan cara meletakan setetes semen diatas objek gelas pertama. Selanjutnya empat tetes NaCl fisiologis diteteskan diatas objek gelas dan dihomogenkan dengan menggunakan stik. Dengan menggunakan objek gelas kedua, sudut-sudut objek gelas tersebut ditempelkan pada campuran semen-NaCl dan ditempatkan pada permukaan objek gelas ketiga dan dibuat usapan (*smear*) tipis. Usapan yang telah terbentuk selanjutnya dikering udarakan, diberi kode pejantan dan ditempatkan pada kotak objek gelas.

Sampel yang telah dikirimkan selanjutnya diwarnai dengan *carbolfluchsin-eosin* berdasarkan metode Williams yang dikembangkan pada tahun 1920 dan dimodifikasi oleh Lagerlof tahun 1934 (Kavak *et al.* 2004). Protokol pewarnaan Williams dilakukan sebagai berikut: preparat sampel ulas semen segar yang dikirim dari BIB/BIBD

difiksasi menggunakan bunsen, dicuci dengan alkohol absolut selama 4 menit, selanjutnya dikering udarakan. Setelah itu preparat dimasukkan ke dalam larutan chloramin 0,5% selama 2 menit, sampai mukus (lendir) hilang dan ulasan terlihat jernih. Berikutnya preparat dicuci dengan *distilled water*, alkohol 95% dan diwarnai dengan larutan Williams selama 8-10 menit. Tahap akhir preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.

Morfologi spermatozoa diamati dengan cara melihat kelainan bentuk kepala spermatozoa dan menghitung jumlah spermatozoa sebanyak 500 sel dengan pembesaran 400x. Selanjutnya semua jenis abnormalitas spermatozoa yang ditemukan dicatat dan diklasifikasikan. Pengklasfikasian jenis abnormalitas spermatozoa primer dilakukan berdasarkan temuan yang didapat pada waktu pengamatan.

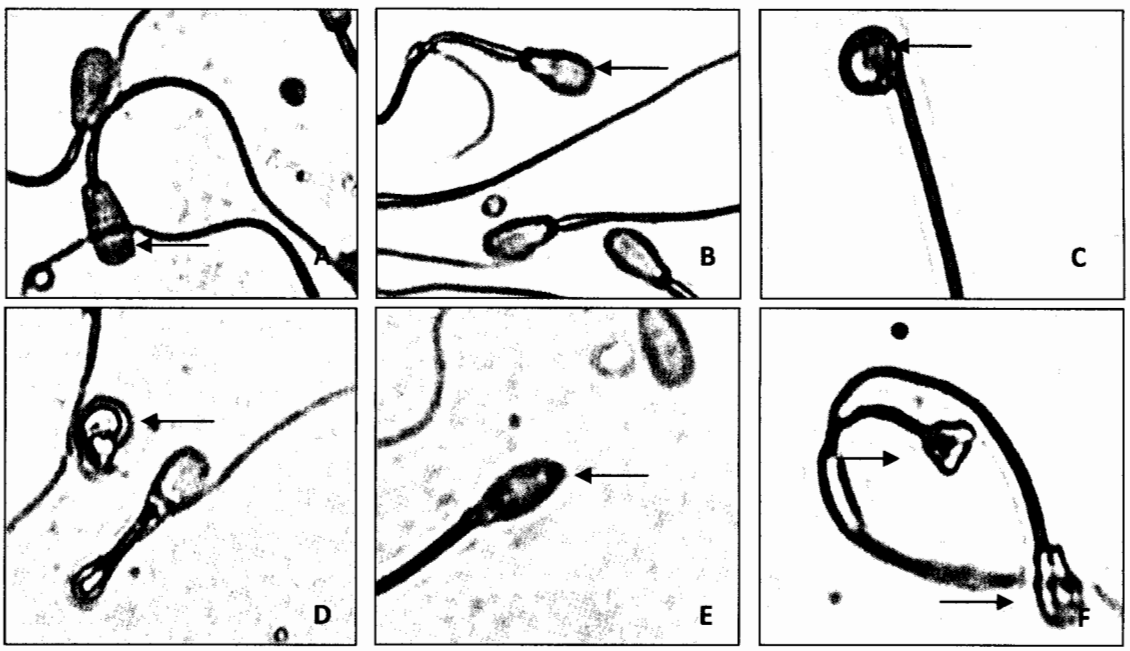
Analisis Data

Data abnormalitas diolah menggunakan analisis sidik ragam dengan *software* Minitab versi 14.0. Data disajikan dalam bentuk rataan dan simpangan baku.

Hasil dan Pembahasan

Dari 14 BIB/BIBD yang disampling ternyata hanya ada 11 (78,57%) Balai yang memiliki jenis Simmental dengan jumlah total 70 sampel (70 ekor sapi). Secara umum tanpa melihat faktor individu, tingkat abnormalitas spermatozoa primer pada seluruh sapi Simmental pada penelitian ini cukup baik dengan nilai rataan 4,58±0,75%.

Dari hasil pengamatan yang dilakukan, ditemukan berbagai kelainan spermatozoa primer yaitu *pearshaped, narrow at the base, narrow (tapered head), abnormal contour, underdeveloped, round head, variable size (macrocephalus/microcephalus), double head, abaxial, knobbed acrosome defect, detached head,* dan *diadem* (Gambar 1).



Gambar 1. Beberapa kelainan spermatozoa primer pada sapi Simmental. A. Normal, B. *Pearshape*, C. *Round underdevelope*, D.*Under develop*, E. *Narrow* dan F. *Abnormal contour* dan *pearshape*.

Jenis abnormalitas spermatozoa tertinggi adalah *pearshaped* atau *pyriform* sebesar 2,81±0,36%, bentuk kepala menyerupai buah pear di mana daerah akrosom (anterior) tampak penuh berisi kromatin atau membesar, sedangkan *postacrosome* sempit sedikit memanjang dengan batas yang jelas antara daerah anterior dan posterior (Gambar 1b). *Variable size* merupakan istilah bentuk spermatozoa yang ukurannya berbeda dengan spermatozoa pada

umumnya,bisa berukuran lebih besar (*macrocephalus*) atau lebih kecil (*microcephalus*). Pada penelitian ini kejadian *macrocephalus* (0,01±0,01%) lebih sedikit dibandingkan dengan *microcephalus* (0,16±0,04%). Abnormalitas ini terjadi akibat defisiensi atau kelebihan kromatin inti yang mengarah pada kehilangan atau kelebihan pembentukan kromosom inti. Barth dan Oko (1989) menyatakan bahwa kejadian *microcephalus* pada sapi kurang dari 1%, dan kejadian *macrocephalus* dan *pearshape* erat hubungannya dengan genetik.

Double head, merupakan kelainan bentuk kepala spermatozoa, dimana terdapat dua kepala dengan satu ekor. Kedua kepala tersebut dapat berukuran sama, atau berbeda dari ukuran normalnya. Pada penelitian ini *double head* ditemukan sangat kecil hanya sebesar 0,01±0,01%. Barth dan Oko (1989) menyatakan penyebab utama adalah kelainan genetik pada sel-sel primordial dan kesalahan proses spermiogenesis (Tabel 1).

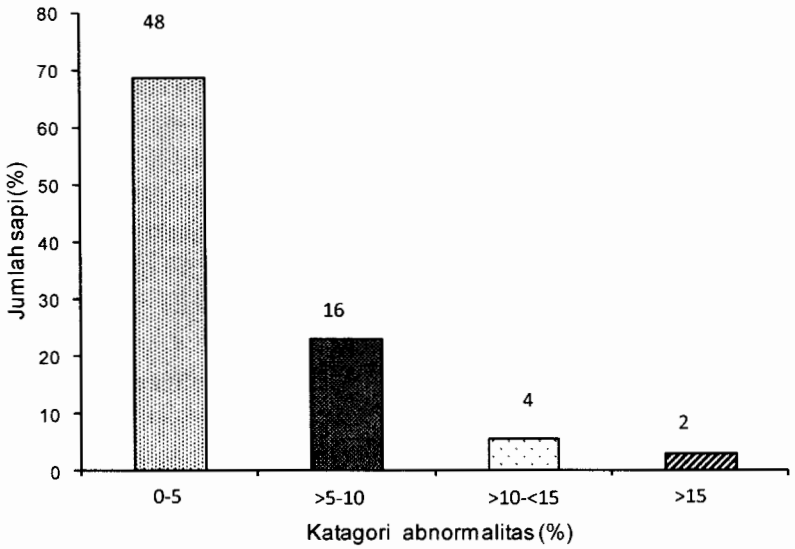
Tabel 1. Sebaran Jenis abnormalitas pada sapi Simmental

Jenis abnormalitas	Rataan (%)± SD
Pear shape	2,81±0,36[a]
Narrow at the base	0,51±0,10[b]
Narrow	0,20±0,03[c]
Abnormal contour	0,17±0,02[c]
Under developed	0,17±0,05[c]
Round head	0,07±0,03[c]
Macrocephalus	0,01±0,01[c]
Microcephalus	0,16±0,04[bc]
Double head	0,01±0,01[c]
Abaxial	0,11±0,03[c]
Knobbed acrosome defect	0,13±0,04[c]
Detached head	0,02±0,01[c]
Diadem	0,21±0,04[c]
Total	4,58±0,75

Nilai dinyatakan sebagai *mean*±SEM (%); Huruf berbeda yang mengikuti angka menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Chenoweth (2005), membagi abnormalitas spermatozoa ke dalam dua katagori yaitu, abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer adalah yang terjadi pada saat spermatogenesis (secara umum merupakan kelainan pada bagian kepala) dan abnormalitas sekunder terjadi setelah proses spermiasi (kelainan yang secara umum terjadi pada ekor spermatozoa).

Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk semen sapi yang boleh diproses dan diedarkan harus memiliki morfologi abnormalitas spermatozoa <20% (baik primer maupun sekunder). Karena fokus penelitian ini adalah abnormalitas spermatozoa primer, maka diharapkan proporsi antara abnormalitas primer satu berbanding dan berbanding satu dengan abnormalitas sekunder, dengan demikian diharapkan jumlah abnormalitas primer tidak melebihi 10%. Hal ini berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Makhzoomi *et al.* (2007) bahwa tingkat abnormalitas primer spermatozoa >10% dapat berpengaruh terhadap fertilitas. Berdasarkan hal tersebut kami mengelompokkan tingkat abnormalitas primer spermatozoa ke dalam empat katagori, yaitu tingkat rendah (<5%), sedang (>5-10%), tinggi (>10-<15%) dan sangat tinggi (>15%). Dari 70 ekor sampel sapi Simmental, ternyata 48 ekor (68,6%) termasuk pada katagori rendah, 16 ekor (22,9%) katagori sedang, 4 ekor (5,71%) katagori tinggi 4 ekor (7,81%) dan 2 ekor (2,86%) masuk ke katagori sangat tinggi (Gambar 2).



Gambar 2. Tingkat abnormalitas spermatozoa sapi Simmental pada beberapa BIB/BIBD di Indonesia

Secara umum tingkat abnormalitas primer sapi-sapi pejantan di BIB/BIBD <10%, walaupun kondisi alam dan manajemen setiap balai berbeda. Kami mencoba melihat tingkat abnormalitas spermatozoa dihubungkan dengan balai asal sapi tersebut. Ternyata memang ada perbedaan tingkat abnormalitas spermatozoa dari BIBD tersebut. Dimana spermatozoa dari pejantan BIBD F dan G (Gambar 3) cenderung mempunyai tingkat abnormalitas spermatozoa primer lebih tinggi dibandingkan dari balai lainnya, tetapi karena jumlah sampel hanya 1 dan 2 ekor, maka nilai ini tidak bisa mewakili populasi sapi Simmental di BIB/BIBD tersebut karena kemungkinan pengaruh individu sangat besar.

Meskipun demikian, secara individu peneliti menemukan empat (4) ekor sapi pejantan dengan tingkat abnormalitas spermatozoa primer yang tinggi (>10%). Sementara tingginya nilai abnormalitas yang ditemukan pada BIB F (1 ekor) dengan jumlah abnormalitas primer 13,4% dan BIB G (1 ekor) dengan jumlah abnormalitas primer 23,60% harus menjadi perhatian yang serius, serta perlu dipertimbangkan kembali untuk memproduksi semen yang berasal dari individu tersebut karena menurut Chenoweth (2005), beberapa jenis abnormalitas primer juga bersifat genetik. Hal ini perlu dilakukan sebagai upaya mencegah penurunan kualitas ternak dan penyebaran bibit yang kurang berkualitas, karena jika ditambah dengan abnormalitas sekunder maka tingkat abnormalitasnya bisa lebih dari 30%.

Menurut Barth dan Oko (1989), total abnormalitas spermatozoa akan dianggap serius apabila mencapai 18-20%, karena dapat menyebabkan penurunan fertilitas. Balls dan Peters (2004) memperkuat pernyataan tersebut, dimana seekor pejantan tidak akan memiliki fertilitas yang tinggi apabila ditemukan >17% spermatozoa abnormal. Demikian juga dengan Ax *et al.* (2000) menyatakan, abnormalitas spermatozoa yang melebihi 20% akan dapat menurunkan fertilitas, sedangkan Makhzoomi *et al.* (2007) secara tegas menyatakan bahwa abnormalitas primer spermatozoa >10% dapat berpengaruh terhadap fertilitas. Sarder (2004) dan Saacke (2008) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa dapat menghambat fertilisasi dan keberhasilan program inseminasi.

Berdasarkan hasil yang didapat, ternyata saat ini masih ada semen beku yang diproduksi dari jantan yang mempunyai tingkat abnormalitas spermatozoa yang tinggi. Hal ini dapat terjadi karena evaluasi morfologi spermatozoa tidak dilakukan. Sebenarnya evaluasi morfologi ini tidak perlu dilakukan secara rutin, tetapi harus dilakukan pada saat jantan pertama kali memasuki balai, jika ada perubahan komposisi pakan atau jika sapi tersebut sakit dengan suhu tinggi dalam waktu yang lama. Pada penelitian ini digunakan pewarnaan "Williams" yang

sangat praktis karena sistem pewarnaan dilakukan dengan perendaman, dan sampel bisa dikirim, diwarnai dan dievaluasi dalam waktu yang berbeda.

Kesimpulan dan Saran

Dari 70 ekor sapi Simmental, sebanyak 6 ekor sampel mempunyai tingkat abnormalitas >10%. Jenis abnormalitas primer spermatozoa tertinggi adalah bentuk *pearshape* atau *pyriform* dan terendah dengan bentuk *macrocephalus* dan *double head.* Kami menyarankan evaluasi morfologi ini perlu dilakukan agar kualitas semen beku yang disebarkan mempunyai kualitas yang baik.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini didanai oleh DIKTI melalui Hibah kompetensi dengan no kontrak: 297.06/13.11/PL/2009, untuk itu kami ucapkan terimakasih atas dana yang diberikan. Kami juga mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya untuk seluruh BIB dan BIBD yang telah berpartisipasi mengirimkan semen segar untuk bahan penelitian ini.

Daftar Pustaka

Alexander JH. 2008. Bull breeding soundness evaluation: A practitioner's perspective *Theriogenology* 70:469–472.

Arifiantini RI, Wresdiyati T, Retnani EF. 2006. Pengujian morfologi spermatozoa Sapi Bali *(Bos Sondaicus)* Menggunakan Pewarnaan Williams. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis.* 31 (2):105-110.

Ax RL *et al.* 2000. *Semen evaluation.* Di dalam: Hafez ESE, Hafez B. Editor. *Reproduction in Farm Animal.* 7th ed . USA: Lippincot Wiliams dan Wilkins.

Bagley CV. 2009. Breeding soundness examination of rams cooperative extension work Utah State University http://extension.usu.edu/files/publications/ factsheet/ AH_Sheep_02.pdf (1 November 2009).

Balai Inseminasi Buatan Lembang 2009. http://www.banksperma.com/index. php?option.

Ball PJH, Peters AR. 2004. Reproduction in cattle. 3rd ed. UK: Blackwell Publishing.

Barth AD, Oko RJ. 1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa: Iowa State University Press Ball, P. J. H. & A. R. Peters. 2004. Reproduction in Cattle. 3rd ed. UK: Blackwell Publishing.

Chenoweth PJ. 2005. Genetic sperm defect. *Theriogenology* 64:457-468.

Fitzpatrick LA *et al.* 2002. Bull selection and use in northern Australia Part 2. Semen traits. *Anim Reprod Sci.* 71:39–49.

Freneau GE, Chenowth PJ, Ellis R, Rupp G. 2009. Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Anim. Repro Sci.* 3898:1-6.

Freshman JL. 2002. Semen collection and evaluation. *J. Clinical techniques in small animal practice.* 17:104-107.

Godfrey RW, Dodson RE. 2005. Breeding soundness evaluations of Senepol bulls in the US Virgin Islands. *Theriogenology* 63:831-840.

Griffin P. 2000. The Breeding soundness examination in the stallion *J. of Equine Vet. Sci.* 20:168-171.

Hoflack G *et al.* 2006. Breeding soundness and libido examination of Belgian Blue and Holstein Friesian artificial insemination bulls in Belgium and The Netherlands. *Theriogenology* 66:207–216.

Kavak A, Lundeheim N, Aidnik M, Einarsson S. 2004. Sperm morphology in Estonian and Tori breed stallions. *Act. Vet. Scan.* 45:11-18.

Makhzoomi A, Lundeheim N, Haard M, Rodriguez-Martinez H. 2007. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI Swedish dairy bull. *J. of Anim. and Vet. Advances* 8:975-980.

Mollineau WM, Adogwa AO, Garcia GW. 2008. Spermatozoal morphologies and fructose and citric acid concentrations in agouti (*Dasyprocta leprorina*) semen. *Anim. Repro Sci.* 105:378-383.

Morrell JM *et al.* 2008. Sperm morphology and chromatin integrity in Swedish warmblood stallions and their relationship to pregnancy rates. *Acta vet scand.* 50:1-7.

Psenicka M, Vancova M, Koubek P, Tesitel J, Linhart O. 2009. Fine structure and morphology of starlet (*Acipenser ruthenus* L. 1758) spermatozoa and acrosin localization. *Anim. Repro Sci.* 111:3-16.

Rocha A, Oliveira E, Vilhena MJ, Diaz J, Sousa M. 2006. A novel apical midpiece defect in the spermatozoa of a bull without an apparent decrease in motility and fertility-a case study. *Theriogenology* 66:913-922.

Saacke RG. 2008. Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompensable traits in semen. *Theriogenology* 70:473–478.

Sarder MJU. 2004. Morphological sperm abnormalities of different breeds of AI bull and its impact on conception rate of cows in AI programme. *Bangl. J. Vet. Med.* 2:129-135.

Shipley CF. 1999. Breeding soundness examination of the boar. *Swine Health Prod.* 7:117–120.

Soderquist L, Janson L, Haard M, Einarsson S. 1996. Influence of season, age, breed and some other factors on the variation in sperm morphological abnormalities in swedish dairy A.I. bulls. *Anim. Repro Sci.* 44:91-98.

Spitzer JC. 2000. Bull breeding evaluation: current status. International Veterinary Information Service.

Suwanpugdee A *et al.* 2009. Semen characteristic and sperm morphology of serow (*Capricornis sumatraensis*). *Anim. Repro Sci.* 71:576-585.