

Tinjauan Aspek Morfologi dan Morfometri Spermatozoa Kerbau Rawa (*Bubalus Bubalis*) yang Dikoleksi dengan Teknik Masase

(MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRICAL ASPECTS OF SWAMP BUFFALO (*Bubalus bubalis*) SPERM COLLECTED WITH THE MASSAGE TECHNIQUE)

R. IIS ARIFANTINI¹ DAN F. FERDIAN²

¹Laboratorium Fisiologi Reproduksi dan IB, FKH IPB,

²Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi FKH IPB, Bogor

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kebiasaan kerbau rawa yang hidup berendam di rawa terhadap morfologi spermatozoa, disamping itu juga dilakukan pengukuran spermatozoa (morfometri) sebagai data dasar sperma kerbau rawa yang sampai saat ini belum dilaporkan. Semen dikoleksi secara masase dari tujuh ekor kerbau rawa milik peternak di desa Buluh, Hulu Sungai Tengah (HST), Kalimantan Selatan, dengan merangsang kelenjar asesorius dan ampula vas deferens. Semen yang dihasilkan di buat preparat ulas menggunakan eosin 2%. Evaluasi morfologi menggunakan mikroskop listrik dengan membesarkan 400 sebanyak 200 sel untuk masing-masing jantan. Pengukuran morfometri spermatozoa dilakukan dengan menggunakan mikrometer dengan bagian yang diukur adalah panjang, lebar kepala serta panjang ekor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa kerbau rawa mencapai 31,86 %, dengan bentuk abnormal primer dan sekunder masing masing 9,93 % dan 21,93%. Kepala spermatozoa memiliki panjang $6,24 \pm 0,33 \mu\text{m}$ dengan lebar $3,31 \pm 0,37 \mu\text{m}$, panjang ekor total $42,47 \mu\text{m}$, dengan panjang bagian utama dan bagian tengah masing-masing $10,07 \pm 0,10 \mu\text{m}$ dan $32,4 \pm 1,62 \mu\text{m}$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa morfologi spermatozoa kerbau rawa yang hidup berendam dirawa tidak lebih baik dibandingkan kerbau rawa yang berkubang di lumpur.

Kata kunci : Spermatozoa, kerbau, morfologi dan morfometri

J Vet 2006 7 (2) : 83 - 91

ABSTRACT

The objectives of the research were to study the sperm morphology and morphometry of swamp Buffalos spermatozoa kept on swampy river banks of South Kalimantan. Semen was collected from seven buffalo bulls by the massage technique at the accessory gland and ampulla vas deferens region. The collected semen was then stained using 2% eosin. Sperm morphology was evaluated using biological microscope, 200 cells for each bull. Morphometry of spermatozoa was conducted by using micrometer, the length and width of sperm head and the length of the tail were measured on 200 cells for each bull. Results of the research indicated that the total sperm abnormality of the swamp buffalo bull was 31,86%, with primary and secondary abnormalities of 9,93% and 21,93% respectively. Sperm head length and width was $6,24 \pm 0,33$ and the $3,31 \pm 0,37 \mu\text{m}$. The total tail length was $42,47 \mu\text{m}$ with the length of middle; principle piece were $10,07 \pm 0,10 \mu\text{m}$ and $32,4 \pm 1,62 \mu\text{m}$ respectively. It is concluded that the sperm morphology of the swamp buffalo kept in river banks of South Kalimantan is not better than that of other swamp buffaloes.

Key word : Spermatozoa, buffalo, morphology and morphometry

J Vet 2006 7 (2) : 83 - 91

PENDAHULUAN

Kerbau di Indonesia kurang mendapat perhatian dalam aspek teknologi reproduksi, Padahal di Australia (*The Australian Buffalo Industry/ABI*) telah mulai melakukan berbagai terobosan teknologi reproduksi sejak 1990 seperti inseminasi buatan (IB), *multiple ovulation and embryo transfer* (MOET), *in vitro fertilization* (IVF) dan telah berhasil meningkatkan pertumbuhan populasi kerbau sampai dengan 40% (Tatham, 2000), Kerbau terbagi atas kerbau air (*river buffalo*) dan kerbau rawa/lumpur (*swamp buffalo*). Saat ini jumlah populasi kerbau air di dunia ada 130 juta (Hafez & Hafez, 2000) - 151,5 juta ekor (Tatham, 2000) dan sekitar 96,6% ditemukan di Asia. Menurut data dari statistik Indonesia (2002), total populasi kerbau di Indonesia adalah 2,4361 juta ekor dan populasinya di Kalimantan Selatan ada sekitar 35,9 ribu ekor. Desa Buluh, merupakan salah satu desa di kabupaten Hulu Sungai Tengah (HST) propinsi Kalimantan Selatan yang mempunyai populasi kerbau yang tinggi. Kerbau di desa buluh hidup dirawa sepanjang hari dan pada sore hari akan naik ke papan-papan yang tersusun (kalang) untuk beristirahat. Pakan kerbau rawa berupa rumput-rumput liar dan tanaman air yang ada dalam rawa. Berdasarkan cara hidupnya yang berendam sepanjang hari diduga akan berpengaruh terhadap temperatur testis, sehingga akan mempengaruhi proses spermatogenesis dan kualitas semen yang dihasilkan,

Penampungan (koleksi) semen dari ternak atau hewan dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu *recovery* (mengambil semen dari vagina yang baru kawin), vagina buatan, elektrojakulator dan masase (Sorenson, 1979). Vagina buatan adalah cara koleksi semen yang

umum dilakukan, kualitas dan kuantitasnya optimal dan prosesnya berlangsung secara fisiologis. Pada saat ternak menolak penggunaan vagina buatan maka teknik koleksi semen yang lain dilakukan. Pada koleksi semen dengan kerbau rawa ini tidak memungkinkan dilakukan dengan vagina buatan karena libido yang rendah dan belum terlatih. Penggunaan elektrojakulator untuk koleksi semen juga tidak memungkinkan karena dilakukan dikalangan yang letaknya terpencil ditengah rawa dan tidak terdapat aliran listrik, sehingga satu-satunya alternatif koleksi semen dilakukan dengan sistem masase. Koleksi semen dengan teknik masase pada hewan besar, dilakukan pada bagian ampula vas deferens dan kelenjar asesorius terutama kelenjar vesikularis. Masase dimulai dari bagian ampula ke arah kelenjar vesikularis dan dilakukan berulang-ulang sampai ternak jantan mengalami ereksi dan ejakulasi,

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kebiasaan kerbau rawa yang hidup berendam di rawa sepanjang hari terhadap morfologi (normalitas) spermatozoa, disamping itu juga dilakukan pengukuran spermatozoa (morfometri) sebagai data dasar sperma kerbau rawa yang sampai saat ini belum dilaporkan,

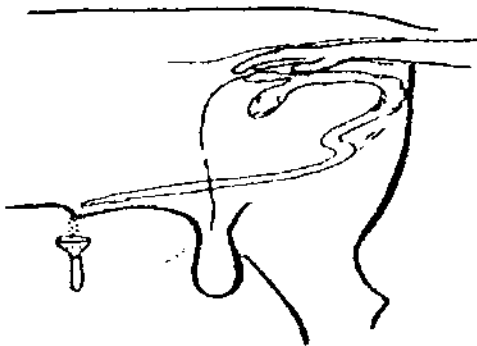
MATERI DAN METODE

Sampel semen dikoleksi dari tujuh ekor kerbau rawa jantan yang telah dewasa kelamin yang terdapat di desa Sungai Buluh, Kabupaten Hulu Sungai Tengah, Propinsi Kalimantan Selatan. Pengamatan morfologi dan morfometri spermatozoa dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi, Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR), Departemen Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari sampai Maret 2004.

Penampungan semen.

Penampungan semen dilakukan dengan metode masase (Sorenson, 1979). Kerbau dimasukkan dalam kandang jepit, masase dilakukan pada ampula vas deferens kearah kelenjar vesikularis (Gambar 1), berulang-ulang sampai kerbau menunjukkan tanda ereksi dan ejakulasi, setiap kali penampungan semen dibutuhkan waktu 10-15 menit.



Gambar 1. Metode masase ampula vas deferens (Sorenson, 1979)

Kolektor semen, berada sejajar dengan penis dan mengarahkan glans penis kecorong plastik yang dihubungkan dengan tabung penampung semen (Gambar 2).



Gambar 2. Penampungan semen

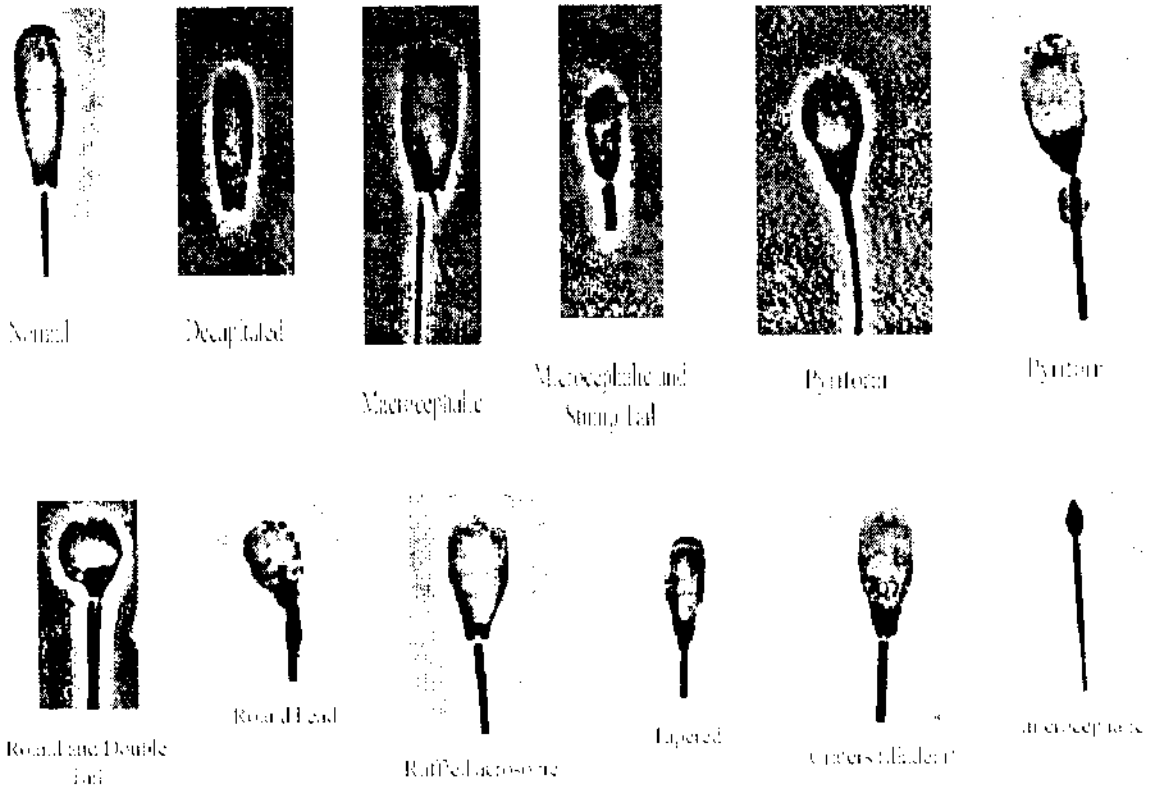
Pembuatan preparat ulas.

Preparat ulas untuk morfologi dan morfometri spermatozoa dilakukan menggunakan eosin 2% (Toelihere, 1993). Tiga buah gelas objek disiapkan, Satu buah digunakan untuk mencampurkan 1 tetes semen dengan tiga tetes eosin 2%, gelas objek yang kedua digunakan untuk mencampurkan semen dan eosin serta membuat ulasan pada gelas objek yang ketiga. Preparat ulas selanjutnya dikeringkan dan disimpan untuk pengamatan dilaboratorium.

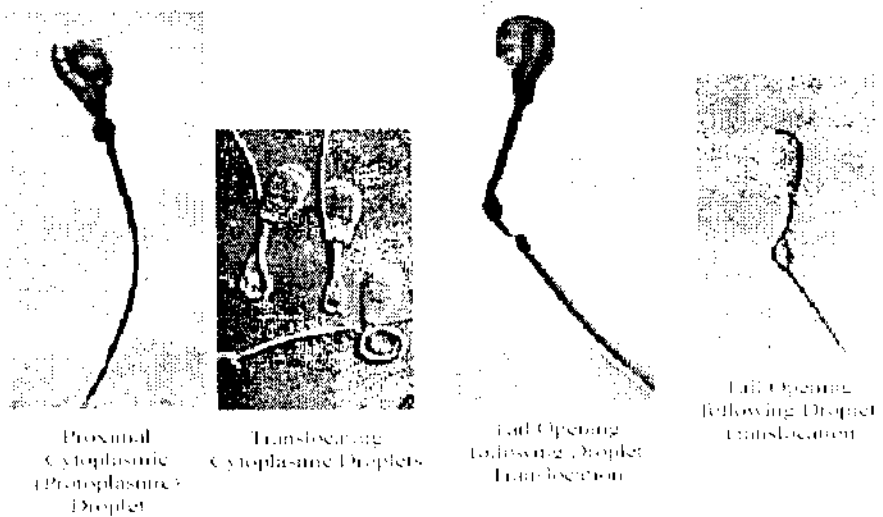
Morfologi Spermatozoa.

Adalah evaluasi semen secara mikroskopis yang dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang normal dan abnormal secara primer maupun sekunder (Gambar 3a dan b). Abnormalitas diamati pada bagian kepala, tudung akrosom, bagian tengah dan ekor. Jumlah spermatozoa yang diamati morfologinya dihitung sebanyak 200 spermatozoa atau pada sepuluh lapangan pandang. Pengamatan abnormalitas menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 X menggunakan minyak immersi. Persentase sperma abnormal dihitung dengan cara :

$$\text{Jumlah sperma normal (\%)} = \frac{\text{Jumlah sperma normal}}{\text{Jumlah total sperma}} \times 100\%$$



Gambar 3a. Abnormalitas primer
(Parish, 2003)



Gambar 3b. Abnormalitas sekunder
(Parish, 2003)

Morfometri Spermatozoa.

Pengukuran spermatozoa dilakukan dengan menggunakan lensa okuler yang dilengkapi mikrometer pada perbesaran 1000x menggunakan minyak immersi. Pengukuran spermatozoa meliputi panjang kepala, lebar kepala, panjang bagian tengah (*midpiece*) serta panjang bagian ekor (Gambar 4) dari 200 spermatozoa per sampel (Gizejewski *et al.*, 2002).



Gambar 4. Bagian-bagian spermatozoa yang diukur

Analisis Data.

Data yang didapat dari hasil evaluasi morfologi dan morfometrinya dicari rataannya dan simpangan bakunya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Spermatozoa Kerbau Rawa
Sel spermatozoa pada semua hewan

ternak mempunyai bagian dasar yang sama, namun secara morfologi ada perbedaan tertentu dari spesies satu dengan lainnya. Bentuk morfologi sel sperma berpengaruh terhadap pembuahan, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka akan menurunkan fertilitasnya (Dally *et al.*, 2000 dalam Hafez & Hafez, 2000)

Abnormalitas spermatozoa dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu abnormalitas primer yang terjadi pada saat spermatogenesis dan abnormalitas sekunder yang terjadi setelah spermatozoa meninggalkan tubuli seminiferi (Hafez & Hafez, 2000). Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan persentase abnormalitas total spermatozoa sebesar 31,86% dengan persentase abnormalitas primer sebesar 9,93% dan abnormalitas sekunder sebesar 21,93% (Tabel 1; Gambar 5). Abnormalitas primer yang banyak didapatkan adalah kepala berbentuk seperti dayung (*tapered head*), Sedangkan abnormalitas sekunder yang banyak ditemukan adalah patahan pada ekor (*bent tail*).

Tabel 1. Morfologi Spermatozoa Kerbau Rawa

No, Kerbau	Ulangan	Morfologi (%)			
		Normal	A, Primer	A, Sekunder	A, Total
1	1	70	15	15	30
	2	65	10,5	24,5	35
2	1	82,5	1	16,5	27,5
	2	61	17	22	39
3	1	51,5	20,5	28	48,5
	2	53	22	25	47
4	1	81,5	3	15,5	18,5
	2	60,5	13	26,5	39,5
5	1	70	7	23	30
	2	70	10	20	30
6	1	72	4,5	23,5	28
	2	74	5	21	26
7	1	71	6,5	22,5	29
	2	72	4	24	28
Rata-rata (%)		68,14±9,17	9,93±6,68	21,93±3,98	31,86±3,98

Persentase abnormalitas spermatozoa kerbau rawa hasil penelitian termasuk tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian yang lain. Menurut Hardjoprano (1983) abnormalitas spermatozoa pada kerbau lumpur 15%; 12% (Batosamma 1985) dan pada kerbau murrah abnormalitasnya adalah 14,5%.

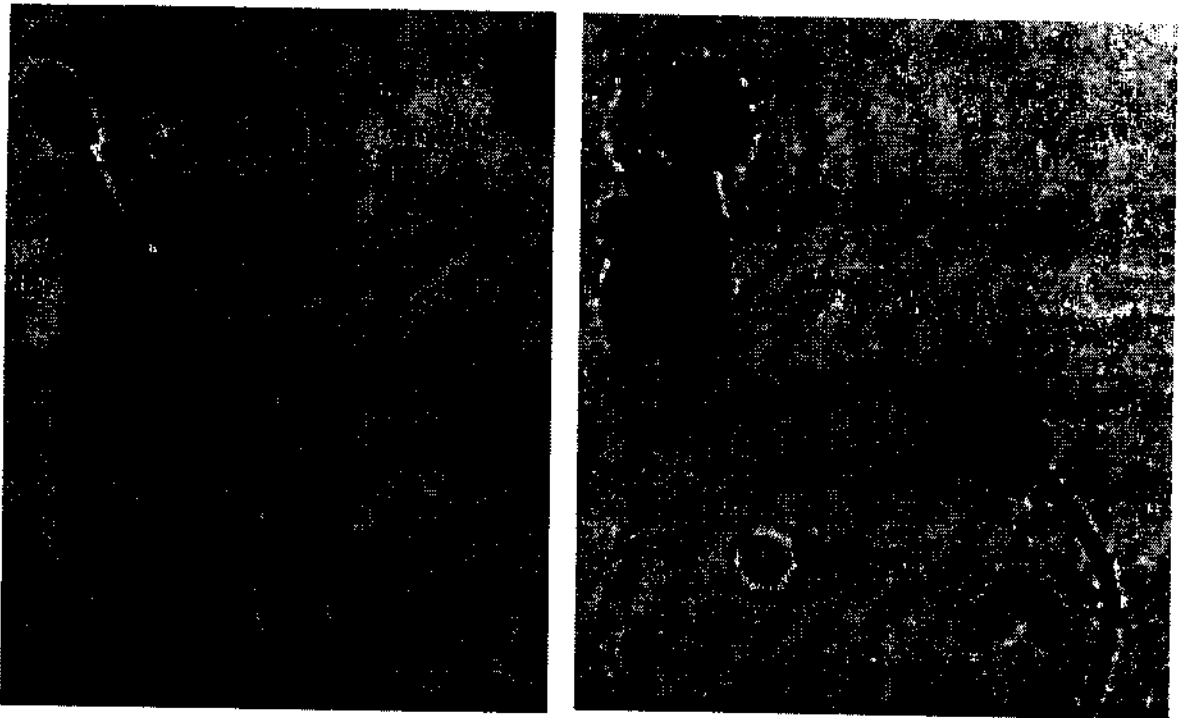
Abnormalitas pada beberapa ternak bervariasi. Menurut Garner dan Hafez dalam Hafez dan Hafez (2000) pada sapi 5-35%; domba 5-20%; babi 10-30%; kuda 10-40% dan ayam 10-15%. Untuk ruminansia kecil seperti kambing dan domba untuk tujuan IB abnormalitas spermatozoa disarankan tidak lebih dari 14% (Toelihere, 1993). Abnormalitas spermatozoa menurut Peters dan Ball (1986), dianggap serius apabila abnormalitas primer mencapai 18-20% atau lebih dari 20% (Toelihere, 1993) dari populasi sperma sehingga penurunan fertilitas dapat terjadi. Abnormalitas kerbau menurut Sansone *et al.*, (2000)

pada bagian kepala 2,1%, pada bagian tengah ekor (*midpiece*) kurang dari 1% dan abnormal pada ekor bervariasi dari 1,0% sampai 4% dengan kejadian butiran sisa sitoplasma kurang dari 1%. Kerbau yang menunjukkan abnormalitas spermatozoa lebih dari 15-20%, harus diuji kemampuan fertilitasnya (Saeed *et al.*, 1990).

(a)

(b)

Berdasarkan hasil tersebut ternyata spermatozoa kerbau yang berendam dirawa sepanjang hari tidak menunjukkan morfologi (normalitas) yang baik. Jumlah sperma abnormal yang didapatkan lebih tinggi dibandingkan laporan pada kerbau lainnya yang tidak berendam di air sehingga kemungkinan temperatur dari air tersebut tidak memperbaiki proses spermatogenesis ataupun pematangan



Gambar 5. Abnormalitas sekunder (450X) dan abnormalitas primer (1000X)

sperma di epididymis. Penyebab tingginya abnormalitas tersebut kemungkinan akibat sistem koleksi semen yang dilakukan dan manajemen dari kerbau jantan mengingat pakan kerbau hanya menggunakan rumput-rumput liar yang ada disekitar rawa. Kemungkinan lain adalah kerbau tersebut sudah lama tidak kawin sehingga yang terkoleksi pada saat masase adalah cadangan spermatozoa kerbau yang lama sehingga sudah mengalami kerusakan,

Morfometri Spermatozoa Kerbau Rawa

Pengamatan morfometri spermatozoa dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya atau mikroskop fase kontras sama seperti pengamatan morfologi. Cara terbaru untuk mengamati morfometri spermatozoa adalah dengan metode *Automated Sperm Morphometry Analysis (ASMA)*, dengan menggunakan sistem ini akan memberikan hasil yang lebih akurat dan lebih mudah. Sistem ini belum digunakan

di Indonesia dikarenakan peralatannya yang cukup mahal.

Dari pengukuran morfometri yang dilakukan terhadap spermatozoa kerbau rawa didapatkan hasil untuk panjang dan lebar kepala masing-masing $6,24 \pm 0,33$ Fm dan $3,31 \pm 0,37$ Fm, panjang bagian tengah $10,07 \pm 0,10$ Fm, panjang ekor $32,4 \pm 1,62$ Fm sehingga panjang spermatozoa total adalah $52,02 \pm 1,34$ Fm (Tabel 2).

Panjang kepala sperma kerbau lebih pendek dari sperma kambing, tetapi lebih panjang dari pada sperma kuda yang memiliki panjang 4,9-10,6Fm dengan lebar 2,5-3,91Fm, panjang bagian tengah dan ujung masing-masing 20,33Fm dan 2,79Fm (Morel, 1999) dan manusia dengan panjang; lebarnya adalah 4-6Fm ,2-6 Fm (Mann, 1954); 5-6Fm, 2,5-3,5Fm (Lens, 1996). Spermatozoa kerbau juga lebih persegi dan relatif lebih kecil dan lebih pendek dari pada spermatozoa sapi (Rajwar & Mukherjee 1970), (Tabel 3).
Tabel 3. Perbandingan Morfometri Spermatozoa Kerbau dan Sapi

Tabel 2. Morfometri Spermatozoa Kerbau Rawa

No/ulangan Kerbau	Panjang kepala	Lebar kepala	Bagian tengah	Panjang Ekor	Panjang Total
1,1	6,22	3,37	10,10	31,90	51,59
1,2	6,85	3,93	10,18	30,78	51,74
2,1	6,97	3,95	10,05	30,95	51,92
2,2	6,52	3,95	9,95	30,05	50,47
3,1	6,47	3,41	9,98	31,11	50,97
3,2	6,03	3,02	10,01	33,66	52,72
4,1	6,06	3,06	10,04	30,33	49,49
4,2	5,96	3,01	10,02	32,28	51,27
5,1	5,95	3,04	10,03	32,27	51,29
5,2	6,00	3,03	10,06	34,50	53,59
6,1	6,02	3,07	10,09	33,82	53,00
6,2	6,07	3,42	10,38	33,83	53,70
7,1	6,11	3,09	10,09	35,05	54,34
7,2	6,07	3,04	10,06	33,08	52,25
Rata-Rata	$6,24 \pm 0,33$	$3,31 \pm 0,3$	$10,07 \pm 0,10$	$32,4 \pm 1,62$	$52,02 \pm 1,3$

Tabel 3. Perbandingan Morfometri Spermatozoa Kerbau dan Sapi

Kriteria/bagian	Kerbau	Sapi
Panjang Kepala (Φm)	9,0 ± 0,5	12,0 ± 0,5
Lebar Kepala(Φm)	6,3 ± 0,5	6,0 ± 0,7
Panjang Seluruh(Φm)	69,0 ± 2,5	81,0 ± 2,5

Sumber : Chantaraprateep dan Bodhipaksha (1975)

Penelitian Gravance (1995) yang mengukur spermatozoa kambing dengan sistem ASMA ternyata panjang kepala dan lebar kepala masing-masing adalah 7,69 μm 3,80 μm.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Kebiasaan hidup kerbau yang berendam di rawa sepanjang hari tidak mempengaruhi morfologi dari spermatozoa
2. Abnormalitas spermatozoa kerbau adalah 32,57% dengan sebaran abnormalitas primer dan sekunder masing-masing 9,93 dan 21,93 %
3. Morfometri spermatozoa kerbau panjang dan lebar kepala 6,24 dan 3,31 Fm dengan panjang ekor total 52,02Fm

DAFTAR PUSTAKA

Batosamma, J.T. 1985. Penerapan Teknologi Inseminasi Buatan untuk Pelestarian Sumberdaya Ternak Kerbau Belang. Disertasi. Fakultas Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Chantaraprateep. P. and P. Bodhipaksha. 1975. Studies on Semen of the Thai Swamp Buffalo. J. Thai. Vet. Med. Ass. 26 : 105 – 110.

Gizejewski Z. M. Wankowska and J. Polkowska 2002. Seasonal changes in the dimentions of red deer (*Cervus elaphus*) spermatozoa. Zygmunt @ pan.pl.

Gravance. C.G, K.M. Lewis and P.J Casey. 1995. Computer Automated Sperm Head Morphometriy Analysis (ASMA) of Goat Spermatozoa. Theriogenology.

Hafez, ESE and B. Hafez. 2000. Reproduction in Farm Animal (7thed). USA Lippincot Wiliams & Wikins.

Hardjopranto. S 1983. Biologi Reproduksi Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*) Ditinjau dari Segi Kesuburan, Hormon Kelamin, Morfologi Kelenjar Hipofisa dan Spermatozoa. Disertasi. Fakultas Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Lens J.W. 1996. The Spermatozoon In: Laboratory aspect of In Vitro Fertilization 41- 2

Mann. T. 1954. The Biochemistry of Semen. London. John Wiley & Sons. INC.

Morel. D.M.C.G. 1999. Equine Artificial Insemination. Wallingford. Oxon. UK CABI Publishing.

Peters. A.R. and P.J.H Ball. 1986. Reproduction in Cattle. London. Butterworth

Prabhu. S.S and P. Battacharya. 1951. Comparison of First and Second Ejaculates Collected in Rapid Succession from the Indian Water Buffalo. Indian Journal. Vet. Sci and Anim Husb. 257 – 262.

- Rajwar. B.M.S. and D.P. Mukherjee.** 1970. Studies on the Cytomorphology of Spermatozoa in Homo and Heterospermic Semen of Bulls (*Bos indicus*) and Buffalo Bulls (*Bubalus bubalis*). II. Effect of Temperature Shock at 5°C and 30°C on the Enumeration and Maturation Characteristics of Live Spermatozoa. Indian J. Anim. Sci.. 40 : 557.
- Saeed. A. Chaudbry. R.A.. Khan. I.H and N.U. Khan.** 1990. Morphology of semen buffalo bulls of different age groups. In: Acharya. R.M.. Lokeshwar. R.R.. Kumar. Recent Advances in Buffalo Research vol. 3 pp. 17-19.
- Sansone G.. M.J.F. Nastri, A. Fabbrocini** 2000.Storage of buffalo *Bubalus bubalis* semen Animal Reproduction Science 62 : 55-76
- Sorenson Jr. A.M.** 1979. Laboratory Manual for Animal Reproduction. 4^{ed} American Press. Boston. USA
- Tatham. B.,** 2000. Increasing Buffalo production. Using Reproductive Technology, A Report for the Rural Industries Research and Development Corporation, Australia
- Toelihere M.R.** 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak.. Angkasa. Bandung