

**KERMUNGKINAN ADANYA KELAINAN SITOGENETIK
PADA SAPI-SAPI PENGHASIL SEMEN BEKU
DI BALAI INSEMINASI BUATAN**

Ketua Peneliti :

Dr. Mustahdi Surjoatmodjo, Msc., Drh.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : Proyek Pengembangan 6 Universitas (SUDR - ADB)

LOAN No. 1013-INO Dirjen Dikti Depdikbud

Nomor Kontrak : 608/VI.3/AC-CON/XI/94

Nomor urut : 01

KEMUNGKINAN ADANYA KELAINAN SITOGENETIK
PADA SAPI-SAPI PENGHASIL SEMEN BEKU
DI BALAI INSEMINASI BUATAN

(THE POSSIBILITY OF CYTOGENETIC ABERRATIONS OCCURENCE
IN BULLS WHICH PRODUCE FROZEN SEMEN
IN THE CENTRES OF ARTIFICIAL INSEMINATION)

Ketua Peneliti : Dr. MUSTAHDI SURJOATMODJO, M.Sc. Drh.

Anggota : 1. Dady Sugianto Nazar, MSc. Drh.
2. Rudy Sukanto Setyabudi, MSc. Drh.

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

PENELITIAN YANG DIBIYAI DENGAN DIP PROYEK
PENGEMBANGAN 6 UNIVRERSITAS (SUDR-ADB) LOAN NO.1013-INO
DIREKTORAT JENDRAL PENDIDIKAN TINGGI
DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN,
NO. 594/XXIII/3/--/94 TANGGAL 28 MARET 1994 KATEGORI 08.

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Kemungkinan adanya kelainan sitogenetik pada sapi-sapi penghasil semen beku di Balai Inseminasi Buatan.
 b. Macam Penelitian : () Dasar, (x) Terapan
 c. Kategori Penelitian : () I (x) II () III

2. Kepala Proyek Penelitian
 a. Nama lengkap dengan gelar : Dr. Mustahdi Surjoatmodjo, MSc. Drh.
 b. Jenis kelamin : Laki-laki
 c. Pangkat/Golongan dan NIP : Pembina Tk. I/IV b 130 206 130.
 d. Jabatan sekarang : Lektor Kepala Madya
 e. Fakultas/Jurusan : Kedokteran Hewan
 f. Universitas : Airlangga
 g. Bidang ilmu yang diteliti : Kedokteran Hewan (Sitogenetika)

3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang

4. Lokasi Penelitian : Balai Inseminasi Buatan (Singosari dan Lembang) dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

5. Kerjasama dengan instansi lain : Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian.

6. Jangka waktu penelitian : 10 bulan.

7. Biaya yang diperlukan : Rp. 7.000.000,-

8. Seminar hasil penelitian
 a. Dilakukan tanggal : 15 Agustus 1995.
 b. Hasil Penilaian : (x) Baik

Surabaya, 27 Agustus 1995

Kepala Proyek Penelitian,

(Dr. Mustahdi Surjoatmodjo)

NIP. 130 206 130

Mengetahui :
Ketua Lembaga Penelitian Uniar

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini f
NIP. 130 355 372



Mengetahui :
Dekan I,
Mustahdi Surjoatmodjo, M.S., Drh.
NIP. 130687297

RINGKASAN

.KEMUNGKINAN ADANYA KELAINAN SITOGENETIK PADA SAPI-SAPI
 PENGHASIL SEMEN BEKU DI BALAI INSEMINASI BUATAN

(Mustahdi Surjoatmodjo, Dady Soegianto Nazar dan Rudy
 Sukamto Setyabudi : 1994, 28 halaman)

Tidak semua sifat genetik yang dibawa oleh seekor hewan dapat terlihat pada penampilan fisiknya. Pada sapi misalnya beberapa pembawa sifat yang terdapat dalam kromosomnya tidak menampilkan gejala fisik yang tampak dari luar. Beberapa kelainan kromosom pada sapi diketahui tidak menampakkan gejala fenotipik sama sekali seperti misalnya kelainan numerik pada kromosom seksual yang menyebabkan timbulnya *freemartin* yang secara sepintas tidak tampak dari luar. Demikian pula adanya kelainan kromosomal yang biasa disebut sebagai translokasi Robertsonian dengan adanya fusi sentrik (translokasi) antara kromosom no. 1 dengan no. 29 yang akan membawa akibat rendahnya tingkat fertilitas sapi yang bersangkutan.

Untuk meningkatkan mutu genetik dan populasi sapi di Indonesia pemerintah mempunyai dua Balai Inseminasi Buatan yang ada di Singosari (Malang) dan Lembang (Bandung). Kedua balai tersebut berkewajiban untuk menyediakan semen beku yang berasal dari pejantan unggul baik impor maupun lokal. Untuk menjadi sumber penghasil semen beku sapi-sapi tersebut telah mengalami seleksi yang ketat termasuk penilaian silsilahnya (*pedigree*) maupun penilaian performans fisiknya. Namun sayangnya bahwa sampai saat ini untuk calon pejantan tersebut belum dilakukan pemeriksaan sitogenetik untuk mengamati keadaan kromosomnya.

Pada penelitian ini telah dilakukan pemeriksaan sitogenetik untuk menilai susunan kromosom beberapa ekor sapi dari kedua Balai Inseminasi yang ada di Singosari (74 ekor) dan Lembang (42 ekor). Dari hasil yang diperoleh ternyata dari sapi-sapi yang diperiksa tidak terdapat kelainan kromosomal baik numerik maupun struktural.

(L.P. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga :
 608/VI.3/AC-CON/XI/94, 30 Nopember 1994)

SUMMARY

THE POSSIBILITY OF CYTOGENETIC ABERATIONS OCCURENCE
IN BULLS WHICH PRODUCE FROZEN SEMEN
IN THE CENTRES OF ARTIFICIAL INSEMINATION

(Mustahdi Surjoatmodjo, Dady Soegianto Nazar and Rudy
Sukanto Setyabudi : 1994, 28 pages)

Not all of genetic characteristics which present in animal will exist phenotypically. In cattle, some of chromosomal aberrations can not be seen physically e.g. some of numerical aberrations in its sexual chromosomes that make freemartinism are not easily detected physically. The structural aberrations such Robertsonian translocation where translocation occurs between the chromosomes number 1 and 29 that make lower fertility will not be seen physically as well.

To improve the genetic performance and population of cattle in Indonesia, the government have built two Centres of Artificial Insemination in Singosari (Malang, East Java) and Lembang (Bandung, West Java). The two centres have to supply frozen semen originated from selected bulls. The bulls have to be selected genetically from their pedigree and physical performance but not includes the study of cytogenetic point of view.

In this study the chromosomal analysis have been done to see if there are possibilities of chromosomal aberrations occurred in bulls which belong to the Centres of Artificial Insemination. The results shown that no one of the 74 bulls in Singosari and 42 in Lembang used as sample have shown the numerical and structural aberrations.

(Rest. Inst. Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga
University : 608/VI.3/AC-CON/XI/94, November, 30 1994)

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya patut dipersembahkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan petunjuk serta hidayahNya sehingga penelitian ini terlaksana dan dapat diselesaikan dengan baik. Penelitian yang dibiayai dengan anggaran DIP Proyek SUDR-ADB Loan No. 1013 INO ini sedianya akan diusahakan untuk mengerjakan pemeriksaan kromosom pada semua sapi-sapi pejantan penghasil semen beku yang ada di Balai Inseminasi Buatan Singosari (Malang) dan Lembang (Bandung). Namun kesulitan di lapangan dan keterbatasan anggaran yang tersedia ternyata hanya memungkinkan untuk mengerjakan sebagian saja.

Dengan terselesaikannya laporan penelitian ini perlu juga disampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-sebesaranya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Cq. Ketua Lembaga Penelitian yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian ini melalui biaya DIP Proyek SUDR-ADB Loan No. 1013 INO.
2. Direktur Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian Republik Indonesia Cq. Direktur Perbibitan yang telah memberikan ijin untuk menggunakan sapi-sapi pejantan di kedua Balai Inseminasi Buatan Singosari dan Lembang.
3. Kepala Balai Inseminasi Buatan Singosari Drh. H. Djaman Hedah, dan Kepala Balai Inseminasi Buatan Lembang Drh. Asmaun Siregar beserta semua staf dan petugas lapangannya yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian ini.

4. Semua pihak yang tidak mungkin disebut satu per satu yang telah pula banyak berjasa dan membantu sejak perencanaan sampai pada pelaksanaan dan penyelesaiannya.

• Tentunya penulisan hasil penelitian ini tidak mungkin sempurna, untuk itu kritik yang membangun sangat diharapkan.

Demikian, semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan Ilmu Kedokteran Hewan dan Peternakan dan khususnya bagi penentu kebijaksanaan dalam kedua bidang tersebut.

Surabaya, Agustus 1995.

Penulis,

D A F T A R I S I

	Halaman
RINGKASAN	ii
SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
Bab I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Balai Inseminasi Buatan	7
2.2. Kromosom Sapi	8
2.3. Kelainan Kromosomal pada Sapi	9
BAB III. MATERI DAN METODE.....	14
3.1. Bahan Penelitian	14
3.2. Prosedur Penelitian	14
3.3. Analisis Kromosom	16
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
Gambar Kromosom dan Karyotipe sapi Bali Jantan ...	22
Gambar Kromosom dan Karyotipe Sapi Madura Jantan .	23
Gambar Kromosom Sapi <i>Bos taurus</i> Jantan	24
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN 1.....	28
Daftar Reagensia yang Digunakan	28

BAB I PENDAHULUAN

BAB I

P E N D A H U L U A N

1.1. Latar Belakang Masalah

Hakekat pembangunan peternakan adalah menggerakkan sumberdaya aktif (manusia) yang dengan akhlak, akal (teknologi) dan pengorganisasian yang baik, mampu memanfaatkan dan mengubah sumberdaya pasif (lahan, ternak dan modal) menjadi komoditi yang memberikan kesejahteraan bagi masyarakat. Dalam Pembangunan Jangka Panjang (PJP) II sasaran utama pembangunan peternakan adalah terciptanya peternakan yang maju, efisien dan tangguh.

Ciri-ciri untuk itu semua adalah :

1. meningkatnya peranan peternakan dalam menunjang pertumbuhan ekonomi yang tinggi,
2. terpenuhinya kebutuhan masyarakat akan bahan pangan asal ternak,
3. meningkatnya daya beli rakyat,
4. meningkatnya kemampuan penyediaan bahan baku industri,
5. meningkatnya kualitas sumberdaya manusia dan kualitas masyarakat peternakan di Indonesia (Anonimus, 1994).

Konsumsi protein hewani untuk rakyat Indonesia secara keseluruhan masih rendah. Dari target norma gizi yang 4,5 gram protein hewani per kapita per hari, pada awal Pelita VI 1994/95 ini diharapkan baru akan tercapai 3,88 gram atau 86,2% . Ditambah lagi bahwa dari data tersebut ternyata masih dijumpai kesenjangan yang cukup besar. Menurut temuan dari Sensus Ekonomi Nasional

(Susenas 1987) bahwa penduduk Indonesia yang sudah mencapai tingkat konsumsi protein hewani asal ternak di atas 4,5 gram/kapita/hari hanya 18% dari 167 juta rakyat atau sekitar 30 juta orang. Yang mengkonsumsi di bawah 4,5 gram/kapita/hari sebanyak 78% atau sekitar 130 juta orang, sedangkan selebihnya yang 7 juta orang hampir tidak pernah mengkonsumsi protein hewani asal ternak.

Sumber protein hewani asal ternak adalah daging, susu dan telur. Daging bersumber dari ternak ruminansia besar/kecil (sapi, kerbau, kambing dan domba), dan ternak non-ruminansia (babi dan unggas), susu masih berasal hanya dari sapi perah, sedangkan telur dari ayam (ras dan bukan ras) dan itik. Secara keseluruhan produksi daging tampaknya sudah termasuk yang paling tinggi tingkat pencapaiannya dari target norma gizi ($\pm 84,8\%$). Produksi telur sudah relatif lebih memadai dibanding dengan susu. Dari target yang 3 kg telur/kapita/tahun pada akhir Pelita V ini sudah terpenuhi 2,5 kg atau 83,3%. Susu dari 6,2 kg/kapita/tahun sudah tercapai 4,9 kg atau 79%. Namun perlu diingat bahwa kebutuhan daging lebih banyak disediakan dari sektor unggas, sedangkan yang berasal dari ternak ruminansia besar (sapi dan kerbau) jumlahnya masih sangat kecil. Dari target kebutuhan daging yang dikonsumsi rakyat Indonesia, sapi dan kerbau hanya berperan tidak lebih dari 22,2% saja. Demikian pula apabila ditinjau dari besarnya angka kenaikan produksi rata-rata per tahunnya selama Pelita VI yang hanya 2,08% dibanding dengan yang berasal dari unggas mengalami kenaikan rata-rata sebesar 4,3%.

Dari angka-angka tersebut ternyata memang peningkatan produksi ternak ruminansia besar perlu mendapatkan perhatian yang lebih besar. Sebagai kebijaksanaan pembangunan peternakan dalam segi peningkatan produksi sudah sejak lama pemerintah menempuh melalui Panca Usaha Ternak yakni perbaikan bibit, pakan, kesehatan ternak, pemeliharaan dan reproduksi, dan Sapta Usaha yang menambahkan pengolahan hasil dan pemasarannya. Untuk ternak ruminansia besar, di antara beberapa pendekatan telah ditempuh pula penerapan teknologi tinggi yang melibatkan Inseminasi Buatan untuk peningkatan mutu genetik (bibit) dan populasinya.

Untuk memenuhi kebutuhan persediaan semen beku, pemerintah telah memiliki dua Balai Inseminasi Buatan (BIB) yang berlokasi di Lembang (Bandung) dan Singosari (Malang). Sebagai sumber penghasil semen tersedia sapi-sapi pejantan unggul baik yang berasal dari luar negeri maupun lokal. Pengadaan sapi-sapi pejantan unggul lokal diperoleh dengan cara membeli juara-juara Kontes Ternak, dan mengadakan seleksi dari wilayah-wilayah terpilih setelah melalui uji performans dan uji zuriat (*progeny test*) yang kemudian dibeli oleh BIB.

Sampai saat ini seleksi sapi-sapi pejantan yang akan digunakan dalam produksi semen beku baru dilakukan melalui uji genetik (uji performans dan zuriat) dan penampilan eksterior termasuk kualitas dan kuantitas air mani saja. Dari pengalaman yang sudah berjalan sekian lama memang ternyata hasilnya juga tidak mengecewakan, namun sebenarnya dari uji genetik yang

biasa dilakukan tersebut masih perlu dilakukan pengujian yang lebih dalam lagi antara lain dengan penilaian sitogenetiknya.

Kelainan kromosomal pada sapi dapat mengakibatkan kelainan fisik yang jelas terlihat maupun yang sama sekali tidak terlihat. Dari sapi-sapi yang berpenampilan fisik normal dan bagus sebenarnya beberapa di antaranya masih mungkin juga terdapat kelainan-kelainan kromosomal yang berakibat antara lain penurunan fertilitas misalnya seperti pada translokasi antara kromosom no.1 dan 29 (translokasi Robertsonian), kelahiran kembar *freemartin* yang disebabkan adanya kelainan numerik pada kromosom seksual, dsb. Kelainan ini tentu saja dapat diturunkan pada anak yang dihasilkan, dan karena sapi jantan merupakan setengah faktor genetik pada anak maka kemungkinan menurunkan sifat tersebut adalah 50% .

1.2. Perumusan Masalah

Produksi sumber protein hewani yang masih memerlukan peningkatan yang pesat adalah yang berasal dari ternak ruminansia besar (sapi dan kerbau). Untuk itu pemerintah telah mengusahakannya peningkatan mutu genetik dan populasinya melalui teknik inseminasi buatan. Dari kedua Balai Inseminasi Buatan yang ada dihasilkan semen-semen beku yang berasal dari sapi-sapi pejantan unggul yang didatangkan dari luar negeri maupun lokal. Untuk menjadi sumber bibit yang baik, sapi-sapi tersebut sudah melalui seleksi genetik dan fisik yang ketat. Namun sayang bahwa.

dari seleksi genetik yang dikerjakan selama ini belum termasuk analisis kromosomnya. Pada hal sudah sejak lama diketahui bahwa dari analisis kromosom sapi dapat dideteksi adanya kelainan-kelainan genetik yang beberapa di antaranya tidak tampak dari penampilan fisiknya. Untuk itu perlu diteliti apakah sapi-sapi yang digunakan sebagai produsen semen beku di kedua Balai Inseminasi Buatan selain mempunyai asal-usul dan fisik yang baik akan mempunyai kelainan kromosomal yang akan dapat diturunkan kepada anak-anak keturunannya yang tersebar luas di seluruh Indonesia.

1.3. Tujuan Penelitian

Dengan mengingat pentingnya pertimbangan sitogenetik dalam menentukan baik tidaknya calon pejantan, maka penelitian ini ditujukan untuk menjajagi kemungkinan memasukkan persyaratan analisis karyotipe kromosom sapi-sapi calon pejantan penghasil semen beku yang akan ditempatkan pada Balai Inseminasi Buatan. Dengan diketahui adanya kelainan tersebut dapat dicegah adanya penyebaran yang cepat sifat-sifat yang jelek pada anak-anak sapi keturunan pejantan unggul.

1.4. Manfaat Penelitian

Setiap tahun dalam Pelita VI nanti tidak kurang dari 2,5 juta straw semen beku akan dihasilkan oleh kedua Balai Inseminasi Buatan yang ada di Singosari dan Lembang. Selama ini karena

seleksi calon pejantan hanya ditentukan berdasarkan penilaian silsilah (pedigree) dan penampilan fisik saja, maka tidak diketahui kemungkinan adanya kelainan kromosomal pada sapi-sapi tersebut. Hasil penelitian ini bermanfaat untuk meyakinkan para penentu kebijaksanaan di kalangan Direktorat Jendral Peternakan bahwa pemeriksaan karyotipe kromosom sangat diperlukan bagi calon-calon sapi pejantan khususnya bagi sapi-sapi penghasil semen beku.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

masih harus melalui sertifikasi yakni dengan pengujian mutunya setelah dalam kemasan straw disimpan selama 24 jam dalam nitrogen cair. Dalam pengujian mutu tersebut dilakukan pengukuran *post thawing motility (PTM)*, dan dianggap memenuhi persyaratan dan baru boleh didistribusikan apabila nilai PTM nya minimal 40%. Itu pun setelah beredar di lapangan semen beku tersebut masih mungkin berubah kualitasnya, hal tersebut yang paling sering terjadi adalah disebabkan karena berkurangnya volume nitrogen cair dalam kontainer yang tidak mampu mempertahankan suhu sampai -79°C . Penurunan volume nitrogen cair dapat disebabkan karena evaporasi, suhu luar yang terlalu panas, atau sistem insulasi kontainer yang tidak baik (Toelihere, 1981).

Selama pelaksanaan dan dalam rangka peningkatan kemampuannya BIB Singosari telah bekerja sama dengan pemerintah Jepang, sedangkan BIB Lembang dengan Selandia Baru. Proyek kerjasama tersebut meliputi peningkatan kemampuan pelaksana, impor sapi-sapi pejantan unggul, dan melaksanakan uji-uji performans dan zuriat (*progeny test*).

2.2. Kromosom Sapi

Sapi, baik *Bos taurus* maupun *B. indicus* mempunyai 60 buah kromosom yang berpasangan ($2n = 60$). Antara kedua rumpun bangsa sapi ini biasanya hanya dibedakan dari kromosom Y nya yang pada *B. indicus* kecil dan akrosentrik, sedangkan pada *B. taurus* kecil tetapi seringkali tampak seperti meta atau sub-metasentrik.

Eldridge (1985) yang mengutip beberapa penulis sebelumnya

menguraikan tentang sejarah penemuan kromosom sapi adalah sebagai berikut : Makino (1956) mengemukakan bahwa publikasi pertama tentang kromosom sapi ditulis oleh von Bardeleben (1882). Waktu itu dikatakan bahwa dari sel spermatozoa sapi ditemukan jumlah $2n$ adalah 16. Kemudian Schoenfeld (1902) menyatakan bahwa $2n$ pada kromosom sapi adalah antara 20 - 25. Matsui (1919) menemukan angka $2n = 33$ dan komposisi kromosom seks pada sapi adalah XO. Baru akhirnya Kralinger (1931) yang pertama kali menemukan bahwa kromosom sapi adalah 60 pada sel spermatogonia, dan kromosom seks sapi jantan adalah XY. Akhirnya dengan ditemukannya *phytohemagglutinin* (PHA) pada tahun 1960 maka penelitian kromosom mengalami kemajuan yang lebih pesat lagi. PHA adalah zat mitogenik yang menyebabkan leukosit darah berubah menjadi sel-sel *blast* dan memasuki siklus pembelahan sel, dan leukosit dari subyek yang normal dan tidak sakit mampu membelah dengan frekuensi yang cukup besar untuk dipelajari.

2.3. Kelainan Kromosomal pada Sapi

Kromosom ternak sudah diteliti sejak awal abad ke 20. Selama lima puluh tahun pertama dalam abad ini sebenarnya tekniknya belum berkembang secara baik, sehingga umumnya hasil pembuatan preparatnya jelek dan pengerjaannya juga memerlukan waktu yang lama. Waktu itu hasil yang ditemukan belum menggambarkan jumlah dan struktur kromosom ternak yang benar. Baru setelah awal dekade 50-an dengan ditemukannya teknik kultur jaringan dan *colchicin*

colcemid (yang sudah sejak sebelumnya diketahui dan dipakai dalam penelitian biologi yang lain), akhirnya jumlah dan morfologi kromosom beberapa hewan dapat diidentifikasi agak lebih jelas.

Kemudian ditemukan juga oleh Hsu dan Pomerat (1953) bahwa sel-sel hidup yang diberi perlakuan dengan larutan hipotonik dapat membengkak dan menyebar sehingga dengan mikroskop yang konvensional saja mudah terlihat.

Kelainan kromosomal pada ternak banyak dihubungkan dengan gangguan reproduktif. Knudsen (1958) secara eksperimental dengan mengamati kromosom meiotik pada sapi jantan menemukan adanya hubungan dengan kelainan reproduktif. Meskipun sitogenetika ternak dalam hubungannya dengan reproduksi sudah diketahui beberapa tahun setelah diketahuinya hal yang sama pada manusia, namun kejelasannya sampai saat terakhir ini pun masih seringkali diragukan. Setelah ditemukannya *phytohemagglutinin* (PHA) yang dapat memacu mitosis sel limfosit darah perifer maka penelitian bidang sitogenetika ternak mengalami kemajuan yang pesat (Moorehead *et al.*, 1960).

Pada dekade 60-an ditemukan beberapa kelainan kromosomal yang dihubungkan dengan kematian embrional, kelainan bentuk (*mal-formasi*), perkembangan seksual yang abnormal, dan menurunnya fertilitas pada beberapa jenis ternak. Banyak perhatian terutama ditujukan pada kelainan dalam bentuk translokasi antara kromosom no.1 dan 29 yang kemudian dikenal sebagai *Robertsonian translocation* pada sapi yang dihubungkan dengan rendahnya

fertilitas. Kemudian Gustavsson (1979) yang sudah menemukan banyak kasus kelainan translokasi Robertsonian berani menganjurkan untuk eradikasi sapi sapi dengan indikasi kelainan kromosomal tersebut.

Dekade 70-an ditandai dengan introduksi sistem pemetaan (*banding techniques*) untuk mengidentifikasi kromosom dan kelainan kromosomal yang lebih jelas lagi. Pada tahun 1976 dalam konferensi sitogenetika ternak di Reading ditetapkan standar karyotipe pada berbagai macam ternak dengan pemetaan G (Ford *et al.*, 1980).

Karena performans reproduktif pada ternak merupakan salah satu sifat yang penting dan merupakan sifat heriditer individual yang peka, maka semua gangguan reproduktif harus dianggap sebagai problem yang serius.

Pada kromosom dikenal adanya dua macam kelainan, numerik dan struktural. Kelainan numerik (*heteroploidy*) dapat berpengaruh baik pada seluruh kromosom yakni multiplikasi seluruh pasangan kromosom haploid (*euploid heteroploidy*) dan kromosom individual (*aneuploid heteroploidy*). Heteroploidi baik yang euploidi dan anaeploidi dapat terjadi pada sel somatik pada pembelahan pematangan oosit maupun spermatosit.

Heteroploidi euploid yang asli sebenarnya tidak pernah dijumpai pada ternak yang dilahirkan hidup, kecuali pada ayam (Abdel-Hameed and Shoffner, 1974). Tipe heteroploidi euploidi yang triploidi ($3n$) tampaknya merupakan yang paling penting dan dapat berasal dari sebuah ovum diploid, atau dari kontribusi paternal dalam bentuk fertilisasi ganda oleh dua spermatozoa, atau dengan

proses yang lain. Tetraploidi ($4n$) sangat jarang ditemukan sebab kejadiannya pada tingkat embriogenesis yang sangat dini.

Heteroploidi aneuploid dapat terjadi baik pada meiosis maupun mitosis, dan hasilnya adalah trisomi ($2n + 1$) dan monosomi ($2n - 1$). Aneuploidi autosomal tampaknya lebih sering terjadi pada stadium prenatal dibanding dengan pada postnatal dan kondisi trisomik lebih banyak hidup dibanding dengan monosomik. Beberapa tipe aneuploidi pada kromosom seksual yang pernah dijumpai pada sapi antara lain adalah XXX yang menyebabkan terjadinya hipoplasia ovarial atau sama sekali tidak menunjukkan efek apa pun. Kasus XXY mengakibatkan terjadinya hipoplasia testikuler. Sedangkan XXY/XY menimbulkan akibat interseksualitas. Bahkan pernah ditemukan juga kasus XXY/XX/XY dan XXY/XY/XO yang mengakibatkan hipoplasia testikuler (Rieck, 1984).

Kelainan kromosom yang struktural dapat berupa delesi dan duplikasi, inversi, dan translokasi. Delesi dan duplikasi merupakan kelainan kromosom yang terpotong yang mengakibatkan terjadinya kehilangan atau penggandaan autosom. Pada ternak lebih sering ditemukan duplikasi, namun delesi juga ditemukan pada fase embrional dini (Gustavsson, 1979).

Inversi yang berarti pemutaran segmen kromosom 180° jarang ditemukan pada ternak. Sedangkan translokasi yang merupakan perubahan segmen kromosom dari posisi normalnya ke posisi menempel pada kromosom yang lain. Translokasi tersebut dapat melahirkan beberapa macam bentuk seperti misalnya translokasi yang

resiprokal yakni terjadinya pertukaran antara segmen-segmen terminal antar kromosom-kromosom yang homolog. Translokasi yang paling umum terdapat pada ternak adalah fusi sentrik atau translokasi Robertsonian, yakni terjadinya penggabungan dua kromosom yang masing-masing satu lengannya saling melekat sehingga menjadikan dua kromosom yang berlengan satu menjadi sebuah kromosom yang berlengan dua. Pada sapi kejadian translokasi ini dikenal 10 macam kombinasi, namun yang paling banyak adalah antara kromosom no.1 dan kromosom no.29. Beberapa translokasi fusi sentrik pada beberapa bangsa sapi yang pernah ditemukan antara lain 1/29 pada beberapa bangsa sapi, 13/21 pada Friesian Holstein, 11-12/15-16, 1/25 atau 13/21 pada Simmental, 7-11/20-25 pada Aquitane Blond, 27/29 pada Guernsey, 3/4 pada Limousin, dan 8/9 pada sapi Brown Swiss (Gustavsson, 1979 yang mengutip dari beberapa kepustakaan).

BAB III

MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Bahan Penelitian

Untuk memperoleh gambaran karyotipe kromosom sapi telah diambil darah perifer dari vena jugularis di daerah leher atau arteria caudalis di pangkal ekor sebelah medial. Pengambilan darah sapi dilakukan pada sapi-sapi pejantan, penghasil semen buahi yang dipelihara di Balai-balai Inseminasi Buatan Singosari (Malang) dan Lembang (Bandung). Semua pembuatan preparat kromosom dan analisisnya dilakukan di Surabaya di Laboratorium Produksi Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2. Prosedur Penelitian

Sebanyak kurang lebih 10 ml darah dari setiap ekor sapi yang diambil dengan menggunakan venoject (10 ml) steril yang sudah berisi heparin (1.000 IU/ml) dibawa ke laboratorium dalam termos es (4 - 5°C). Pelaksanaan pekerjaan laboratorik harus sudah dimulai dalam waktu kurang dari 24 jam setelah pengambilan darah.

Darah disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 1.000 rpm untuk memisahkan antara serum dan butir darahnya, yang di antaranya terdapat lapisan yang disebut *buffy coat* yang dikenal sebagai yang mengandung limfosit paling banyak.

Pembuatan preparat kromosom yang berasal dari limfosit darah dikerjakan menurut modifikasi cara yang pernah dikembangkan oleh Sumner (1977). Di laboratorium telah disiapkan tabung-tabung

steril bertutup yang telah diisi dengan :

- 8 ml media RPMI-1640,
- 1,5 ml serum anak sapi (*Calf Bovine Serum, CBS*),
- 0,4 ml PHA (*Phytohemagglutinin*) dan
- 0,1 ml Penstrep.

Ke dalam masing-masing tabung yang telah diberi tanda nomor identitas sapi yang diambil darahnya ditambahkan cairan yang diisap dari lapisan *buffy coat* sebanyak kurang lebih 1 ml. Tabung-tabung yang sudah berisi media, CBS, PHA, antibiotika, dan darah ditutup rapat dan diinkubasikan dalam inkubator dengan suhu 37-38 °C selama 70 jam. Semua pekerjaan harus dilakukan dalam keadaan steril. Selama masa inkubasi tabung-tabung dikocok pelan dua kali setiap hari.

Pada jam ke 70 ke dalam setiap tabung ditambahkan 0,1 ml *colcemid* (10 µg/ml) dan diinkubasikan lagi selama dua jam. Panen sel dilakukan pada jam ke 72 dengan mensentrifugasikan selama 10 menit/1.000 rpm. Cairan supernatan yang bening dibuang (*aspirasi*), dan kemudian ditambahkan 8 ml larutan hipotonik KCl 0,075 M yang sebelumnya sudah dimasukkan dalam inkubator (agar suhunya sama dengan larutan media), dicampur sampai rata, dan kembali diinkubasikan selama kurang lebih 45 menit. Disentrifugasi lagi selama 10 menit/1.000 rpm. dan cairan supernatan diaspirasi dan ditambahkan 5 ml larutan fiksator yang terdiri dari Metanol dan Asam asetat glasial dengan perbandingan 3 : 1 dan dicampur rata. Sentrifugasi dan aspirasi dilakukan.

berkali-kali dengan larutan fiksator sampai endapan yang tertinggal dan cairan supernatan berwarna putih dan bening. Hasil aspirasi terakhir disisakan cairan supernatannya sedikit, diaduk dengan pipet Pasteur dan diisap kemudian diteteskan pada gelas obyek yang basah dan dingin dengan jarak kurang lebih 25-30 cm di atas gelas obyek agar tetesan terpecah rata.

Preparat dikeringkan di udara terbuka dan diwarnai dengan larutan Giemsa 2% (larutan Giemsa pekat dalam larutan penyangga Sørensen A dan B yang terdiri dari KH_2PO_4 dan $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan pH 6,8 selama 7-8 menit dan dikeringkan di udara terbuka. Setelah kering preparat sudah dapat dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 1.000 kali dengan minyak imersi, dipilih beberapa gambar kromosom yang bagus dan dipotret.

3.3. Analisis Kromosom

Potret kromosom yang baik dibesarkan sampai 5R dan gambar kromosom dipotong-potong dan diatur berpasang-pasangan menurut urutan panjangnya lengan kromosom untuk menggambarkan nomor kromosom dari 1 sampai dengan 29 plus kromosom seksnya XY (Ford et al., 1980).

Gambar kromosom diteliti terhadap kemungkinan adanya perubahan struktural atau numerik. Dikhususkan pada adanya pleuridi pada kromosom seks (jumlah autosom yang lebih dari dua dalam pasangannya) atau adanya translokasi antara autosom-autosom tertentu.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

BAB IV

H A S I L D A N P E M B A H A S A N

* Jumlah sampel darah sapi yang terambil dari kedua Balai Inseminasi Buatan adalah sebanyak 74 ekor dari Singosari yang terdiri dari sebagian besar sapi-sapi lokal (Bali, Onggole dan Madura) sedikit Brahman, Brangus, dan Friesian Holstein; dan 42 ekor dari Lembang yang sebagian besar sapi impor (Limousin, Simmental, dan Friesian Holstein) dan beberapa ekor sapi lokal (Onggole, Peranakan Ongole dan Sumba Ongole).

Jumlah sapi-sapi pejantan penghasil semen beku yang dipelihara di BIB Singosari sebenarnya seluruhnya 64 ekor namun yang aktif digunakan dalam pengambilan semen hanya 55 ekor, yang 9 ekor selebihnya di *culled*. Sedangkan yang ada di BIB Lembang seluruhnya terdapat 81 ekor. Dari jumlah sampel darah yang terambil yang berhasil diperoleh gambaran kromosom yang cukup baik dari BIB Singosari hanya 32 buah (43,24%) sedangkan dari BIB Lembang hanya 17 buah (40,48%). Untuk diketahui bahwa beberapa di antara jumlah sapi-sapi yang disebut telah diambil darahnya lebih dari satu kali yang disebabkan karena kegagalan dalam pembuatan preparat.

Dari hasil pengamatan pada semua preparat darah ternyata tidak terdapat satu pun karyotipe yang mengandung kelainan kromosomal baik numerik maupun struktural. Berdasarkan jumlah kromosomnya, setiap gonosom mengandung 29 pasang autosom yang

akrosentrik, satu kromosom X yang besar, metasentrik, dan satu kromosom Y yang sangat kecil dan akrosentrik/metasentrik. Hal tersebut sesuai dengan apa yang disepakati dalam *Reading Karyotype Conference* 1976 yang menetapkan gambaran karyotipe yang baku dengan teknik pemitaan G untuk ternak, termasuk sapi (Ford *et al.*, 1980).

Tentang tidak ditemukannya kelainan kromosomal pada sapi-sapi di kedua Balai Inseminasi Buatan yang diteliti, hal ini mungkin disebabkan antara lain karena pembuatan preparat tidak seluruhnya menghasilkan preparat yang bagus untuk dapat dianalisis. Kegagalan dalam pembuatan preparat umumnya dapat disebabkan karena kontaminasi, reagensia yang kurang baik, kesalahan teknik di laboratorium, dsb. Hal ini sesuai dengan pendapat beberapa peneliti yang menyatakan bahwa pembuatan preparat kromosom sapi sampai saat ini masih sering dialami kesulitan (Eldridge, 1985). Masing-masing laboratorium rupanya mempunyai pengalaman yang berbeda sehingga metode-metode yang digunakan juga harus mengalami modifikasi seperlunya.

Juga pengambilan sampel darah yang direncanakan 100 persen dari jumlah sapi yang ada di kedua BIB tersebut terpaksa tidak dapat dilaksanakan antara lain disebabkan oleh adanya keberatan dari pihak BIB sehubungan dengan tingkat "gangguan" pada sapi-sapi pejantan yang secara rutin harus diambil semennya. Untuk diketahui bahwa pengambilan darah pada sapi apalagi sapi-sapi pejantan yang demikian besar ukuran tubuhnya dan

umumnya masih agak sulit untuk dikendalikan (galak), tidak semudah seperti yang dibayangkan. Untuk membawa keluar dari kandangnya dan memasukkan ke dalam kandang jepit (*cattle crush*) saja cukup sulit, dan memerlukan waktu yang kadang-kadang menimbulkan keengganan pada petugas kandang yang membantu di lapangan.

Dari segi pengambilan darahnya saja sebenarnya tidak terlalu mengganggu, namun dari usaha untuk memfiksasi sapi-sapi sendiri yang seringkali menimbulkan ketegangan (*stres*) yang sangat dihindari untuk sapi-sapi yang secara rutin harus diambil semennya. Sapi-sapi produsen semen beku tersebut sudah terbiasa hidupnya dalam keadaan tenang tersendiri dalam kandangnya, dan hanya sekali-sekali saja dikeluarkan menuju kandang perkawinan untuk mengawini sapi betina atau *fantom* yang telah disediakan. Dalam pelaksanaannya bahkan seringkali harus diulangi pengambilan darah dari satu sapi yang sama. Gambar kromosom dan karyotipe tiga ekor sapi yang mewakili bangsa Bali, Madura dan *Bos taurus* dapat dilihat pada gambar-gambar no. 1 sampai dengan 3.

Dibanding dengan yang telah banyak dilakukan di beberapa negara Eropa, ternyata juga persentase sapi-sapi jantan yang mempunyai kelainan kromosomal khususnya yang berhubungan dengan rendahnya fertilitas (*translokasi Robertsonian*) hanya sedikit saja. Misalnya Gustavsson (1969) menemukan selama tahun-tahun 60-70an persentase untuk sapi jantan dari seluruh populasi sapi di Swedia hanya 12-14% saja. Sepintas lalu tampaknya jumlah ini,

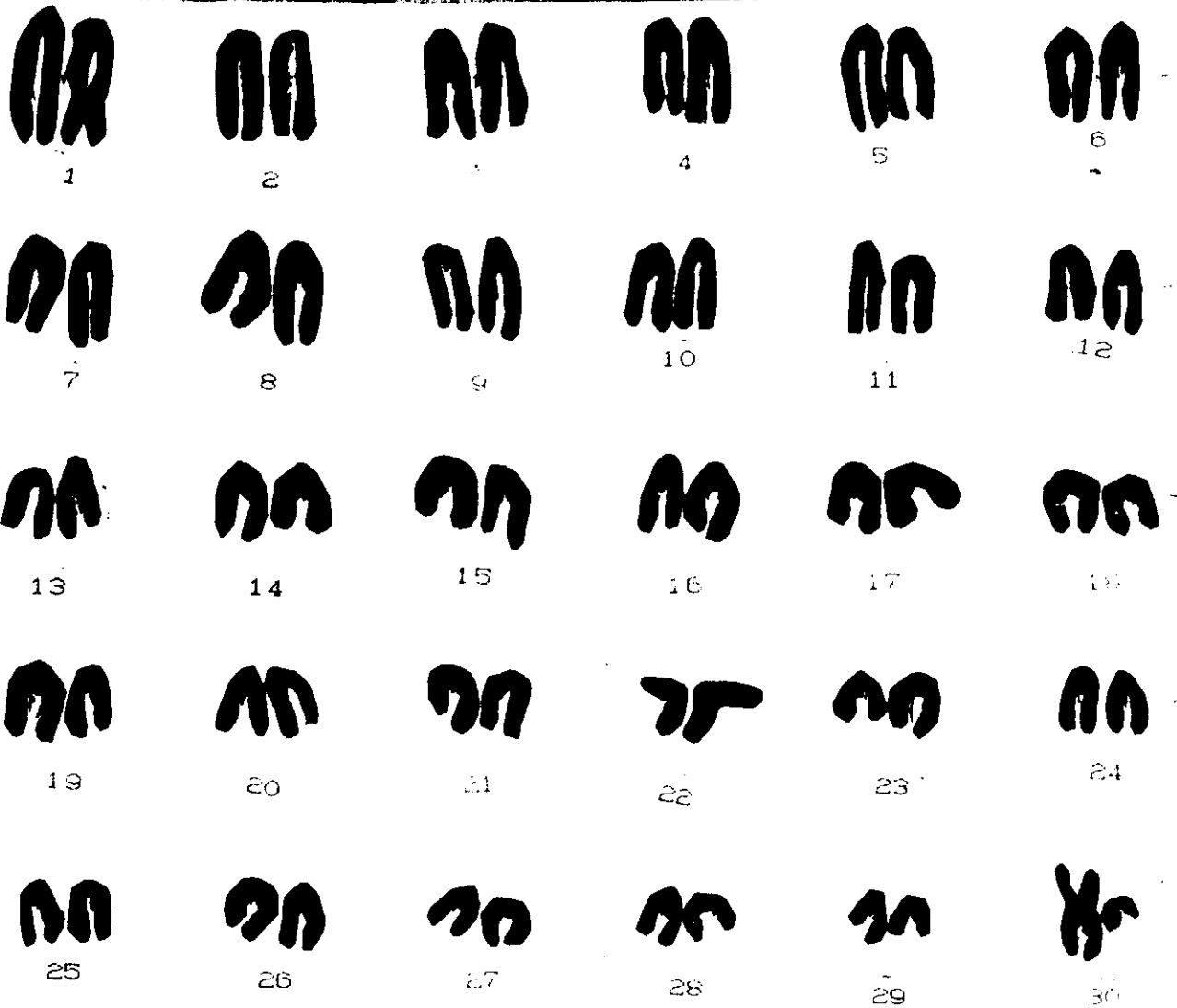
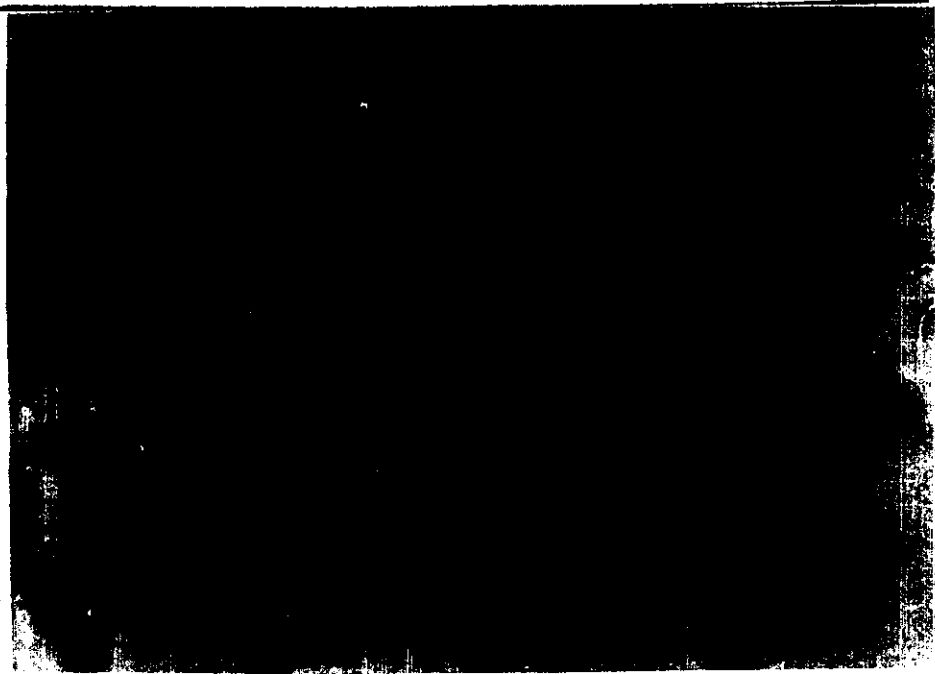
tidak terlalu besar, namun dalam skala nasional hal tersebut sudah membawa kerugian yang cukup berarti dengan rendahnya tingkat fertilitas sapi secara keseluruhannya. Untuk eradikasi sapi-sapi yang mempunyai kelainan kromosomal tersebut di Swedia diperlukan waktu 15 tahun.

Gustafsson *et al.* (1985) dalam penelitiannya pada 28 ekor sapi dara yang kurang subur (*Repeat Breeder Heifer*) menemukan dua di antaranya pembawa sifat translokasi 1/29. Demikian pula Garry *et al.* (1991) menemukan di antara 130 ekor sapi pejantan *Bonde d'Aquitaine* di Perancis yang dianalisis karyotipenya terdapat 22% sebagai pembawa sifat translokasi 1/29 dan satu di antaranya adalah pembawa sifat yang homosigot. Mereka juga memastikan bahwa sapi-sapi dengan translokasi Robertsonian berpengaruh jelek pada pada fertilitas.

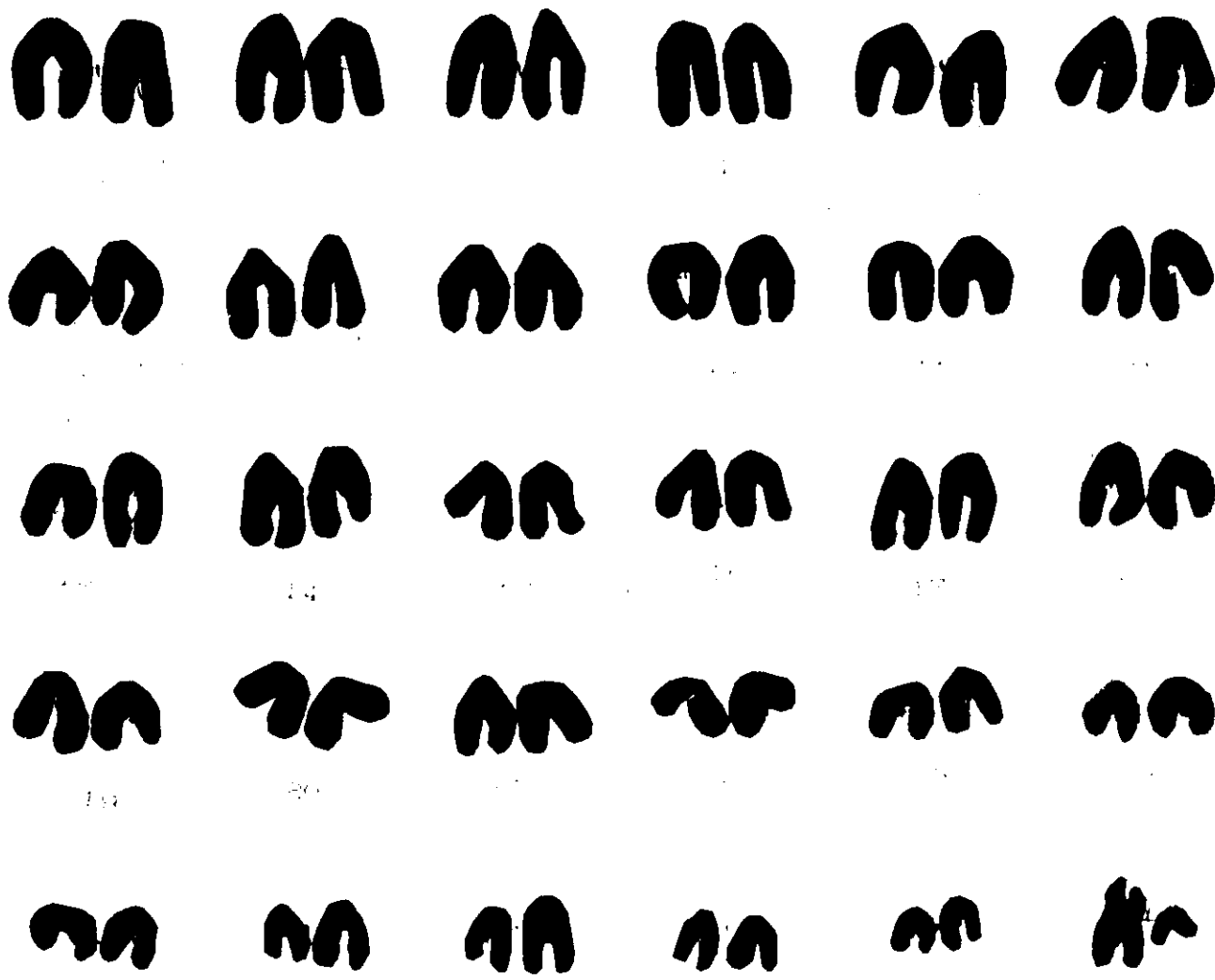
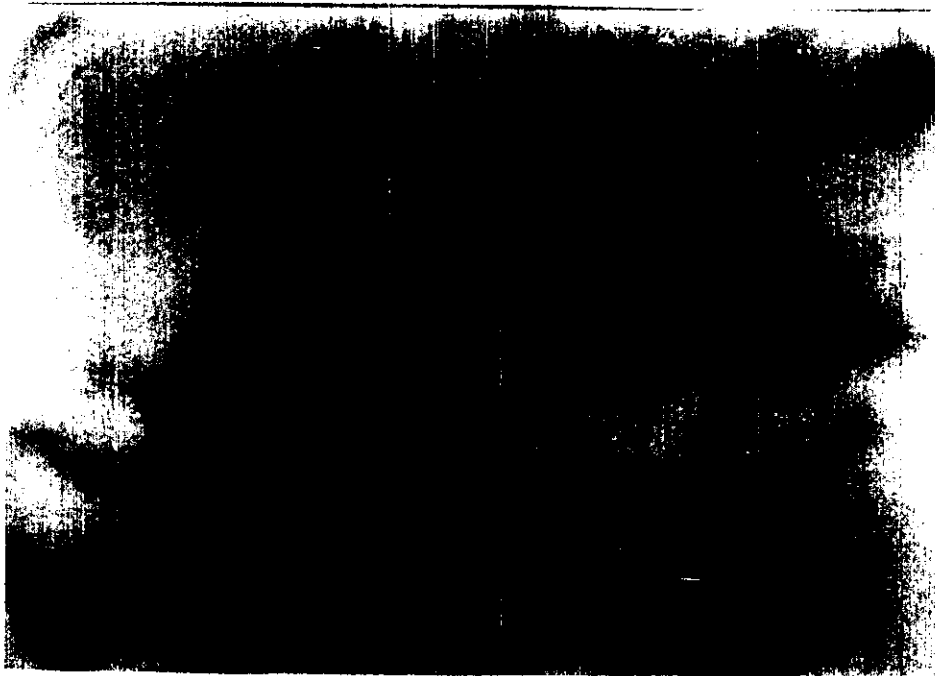
Dengan mengingat rendahnya persentase adanya kelainan kromosomal sapi-sapi pada tingkat populasi nasional di Swedia (12-14%) atau dari sapi-sapi yang sudah diketahui mempunyai tingkat fertilitas yang rendah (*repeat breeder*) yang 2/28 (7.1%), maka temuan dalam penelitian ini yang menyatakan bahwa pada sapi-sapi pejantan penghasil semen beku di BIB Singosari dan Lembang tidak terdapat kelainan kromosomal adalah masih wajar. Apalagi hal tersebut masih ditambah lagi dengan faktor-faktor tingkat keberhasilan pembuatan preparat yang masih rendah dan jumlah sapi yang diambil darahnya sebagai sampel yang belum 100 persen dari seluruh populasi sapi yang ada di kedua BIB tersebut.

Dengan meningkatkan keberhasilan dalam pembuatan preparat, menganalisisnya yang lebih cermat dan pengambilan sampel darah dari semua sapi yang ada, kiranya masih dimungkinkan akan ditemukannya kelainan kromosomal pada sapi-sapi penghasil semen beku yang ada di kedua BIB Lembang dan Singosari.

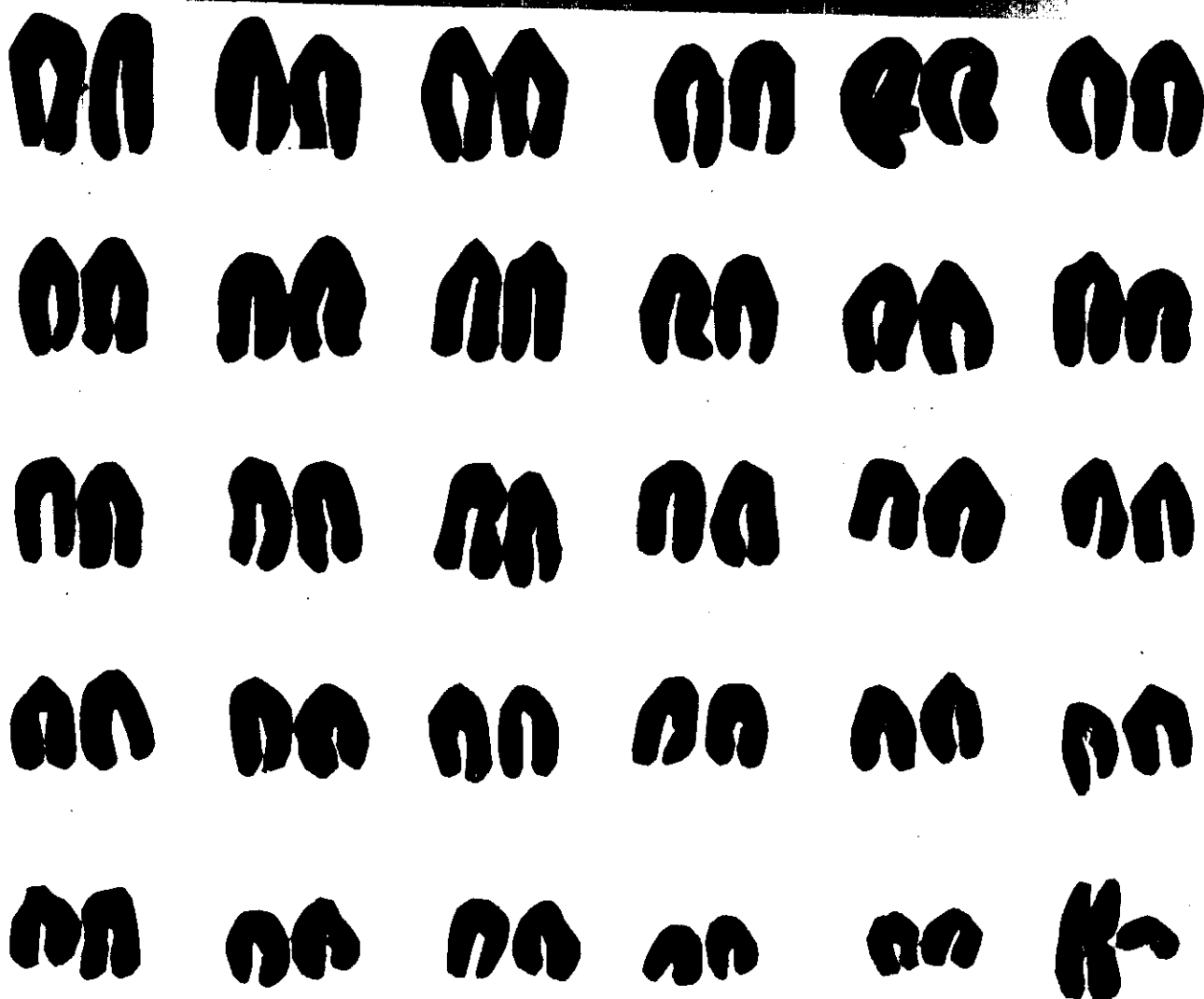
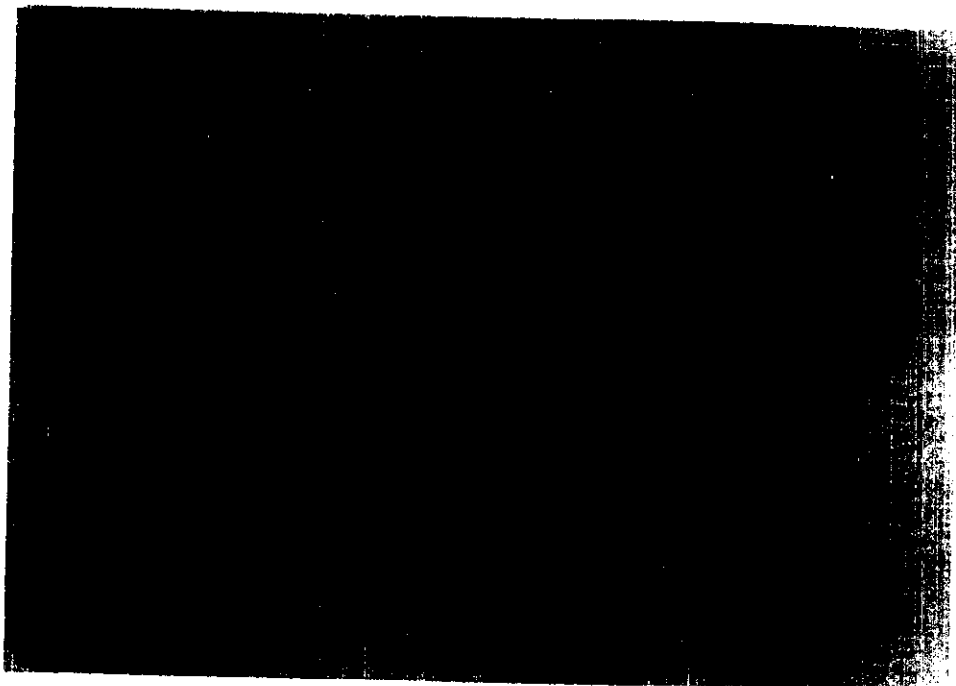
Sehubungan dengan hal tersebut, untuk mencegah adanya kelainan kromosomal masih sangat perlu dianjurkan untuk menambahkan lagi satu persyaratan bagi calon pejantan penghasil semen beku agar melalui pemeriksaan analisis sitogenetik sebelum digunakan secara aktif di Balai Inseminasi Buatan. Di beberapa negara maju hal tersebut sudah banyak dilakukan seperti misalnya di Polandia telah sejak lama diberlakukan peraturan yang mengharuskan pemeriksaan karyotipe terhadap sapi-sapi jantan yang akan digunakan sebagai pejantan inseminasi buatan (Sysa and Slota, 1992). Setelah dilakukan penelitian yang menyeluruh pada tahun-tahun 1990-1991, ditemukan dari 2.287 ekor sapi pejantan dari stasiun Inseminasi Buatan di Polandia ditemukan 15 kasus kimerisma 60,XX/60,XY, dan 12 kasus sapi pembawa translokasi 1/29 (satu ekor homosigot).



Gambar 1. Kromosom dan Karyotipe sapi Bali jantan.



Gambar 2. Kromosom dari hasil uji perisapi Madura jantan



Gambar 3. Kromosom dan Banding tipe sapi & kambing

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB V

K E S I M P U L A N D A N S A R A N

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa dari sebagian sapi-sapi pejantan penghasil semen beku yang telah berhasil diambil darahnya dan dapat dianalisis karyotipe kromosomnya di kedua Balai Inseminasi Buatan Singosari dan Lembang tidak ditemukan adanya kelainan kromosomal.

Namun demikian, mengingat tingkat keberhasilan pengambilan darah dan pembuatan preparat kromosom sapi sampai dengan dimungkinkan menganalisisnya yang demikian rendah (Singosari 42,24%, dan Lembang 40,48%) tidak tertutup kemungkinan untuk terdapatnya kelainan kromosomal (sitogenetik) pada sapi-sapi yang digunakan di kedua Balai Inseminasi tersebut.

Untuk itu perlu disarankan agar penelitian semacam ini terus menerus dilakukan pada sapi-sapi penghasil semen beku (atau calon) dengan jumlah sampel yang lebih banyak dan teknik pembuatan preparat kromosom yang lebih baik. Dengan demikian pemeriksaan sitogenetik akan dapat digunakan dalam menilai layak tidaknya calon pejantan tersebut sebagai penghasil semen beku di Balai Inseminasi Buatan di samping kriteria yang telah ditetapkan selama ini.

DAFTAR PUSTAKA

D A F T A R P U S T A K A

- Anonimus, 1993. Pembangunan Peternakan dalam Pembangunan Jangka Panjang ke II. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- Eldridge, F.E. 1985. Cytogenetics of livestock. Avi Publ. Co. Inc. Westport, Connecticut.
- Ford, C.E., D.L. Pollock, and I. Gustavsson, (Eds). 1980. Proceeding of the First International Conference for the Standardisation of banded karyotypes of domestic animals. Hereditas 92, 145-162.
- Garry, F., D. Concordet, H.M. Berland, X. Berthelot, and R. Darre, 1991. 1/29 Robertsonian translocation in Blonde D'Aquitaine bulls : frequency and effects on semen characteristics. Genet. Sel. Evol. 23. Suppl. 1, 117-119.
- Gustafsson, H., K. Larson, and I. Gustavsson. 1985. Karyotype and morphological and histological alterations of the genital tracts of repeat breeder heifers with known breeding history. Acta vet. scand. 26, 1-12.
- Gustavsson, I. 1969. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. Hereditas 63, 66-169.
- _____, 1979. Chromosome aberrations and their influence on the reproductive performance of domestic animals - a review. Sonderdruck aus Zeitschrift für Tierzüchtungs und Züchtungsbiologie Bd. 97, H. 3, S. 176-195.
- Hedah, D. 1993. Peranan Balai Inseminasi Buatan Singosari dalam peningkatan mutu sapi Madura melalui inseminasi buatan. Prosiding Pertemuan Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Sapi Madura. Sub Balai penelitian Ternak Grati.
- Hsu, T.C., and C.M. Pomerat, 1953. Mammalian chromosomes in vitro. II. A method for spreading of chromosomes of cells in culture. J. Hered. 44, 23-29.
- Knudsen, O. 1958. Studies on spermiocytogenesis in the bull. J. Fertility 3, 389-403.
- Moorehead, P.S., P.C. Nowell, J. Mellman, D.M. Battips, and D.A. Hangerford, 1960. Chromosome preparations of leucocyte cultured from peripheral blood. Exp. Cell. Res. 20, 613-616.

- Rieck, G.W. 1984. *Allgemeine Veterinärmedizinische Genetik. Zytogenetik und allgemeine Teratologie.* Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- Sumner, A.T. 1977. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* 75, 304-306.
- Sysà, P.S. and E. Slota, 1992. The investigation of karyotype in cattle within the new system of cytogenetic control of bulls in Poland. 10 th Eur. Coll. on Cytogenetics of Domestic Animals.
- Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi reproduksi pada ternak.* Angkasa. Bandung.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Daftar reagensia yang digunakan

Heparin (*Leo Pharmaceutical*)

Medium RPMI-16740 (*Flow Lab.*)

Bovine Fetal Calf Serum (*Flow Lab.*)

PHA (*Phytohemagglutin M.*, *Gibco BRL*)

Pencillin/Streptomycin (*Gibco BRL*)

Larutan hipotonik KCl 0,0075 M. (5,600 gr KCl dalam 1.000 ml aqua tridest)

Larutanm penyangga adalah campuran dari

Sörensens A : 9,07 gr KH_2PO_4 dalam 1.000 ml aqua tridest.

Sörensens B : 11,87 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 1.000 ml aqua tridest.

Untuk memperoleh larutan penyangga dengan pH 6,8 dicampurkan

Sörensens A (1/15 M) dan Sörensens B (1/15 M) dengan perbandingan

49,2 : 50,8.

Larutan Fiksator :

Campuran antara *Methanol* (*Merck*) dan *Acetic Glacial Acid* 100%

(*Merck*) dengan perbandingan 3 : 1.