

RAGI PADA SEMEN SAPI

SUDARISMAN, SUKARDI HASTIONO, PADERI ZAHARI, LILY NATALIA & DJAENUDIN GHOLIB

Balai Penelitian Penyakit Hewan, Bogor

ABSTRAK

Sebanyak 20 contoh semen segar dari 20 ekor sapi pejantan bibit diuji terhadap adanya ragi. 13 species ragi dapat diisolir dari semen tersebut. *Candida parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* dan *C. krusei* dapat diisolir dari enam ekor sapi (30%). Sebanyak 15 ekor (75%) menunjukkan adanya ragi dalam semennya.

PENDAHULUAN

Telah diketahui bahwasanya ragi (khamir) merupakan organisme yang secara alami dapat ditemui pada alat reproduksi sapi (Brown *et al.* 1974, Hajsig *et al.* 1962, Panangala *et al.* 1978, Richard *et al.* 1975, Wawrkiewicz & Galeza 1972). Species dari *Candida* telah pula diisolir dari vagina, serviks maupun uterus (Hajsig *et al.* 1962, Wawrkiewicz & Galeza 1972) dan beberapa species dari *Candida* diduga dapat mengakibatkan endometritis yang ringan sampai berat (Abougabal *et al.* 1977, Hajsig & Kopljar 1964) atau dapat pula sebagai penyebab dari keguguran (Ainsworth & Austwick 1973).

Isolasi *C. guilliermondii* (Brown *et al.* 1974), *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis* dan *C. sake* (Richard *et al.* 1975; Wawrkiewicz & Galeza 1972) dari semen telah pula dilaporkan, dan Ainsworth & Austwick (1973) menyatakan bahwa kemungkinan ragi ini sebagai penyebab dari terjadinya infeksi pada uterus sapi.

Kemungkinan bahwa semen yang telah terkontaminasi oleh ragi merupakan agent yang terpendam yang dapat mengakibatkan infeksi pada uterus, mengarahkan pemikiran kita untuk menumbuhkan (culture) semen dari sapi pejantan bibit untuk diketahui adanya ragi.

MATERI DAN METODE

Contoh semen. Sebanyak 20 contoh semen dari 20 ekor sapi yang berlainan jenisnya (breed) didapat dari peternakan rakyat dan Pusat Inseminasi Buatan Lembang, Bandung (Tabel 1). Pengambilan contoh dilakukan selama satu minggu survei di daerah Lembang, Bandung mulai tanggal 18 Februari 1982. Keseluruhan contoh merupakan semen segar, langsung diambil dengan menggunakan vagina buatan.

Isolasi ragi. Dari 0.1 sampai 0.2 ml contoh semen diambil dan dipupuk pada piring petri media Sabouraud's Dextrose Agar (SDA). Untuk meratakan cairan di atas permukaan media agar digunakan spatel gelas steril. Pupukan diinkubasi pada 37°C (suhu kamar) selama dua minggu. Koloni yang tumbuh dihitung dan koloni ragi yang kelihatan berlainan bentuk dan warnanya dipupuk kembali pada SDA untuk mendapatkan pupukan murninya. Pupukan pada Corn Meal Agar

dari semua pupukan murni digunakan untuk mengetahui bentuk mycelium dan bentuk yang khas dari pupukan.

Fermentasi test. Test fermentasi yang digunakan adalah menurut metode modifikasi dari metode Thompson (1969). Semua tabung dipupuk dengan dua loopfull ose inokulum. Pupukan diinkubasi pada 25°C (suhu kamar) selama 14 hari. Gula-gula yang digunakan adalah glukose, sukrose, maltose, laktose, galaktose, trehalose dan raffinose.

Germ Tube test. Semua isolat diuji terhadap pembentukan *germ tube* dengan menginokulasikan pupukan murni pada serum kuda selama empat jam pada suhu 37°C, untuk mengetahui apakah *C. albicans* atau bukan.

Tabel 1. Jenis (breed) dan status sapi pejantan sebagai contoh

STATUS	JENIS (BREED)								
	F.H./Peranakan	Ongole	CHARBRAH	Santa Gestrudis	Brahman	Hereford	Siemental	Limousin	
Digunakan sebagai pemacek alam	1	0	0	0	0	0	0	0	1 ekor
Digunakan sebagai pejantan Inseminasi buatan	2	1	0	1	2	0	1	1	8 ekor
Pejantan muda	0	1	1	0	0	1	0	0	3 ekor
Pejantan bukan sebagai pemacek	7	0	0	0	0	0	0	0	7 ekor
Pejantan afkir	0	0	0	0	1	0	0	0	1 ekor
Jumlah	10	2	1	1	3	1	1	1	20 ekor

HASIL PENELITIAN

Dari hasil survei ternyata jenis sapi pejantan yang diambil contohnya adalah sebanyak 8 jenis (Tabel 1). Pejantan yang paling banyak diambil adalah dari sapi pejantan yang digunakan dalam inseminasi buatan, yaitu sebanyak delapan ekor. Sedangkan dari pejantan yang muda hanya 3 ekor, dan yang berasal dari pejantan yang sudah diafkir hanya satu ekor.

Pertumbuhan ragi didapati pada 15 contoh semen, sedangkan lima contoh semen lainnya yang tidak didapati ragi berasal dari Pusat Inseminasi Buatan sebanyak 4 ekor dan satu ekor lainnya berasal dari peternakan rakyat (Tabel 2).

Jumlah koloni yang tumbuh tiap 1 ml semen adalah 1 koloni (ini terdapat pada dua contoh semen) untuk yang terkecil dan yang terbesar adalah sampai tidak terhitung jumlahnya (melebihi dari 10.000 koloni tiap 1 ml). Jumlah koloni

terkecil tumbuh pada sapi dari peternakan rakyat dan sapi asal Pusat Inseminasi Buatan, sedangkan jumlah koloni yang terbesar berasal dari semen sapi asal peternakan rakyat (Tabel 2).

Sedangkan species ragi yang dapat diisolir dari contoh semen seperti yang terlihat pada Tabel 2, jumlah terbanyak adalah dari species *Candida* yaitu sebanyak 24 isolat. Ragi tidak bermycelium sebanyak 7 isolat, sedangkan *Rhodotorula rubra*, *Geotrichum candidum* berturut-turut empat dan satu isolat. *C. parapsilosis* tiga isolat, *C. guilliermondii* 2 isolat, sedangkan *C. tropicalis* dan *C. krusei* masing-masing satu isolat (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil isolasi ragi dari berbagai jenis semen sapi

No. contoh	CONTOH	Jenis (breed)	Koloni per 1 ml semen	<i>Candida</i> sp.	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. salmonicola?</i>	<i>C. veronae?</i>	<i>C. macedoniensis?</i>	<i>C. membranafaciens?</i>	<i>C. fredrichii?</i>	<i>C. sake?</i>	<i>C. tenuis</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	Ragi tidak bermycelium		ASAL SAPI	
1	BIB Rejo	CHB	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	negatif	Pusat Inseminasi buatan, Bandung
2	BIB 9703	SG	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	negatif		
3	BIB 5904	HF	50	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	positif		
4	BIB 2703	Ong	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	negatif		
5	BIB 2906	Ong	10	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	positif		
6	BIB 4908	Br	9850	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	positif		
7	BIB 4706	Br	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	positif		
8	BIB 4907	Br	5675	+	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	positif		
9	BIB 3805	FH	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	negatif		
10	BIB 6602	Sim	125	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	positif		
11	BIB 8302	Lim	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	positif		
12	BIB 3102	FH	1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	positif		
13	CAKRA	FH	190	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	positif	Peternakan rakyat	
14	BOLBA	FH	*	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	positif		
15	BORANG	FH	*	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	positif		
16	COCE	FH	1480	+	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	positif		
17	BENA	FH	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	negatif		
18	MISTER	FH	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	positif		
19	SUMBER	FH	130	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	positif		
20	SILIWANGI	FH	1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	positif		

* = melebihi 10.000 koloni per 1 ml semen.

PEMBAHASAN

Sebanyak 75% contoh semen menunjukkan adanya ragi di dalamnya. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan angka mendekati 50% (Richard *et al.* 1975, Wawrkiewicz & Galeza 1972). Hal ini mungkin lebih mencerminkan daerah tropis yang lebih subur terhadap tumbuhnya jenis-jenis cendawan tersebut sehingga angka kejadian lebih besar. Bila dilihat dari jumlah koloni yang dapat tumbuh, sapi-sapi pada peternakan rakyat tidak banyak berbeda dengan sapi-sapi asal Pusat Inseminasi Buatan Lembang, Bandung. Hal ini kemungkinan tidak adanya perbedaan perlakuan dalam penanganan sapi terhadap kontaminasi oleh ragi.

Hasil isolasi species ragi yang didapat memperlihatkan jumlah species yang cukup banyak dan beberapa di antaranya seperti *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* dan *C. sake* juga pernah dilaporkan oleh para peneliti terdahulu (Richard *et al.* 1975; Wawrkiewicz & Galeza 1972). Seperti diketahui *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* dan *Geotrichum candidum* pernah dilaporkan sebagai penyebab dari mycotic abortion (Ainsworth & Austwick 1975; Wohlgemuth & Knudtsen 1973). Sedangkan Meszaros *et al.* (1976) melaporkan bahwasanya *C. guilliermondii* sebagai penyebab dari vesiculitis dan epididymitis pada pejantan bibit. Demikian pula Sutka *et al.* (1978) mencobanya pada pejantan-pejantan bibit, dapat diperlihatkan adanya kejadian di atas bila diinfeksi pada pejantan.

Dari hasil penelitian ini memberikan informasi bagi kita berbagai kemungkinan terhadap adanya beberapa ragi yang mempunyai kemampuan untuk menimbulkan gangguan pada sistem reproduksi ternak-ternak kita. Baik itu pada pejuantannya sendiri maupun pada betina sebagai akseptor semen sapi pejantan yang telah terkontaminasi oleh ragi. Khususnya pada sapi-sapi yang digunakan sebagai pejantan bibit pada program kawin buatan. Adanya ragi dalam semen segar dari pejantan bibit memungkinkan terjadinya penyebaran agent penyebab dan kemungkinan dapat menimbulkan bahaya latent yang sewaktu-waktu dapat berakibat fatal. Gejala sub klinis yang ditimbulkan oleh beberapa jenis dari *Candida* (Panangala *et al.* 1978), mempersulit cara pengobatan maupun pemberantasannya. Dalam program kawin suntik yang telah dilaksanakan di New Zealand (Panangala *et al.* 1978), digunakan Mycostatine (Nystatine, Squibb) dalam pengawetan semen. Selain mencegah pengembangbiakan ragi dalam semen, juga dapat mengeliminir populasi ragi sampai: $10^5 - 10^6/ml$ bila dalam larutan semen ditambahkan 25 u/mm Nystatin. Juga Nystatin dengan jumlah tersebut dalam larutan tidak berakibat jelek terhadap kemampuan hidup dari spermatozoa (Panangala *et al.* 1978).

KESIMPULAN DAN SARAN

Dapat diisolir sebanyak 13 species ragi dari 20 contoh semen sapi yang diperiksa. Di antaranya adalah *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* dan *C. krusei*. Sebanyak 15 contoh semen dari 15 ekor sapi menunjukkan adanya ragi.

Penelitian tambahan dibutuhkan untuk menentukan sumber organisme dalam semen sapi serta patogenitas dari ragi di dalam rangka penelitian penyakit reproduksi pada sapi atau ternak ruminansia besar lainnya.

Dengan mengkesampingkan asal organisme, adanya organisme dalam semen sapi memberikan persoalan penting pula untuk bidang reproduksi ternak sesudah program inseminasi buatan.

DAFTAR PUSTAKA

- ABOUGABAL, M., R.M. HOGLE & J.K. WEST. 1977. Pyometra in a mare caused by *Candida rugosa*. Jour. Am. Vet. Med. Ass. 170: 177-178.
- AINSWORTH, G.C. & P.K.C. AUSTWICK. 1973. Fungal Diseases of Animals. Commonwealth Agricultural Bureaux. England.
- BROWN, V.G., L.M. SCHOLLUM & B.D.W. JARVIS. 1974. Microbiology of bovine semen and artificial breeding practices under New Zealand conditions. N.Z. Jour. Agric. Res. 17: 431-442.
- HAJSIG, M. & M. KOPLJAR. 1964. Pilze-befund in den Genitalorganen in rindern und experimentelle infektion von Farsen mit einigen Candida-arten. 5th. Int. Congr. Anim. Reprod. and Artf. Insm. 51: 237-241.
- HAJSIG, M., Z. SETINSKI & S. TOPOLKO. 1962. Yeast and yeast-like fungi in the genital organs of cows and heifers. Investigations on abattoir material. Vet. Archiv. 32: 232-236.
- MESZAROS, I., P. SUTKA, C. DOBOLYI & E. NOVAK. 1976. Bovine vesiculitis and epididymitis due to feed contamination by *Candida guilliermondii*. Act. Vet. Acad. Sci. Hung. 26: 201-207.
- PANANGALA, V.S., N.A. FISH & D.A. BARNUM. 1978. Microflora of the cervico-vaginal mucus of repeat breeder cows. Can. Vet. Jour. 19: 83-89.
- RICHARD, J.L., R.E. FICHTNER & A.C. PIER. 1975. Yeasts in bovine semen. Cornell Veterinarian. 66: 362-368.
- SUTKA, P. & I. MESZAROS. 1978. *Candida guilliermondii* infection in breeding bulls. Magjar Allatorvosok Lapja. 33: 151-154. (Dalam Index Veterinarius dan Vet. Bull. 1978).
- THOMPSON, J.C. 1969. Techniques for the isolation of the common pathogenic fungi. I. Deep mycosis and yeasts. Medium. The technical Jour. Vet. Lab. 2: 77-87.
- WAWRKIEWIEZ, K. & J. GALEZA. 1972. Mycotic flora in genital tracts of beef cattle and in the semen of bulls. Medycyna Weterynaryjna Rok. XXVIII 7: 424-426.
- WOHLGEMUTH, K. & W. KNUDTSON. 1973. Bovine abortion associated with *Candida tropicalis*. Jour. Amer. Vet. Med. Assoc. 162: 460-461.