

## KAJIAN HISTOKIMIA DISTRIBUSI KARBOHIDRAT PADA TESTIS SAPI SUMBA ONGOLE (*Bos indicus*)

*(Histochemical Studies of Carbohydrate Distribution on the Testis  
of Sumba Ongole Cattle (Bos indicus))*

**Filphin Amalo<sup>1\*</sup>, Ingrid Maha<sup>1</sup>, Heny Nitbani<sup>1</sup>, Cynthia Gaina<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Anatomi, Fisiologi, Farmakologi dan Biokimia, Fakultas  
Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana

<sup>2</sup>Laboratorium Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran dan  
Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana

\*Korespondensi e-mail: drh.filphin.amalo@gmail.com

### ABSTRACT

*Testis is the male reproductive organ that performs both endocrine and exocrine functions. This study aimed to determine the distribution of carbohydrates in the testis of sumba ongole cattle. The sample consisted of six testis were collected from East Sumba Slaughter House, fixed in formalin 10 %, processed histologically, and continued with AB pH 2,5 - PAS staining. The result showed a weak alcian blue intensity (+) in the tunica albuginea and moderate intensity (++) in the interstitial connective tissue, basement membrane, and connective tissue in the lumen of the seminiferous tubules. A strong intensity (+++) to PAS staining was seen in spermatogonia, spermatocytes, and myoid cells. Spermatids, spermatozoa, and sertoli cells showed a negative reaction (-). In the intertubular area, Leydig cells and fibroblasts showed a strong PAS reaction (+++), connective tissue showed a moderate reaction (++) . The intensity of the weak reaction (+) is indicated by the basement membrane of the seminiferous tubules. The variation in the distribution of acidic and neutral carbohydrates in the testis of sumba ongole cattle is correlated with the proliferation of different cell types and steroidogenic activity at various stages of testicular development.*

**Keywords:** *carbohydrates; histochemical; sumba ongole cattle; testis*

### PENDAHULUAN

Salah satu sapi potong yang potensial di Indonesia adalah sapi sumba ongole (SSO). Sapi ini perlu dijaga kelestariannya karena memiliki kekhasan tersendiri secara anatomi dan mampu beradaptasi di daerah semi ringkai. Kelestarian sapi sumba ongole merupakan hasil

yang didapatkan dari manajemen berbagai faktor pendukung, salah satunya adalah faktor reproduksi.

Organ-organ reproduksi merupakan organ yang memiliki peranan penting dalam mempertahankan kelestarian atau eksistensi hewan. Testis adalah

organ primer sistem reproduksi jantan. Testis terdapat diluar rongga tubuh dan berjumlah sepasang dan terbungkus oleh skrotum (Ross dan Pawlina, 2011). Testis merupakan tempat diproduksi sperma dan hormon seks yang berperan dalam reproduksi (Mescher, 2012).

Salah satu unsur yang dihasilkan oleh sel-sel spermatogenik dan sel sertoli adalah karbohidrat. Menurut Harris *et al.*, (2007), keberhasilan proses fertilisasi yaitu dalam mekanisme perlekatan spermatozoa dan oosit dipengaruhi oleh karbohidrat. Pola sebaran karbohidrat bisa terdeteksi dengan pewarnaan histokimia *Alcian Blue* dan *Periodic Acid Schiff* (AB-PAS). Kelompok karbohidrat asam dapat terwarnai dengan pewarnaan AB pH 2,5, sedangkan kelompok karbohidrat netral dapat terwarnai dengan pewarnaan PAS (Brancoft, 1967). Selain bisa mengetahui jenis karbohidrat yang disekresikan, karbohidrat yang terdistribusi pada jaringan juga dapat memperlihatkan implikasi fisiologi seperti

perkembangan dari fungsi sel tersebut, interaksi antar sel, proses diferensiasi, dan fase sintesis derajat kematangan (Mohamad *et al.*, 2001).

Kajian histokimia sebaran karbohidrat pada testis telah dilaporkan pada beberapa spesies hewan, diantaranya sapi lokal Bangladesh (Gofur *et al.*, 2008), kerbau (Aslam *et al.*, 2018), kuda (Shukla dan Rajput, 2019), dan domba (Shukla dan Rajput, 2021). Hingga saat ini belum ada informasi terkait sebaran karbohidrat pada testis SSO.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mendeteksi sebaran karbohidrat netral dan asam pada testis SSO. Penelitian ini diharapkan menjadi informasi dasar tentang pola sebaran karbohidrat pada testis sapi sumba ongole, membantu dalam mempelajari fungsi fisiologis sel-sel tubuh sapi sumba ongole, membantu dalam manajemen reproduksi serta dapat membantu penelitian-penelitian lainnya yang berkaitan dengan reproduksi jantan.

## MATERI DAN METODE

Sampel berupa enam organ testis sapi sumba ongole. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Mei 2021. Organ diambil dari SSO dewasa (umur 2-3 tahun) dengan kisaran berat potong 200-300 kg, yang dipotong di Rumah Potong Hewan Kabupaten Sumba Timur. Organ testis yang diambil adalah organ normal atau yang secara

makroskopik tidak mengalami perubahan. Masing-masing sampel dipotong dengan ketebalan  $\pm 5$  cm<sup>3</sup> kemudian dimasukan ke dalam formalin 10% sebagai larutan fiksatif. Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan histologi, pewarnaan AB (pH 2,5) - PAS, dan pengamatan mikroskopik di Laboratorium Anatomi, Fisiologi,

Farmakologi, dan Biokimia (AFFB) Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana.

Metode pewarnaan histokimia AB-PAS yang dilakukan mengacu pada Kiernan (2016). Reaksi positif AB ditandai dengan terbentuknya warna biru sedangkan reaksi positif

PAS ditandai dengan terbentuknya warna magenta. Kontrol slide positif kuat berdasarkan protokol *SkyTek Laboratories Inc.* Hasil pengamatan kemudian dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan distribusi karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada testis SSO.

Reaksi pewarnaan histokimia terhadap karbohidrat pada testis SSO dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Distribusi karbohidrat asam dan netral pada testis sapi sumba ongole

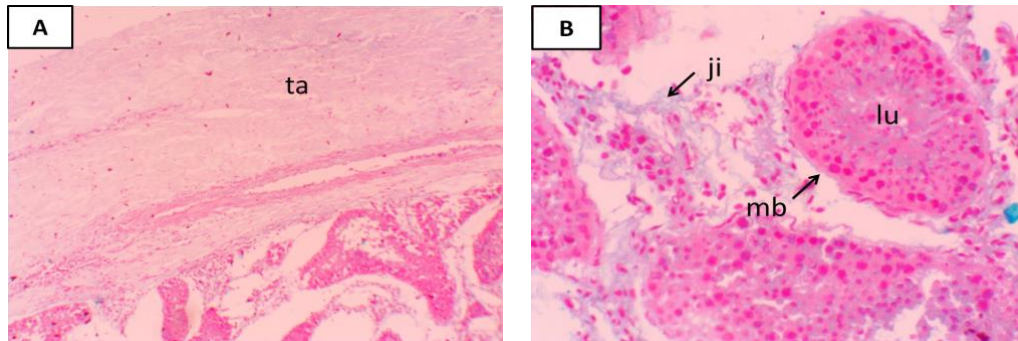
Struktur	Karbohidrat Asam	Karbohidrat Netral
Kapsula testis	+	-
Tubulus seminiferus		
- Spermatogonia	-	+++
- Spermatosit	-	+++
- Spermatid	-	-
- Spermatozoa	-	-
- Sel sertoli	-	-
- Sel myoid	-	+++
- Membran basal	++	+
- Jaringan ikat	++	-
Jaringan interstisial		
- Jaringan ikat	++	++
- Sel Leydig	-	+++
- Sel fibroblast	-	+++

Keterangan: Intensitas negatif (-), lemah (+), sedang (++), kuat (+++)

### Karbohidrat Asam

Pewarnaan histokimia menggunakan AB pH 2,5 memperlihatkan reaksi positif lemah (+) pada kapsula testis (tunika albuginea) dan reaksi positif sedang (++) pada jaringan ikat interstisial,

membran basal, dan jaringan ikat pada lumen tubulus seminiferus (Gambar 1). Temuan yang sama juga ditemukan pada kuda (Shukla dan Rajput, 2019) dan kambing (Pyne dan Sinha, 1989).



Gambar 1. Mikrofotografi testis sapi sumba ongole terhadap pewarnaan AB.  
ta: tunika albuginea, ji: jaringan ikat, mb: membran basal, lu: lumen.  
A = 10x, B = 40x.

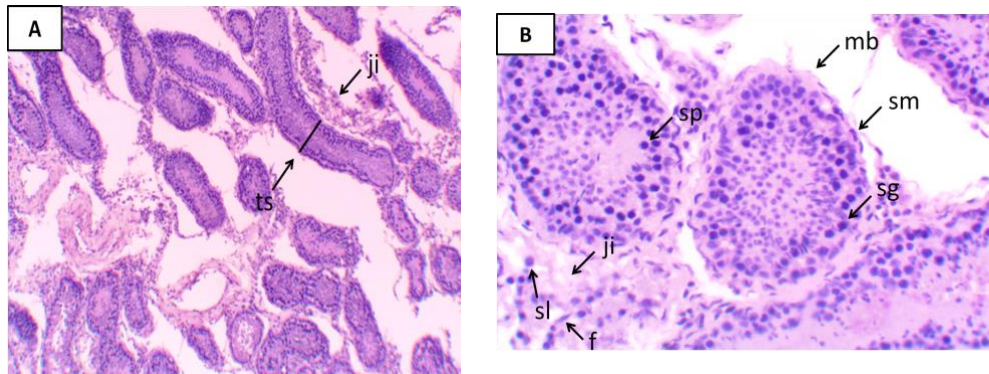
Intensitas reaksi lemah (+) dan sedang (++) yang terlihat pada tunika albuginea, jaringan ikat dan membran basal menunjukkan bahwa terdapat karbohidrat asam pada struktur tersebut tetapi dengan konsentrasi yang rendah. Hal ini dapat berarti bahwa struktur-struktur tersebut bertanggung jawab untuk sintesis glikosaminoglikan, degradasi dan aktivitas morfogenik pada testis (Silberstein dan Daniel, 1984).

Penelitian yang dilakukan oleh Uppal *et al.*, (2003) dan Kishore *et al.*, (2008) melaporkan bahwa sel-sel spermatogenik, sel sertoli, dan sel Leydig menunjukkan intensitas reaksi lemah sampai dengan sedang. Sedangkan hasil pada penelitian ini menunjukkan intensitas reaksi negatif (-) pada struktur-struktur tersebut. Variasi distribusi karbohidrat asam pada testis sapi sumba ongole diduga disebabkan oleh proliferasi berbagai jenis sel dan aktivitas steroidogeniknya pada

berbagai tahap perkembangan testis (Kaur *et al.*, 2008).

### **Karbohidrat Netral**

Reaksi positif kuat (+++) terhadap pewarnaan PAS terlihat pada spermatogonia, spermatosit, dan sel myoid. Sedangkan spermatid, spermatozoa dan sel sertoli menunjukkan reaksi negatif (-). Di daerah intertubular yaitu sel Leydig dan fibroblas menunjukkan reaksi PAS yang kuat (+++), jaringan ikat menunjukkan reaksi positif sedang (++) . Intensitas reaksi lemah (+) ditunjukkan oleh membran basal tubulus seminiferus (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa spermatogonia, spermatosit, sel myoid, sel Leydig, dan fibroblas mengandung lebih banyak karbohidrat netral. Kandungan karbohidrat netral pada struktur-struktur tersebut diduga bahwa karbohidrat berfungsi sebagai sumber energi endogen (Kaur *et al.*, 2008).



Gambar 2. Mikrofotografi testis sapi sumba ongole terhadap pewarnaan PAS. ts: tubulus seminiferus, ji : jaringan ikat, sg: spermatogonia, sp: spermatosit primer, sm: sel myoid, sl: sel Leydig, f: fibroblas, mb: membran basal. A = 10x, B = 40x.

Hasil pewarnaan karbohidrat netral ini sejalan dengan penelitian pada kuda (Shukla dan Rajput, 2019) yang memperlihatkan intensitas reaksi sedang pada jaringan interstitial, dan intensitas kuat pada sel Leydig dan fibroblast. Sedangkan hasil yang berbeda yaitu pada membran basalis, spermatid, dan sel

sertoli yang dilaporkan menunjukkan intensitas reaksi sedang sampai dengan kuat. Variasi sebaran karbohidrat netral pada testis sapi sumba ongole diduga disebabkan oleh proliferasi berbagai jenis sel dan aktivitas steroidogeniknya pada berbagai tahap perkembangan testis (Kaur *et al.*, 2008).

## KESIMPULAN

Distribusi karbohidrat asam dan karbohidrat netral pada testis sapi sumba ongole menunjukkan intensitas yang bervariasi. Reaksi positif lemah (+) terhadap pewarnaan AB pH 2,5 terlihat pada tunika albuginea, sedangkan reaksi positif sedang (++) terlihat pada jaringan ikat interstitial, membran basal, dan jaringan ikat pada lumen tubulus seminiferus. Reaksi positif kuat (+++) terhadap pewarnaan PAS terlihat pada spermatogonia, spermatosit, dan sel myoid. Sedangkan spermatid, spermatozoa

dan sel sertoli menunjukkan reaksi negatif (-). Di daerah intertubular yaitu sel Leydig dan fibroblas menunjukkan reaksi PAS yang kuat (+++), jaringan ikat menunjukkan reaksi positif sedang (++) . Intensitas reaksi lemah (+) ditunjukkan oleh membran basal tubulus seminiferus. Variasi distribusi karbohidrat asam dan netral pada testis sapi sumba ongole diduga disebabkan oleh proliferasi berbagai jenis sel dan aktivitas steroidogeniknya pada berbagai tahap perkembangan testis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aslam B, Bansal N, Uppal V, and Gupta A. 2018. Histochemical Variations in Buffalo Testis During Different Seasons. *Indian Journal of Veterinary Anatomy* 30 (2): 113-115.
- Bancroft J.D. 1967. *An Introduction to Histochemical Technique*. London: Appleton Century Crofts. pp 62-63.
- Gofur, M.R., Khan, M.Z.I., Karim, M.R. and Islam, M.N. 2008. Histomorphology and histochemistry of testis of indigenous bull (*Bos indicus*) of Bangladesh. *Bangladesh J. Vet. Med.* 6(1): 67-74.
- Harris SE, Adriaens I, Leese HJ, Gosden RG, Picton HM. 2007. Carbohydrate metabolism by murine ovarian follicles and oocyte grown in vitro. *Society for Reproduction and Fertility. Reprod* 134: 415-424.
- Kaur, M., Bansal, N. and Uppal, V. 2008. Histochemical studies on the testis of buffalo during prenatal life. *Indian Journal of Animal Sciences* 78: 457-460.
- Kementerian Pertanian. 2014. 'Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 427/Kpts/Sr.120/3/2014 Tentang Penetapan Rumpun Sapi Sumba Ongole'. Jakarta: Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Kiernan J. 2016. *Histological and Histochemical Methods, Theory and Practice*, 5<sup>th</sup> Edition. New York: Pergamon Press.
- Kishore, P.V.S., Ramesh, G. and Basha, S.H. 2008. Histochemistry of carbohydrates in the testis of postnatal Ram. *Indian J. Vet. Anat.* 20(1): 12-15.
- Mescher, A.L. 2012. *Junqueira's Basic Histology*. 12<sup>th</sup> edition. The McGraw-Hill Companies, Inc. USA.
- Muhamad K, Novelina S, Adnyane IKM. 2001. Morfologi dan kandungan karbohidrat glandula aksesoris organ reproduksi tikus jantan pada umur sebelum dan setelah pubertas. *Hayati* 8(4):91-97.
- Pyne, S.K. and Sinha, R.D. 1989. Histochemical studies on the testis of goat. *Indian J. Vet. Anat.* 1(1-2): 6-8.
- Ross, Michael H., and Wojciech Pawlina. *Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology 6th edition*. China: MPS Limited, A Macmillan Company, 2011.

- Shukla, P. and Rajput, R. 2019. Histochemical Studies on Testis and Epididymis of Chamurthi Horse. Haryana Vet. (Dec., 2019) 58(2), 224-227.
- Shukla, P. and Rajput, R. 2021. Histochemical Studies on Testis of Gaddi Sheep Foeti. Indian Journal of Small Ruminants 2021, 27(1): 142-145.
- Silberstein, G.B. and Daniel, C.W. 1984. Glycosaminoglycans in the basal lamina and extra cellular matrix of serially aged mouse mammary ducts. Mechanism of Ageing and Development 24: 151-162.
- Sudhakar, L.S. and Sharma, D.N. 1993. Histomorphological studies on the testis of Spiti ponies. Centaur 10(2): 45-50.
- Uppal, V., Bansal, N. and Roy, K.S. 2003. Histomorphochemical studies on testis of Indian donkeys. Centaur 19(4): 65-68.