

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Rusa Timor (*Rusa timorensis*)

Rusa merupakan salah satu jenis satwa harapan yang mulai dikembangkan secara intensif untuk dimanfaatkan hasil dagingnya (Rachmawati, 2010). Selain daging, bagian lain yang juga bernilai ekonomis adalah kulit dan *velvetnya* (tanduk muda), sehingga semakin lama semakin banyak dibudidayakan melalui sistem penangkaran. Spesies rusa yang terdapat di Indonesia adalah rusa Sambar (*Rusa unicolor*) dan rusa Timor (*Rusa timorensis*). Rusa Timor memiliki bulu berwarna coklat dan bagian bawah perut serta ekor berwarna putih, memiliki tinggi sekitar 91-102 cm dan bobot badan 120-140 kg (Santoso, 2011).

#### 2.2. Siklus Estrus

Siklus estrus terdiri dari empat fase, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus (Toelihere, 1979). Siklus reproduksi ternak dapat dipengaruhi setiap fasenya oleh status mineral ternak tersebut (Robinson *et al.*, 2006). Zinc misalnya, memiliki pengaruh signifikan dalam memperbaiki dan memelihara uterus setelah melahirkan, mengembalikan estrus *postpartum* dengan cepat, memicu sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) serta sintesis prostaglandin (Kumar *et al.*, 2011). Selain itu, selenium juga mempengaruhi tingkat ovulasi pada ternak estrus. Magnesium tidak kalah penting dalam mempengaruhi siklus reproduksi ternak, namun unsur mineral ini tidak bekerja

secara langsung, melainkan bekerja sama dengan kalsium, dan kadar magnesium tidak seharusnya lebih tinggi dibandingkan kalsium. Sebab, tingginya kandungan magnesium dalam tubuh pada saat estrus akan mengakibatkan kegagalan kebuntingan, sedangkan kadar kalsium yang tinggi justru dapat menstimulasi sekresi estradiol pada saat estrus (Small *et al.*, 1996).

Sekresi hormon yang berbeda pada tiap fase berahi dapat mempengaruhi kondisi hematologi ternak. Jumlah leukosit signifikan menunjukkan nilai yang lebih tinggi pada fase estrus dibandingkan fase diestrus pada sapi (Hussain dan Daniel, 1991). Jumlah leukosit total pada anjing tertinggi pada fase diestrus, kemudian proestrus, estrus, dan paling rendah pada saat bunting (Chaudhari dan Mshelia, 2006).

### **2.2.1. Proestrus**

Proestrus termasuk ke dalam fase folikuler (tumbuh dan kembangnya folikel ovarium) yang ditandai dengan cukup tingginya kandungan estradiol. Pada fase ini diketahui jumlah sel darah putih sedikit lebih rendah, yakni  $6.700 \pm 440$  sel/mm<sup>3</sup> dibandingkan fase estrus sebesar  $7.600 \pm 470$  sel/mm<sup>3</sup> (Hock *et al.*, 1997). Jika dibandingkan dengan fase luteal, jumlah sel darah putih pada fase ini tergolong lebih tinggi (Harewood *et al.*, 2000).

### **2.2.2. Estrus**

Rata-rata waktu onset estrus pada Rusa Dama (*Dama dama*) yang diberi perlakuan sinkronisasi estrus menggunakan CIDR dan prostaglandin dengan

kombinasi yang berbeda adalah  $33,5 \pm 1,7$ – $47 \pm 2,9$  jam dengan waktu ovulasi 24-28 jam setelah onset estrus (Jabbour *et al.*, 1991), sedangkan pada rusa ekor putih ovulasi terjadi dalam 24 jam dimana terjadinya peningkatan estradiol (6-12 pg/ml) dan LH (35-60,1 ng/ml) yang memuncak sebelum ovulasi (Asher, 2011). Tingginya kadar estrogen pada fase ini menyebabkan peningkatan jumlah sel darah putih yang bersirkulasi dan perubahan pada perbandingan sel-sel diferensialnya (Noakes *et al.*, 2001; Hussain dan Daniel, 1991). Percobaan inokulasi bakteri pada uterus selama siklus estrus menunjukkan kondisi uterus rentan terhadap infeksi selama fase luteal (hari ke-8), sedangkan saat estrus awal (hari ke-0) resisten terhadap infeksi uterus yang disebabkan oleh meningkatnya fungsi kekebalan tubuh melalui proliferasi limfosit dan perubahan sel darah putih selama estrus (ketika progesteron menurun dan estrogen meningkat), dan kekebalan tubuh menurun ketika fase luteal (ketika progesteron meningkat) (Wulster-Radcliffe *et al.*, 2003).

### **2.2.3. Metestrus**

Metestrus merupakan fase mulai terbentuknya *corpus luteum*, tetapi masih dengan kadar progesteron yang rendah (Byers *et al.*, 2012). Sekresi progesteron diketahui berkaitan dengan peningkatan produksi antibodi, namun terjadi penurunan respon sel imun (Shoemaker, 2014). Namun, total leukosit pada fase ini tidak jauh berbeda dibandingkan dengan fase folikular maupun kebuntingan, diketahui bahwa pada fase luteal total leukosit sedikit lebih tinggi dibandingkan

fase folikular, namun sedikit lebih rendah dari pada fase kebuntingan (Faas *et al.*, 2005).

#### **2.2.4. Diestrus**

Dinamika total dan diferensial sel darah putih signifikan menurun saat kebuntingan (diestrus) (Hussain dan Daniel, 1991) dikarenakan penurunan sel T-*helper* dan sel T limfosit sitotoksik untuk imunitas (Boyd dan Bolon, 2010). Fase dengan kadar progesteron yang tinggi ini menjadikan saluran reproduksi terutama uterus sangat retan terhadap infeksi bakteri (Wulster-Radcliffe *et al.*, 2003).

### **2.3. Mineral**

Berdasarkan kebutuhannya, mineral digolongkan menjadi dua jenis, yakni mineral esensial (dapat disintesis di dalam tubuh) dan non esensial (tidak dapat disintesis di dalam tubuh). Mineral esensial juga terbagi lagi menjadi makro dan mikro mineral esensial. Unsur makro mineral esensial terdiri dari Ca, P, Na, K, Cl, S, dan Mg, sedangkan unsur mikro mineral esensial adalah Fe, Cu, Mn, Co, Zn, Se dan I (Putra, 2014).

#### **2.3.1. Magnesium (Mg)**

Magnesium berfungsi sebagai koenzim dalam sintesis protein dalam ribosom dan sebagai aktivator enzim dalam metabolisme karbohidrat, berkaitan dengan pertumbuhan sel dan jaringan. Bersama hormon kortisol, Mg mengatur gerakan otot dan kandungan P (fosfor) dalam darah (Indrasari, 2005). Kebutuhan

Mg pada domba berkisar antara 0,12-0,18% bahan kering. Mg menurunkan kandungan neutrofil dalam darah sebagai bentuk respon inflamasi, menstabilkan membrane sel mast dan menghambat ion kalsium sebagai antagonis kompetitif (Burney, 2000). Mg bersama mineral lainnya, yaitu kalium, kalsium, dan natrium berperan dalam mengatur tekanan darah. Dalam hal ini Mg memperkuat jaringan endotel, menstimulasi kinerja prostaglandin, dan meningkatkan penangkapan glukosa, serta berperan dalam kontraksi otot jantung (Krummel and Penny, 1996).

### **2.3.2. Zinc (Zn)**

Zinc termasuk ke dalam salah satu unsur mikro mineral yang vital bagi tubuh meskipun hanya dibutuhkan dalam jumlah sedikit, yakni sekitar 20-33ppm pada domba dengan batas maksimum 750 ppm. Defisiensi zinc akan berakibat pada penurunan hormon steroid. Zinc akan berkaitan dengan progesteron-estrogen yang termasuk ke dalam kategori hormon steroid dalam mempengaruhi proses reproduksi, sehingga jika terjadi defisiensi zinc maka akan mengganggu terjadinya proses reproduksi (Akhtar *et al.*, 2009). Ternak yang kekurangan unsur mineral zinc di dalam tubuhnya akan mengganggu penghancuran mikroba (ingestion) dan fagositosis (Arifin, 2008). Suplementasi zinc meningkatkan persentase limfosit dan merangsang hemoxigenase-1, protein stres dalam limfosit, monosit dan granulosit (Fehrenbach *et al.*, 2003) namun menurunkan kadar neutrofil, sehingga menurunkan imbalan limfosit dan neutrofil yang berarti juga menurunkan kondisi stres (Widhyari *et al.*, 2014).

Penambahan zinc sebesar 60 ppm terutama pada bulan kedua nyata meningkatkan jumlah sel leukosit pedet sapi perah *Friesian Holstein* yang dapat disebabkan oleh terjadinya peningkatan sel neutrofil atau limfosit, tetapi tidak mempengaruhi persentase sel basofil (Widhyari *et al.*, 2014). Zinc berperan dalam mengoptimalkan fungsi sel T dan sel B dalam pembentukan antibodi, serta pertahanan non spesifik dan mempengaruhi produksi sitokin, terutama interleukin-2 (IL-2), juga mengoptimalkan fungsi sel *Natural Killer* (NK) (Siswanto *et al.*, 2013). Sedikit saja penurunan tingkat Zn serum pada sapi dapat menyebabkan perkembangan ovarium menjadi abnormal, gangguan siklus estrus, gangguan sekresi FSH dan LH, yang dapat menyebabkan penyakit reproduksi (Ceylan *et al.*, 2008).

### **2.3.3. Selenium (Se)**

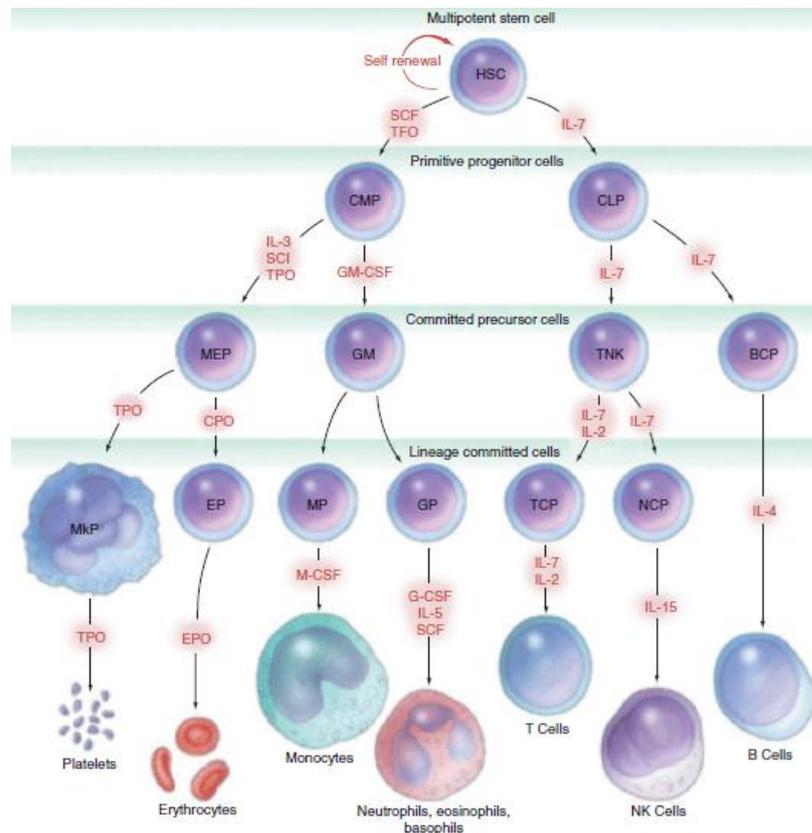
Selenium berperan dalam mempengaruhi terjadinya estrus pada ternak. Kebutuhan akan unsur mikro mineral ini pada seekor domba berkisar antara 0,1-0,2 ppm dengan batas maksimum 2 ppm, artinya konsumsi selenium dengan kadar berlebih juga akan menimbulkan dampak-dampak tertentu. Defisiensi Se akan menurunkan fertilitas pada ternak dan dapat mengakibatkan terjadinya anestrus (Akhtar *et al.*, 2009). Selain itu, kemampuan limfosit darah perifer akan terhambat dalam memproduksi *Leukocyte Migration Inhibitory Factor* (LMIF) jika terjadi defisiensi selenium, namun tidak demikian halnya dengan produksi interleukin-2 (IL-2) karena concanavalin A (Con A) (Aziz dan Klesius, 1985). Se dapat mempertahankan bahkan meningkatkan kesuburan ternak, bersama vitamin E

sebagai antioksidan mampu melindungi reseptor hormon gonadotropin membentuk oksidasi dengan elevasi selanjutnya dari sekresi estrogen yang penting perkembangan folikel. Selain itu, vitamin E dan selenium dapat meningkatkan jumlah leukosit dan diferensialnya sebagai bentuk respon imunologi (Makkawi *et al.*, 2004). Kerjasama Se dan vitamin E sebagai antioksidan berperan dalam sistem imun dengan mempertahankan integritas membran sel guna melancarkan produksi sitokin, serta menjaga DNA agar tidak rusak untuk mengoptimalkan fungsi makrofag dalam fagositosis (Siswanto *et al.*, 2013).

#### **2.4. Darah**

Darah terdiri dari sel-sel yang terendam di dalam cairan yang disebut plasma. Elemen darah yang memiliki bentuk terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (*platelet*). Hampir semua sel darah berada di dalam pembuluh-pembuluh, namun leukosit dapat bermigrasi melintasi dinding pembuluh darah guna melawan infeksi. Darah berfungsi untuk membawa nutrient dan zat atau senyawa lain yang dibutuhkan tubuh maupun yang harus dibuang, mengendalikan suhu tubuh, mempertahankan keseimbangan air, sebagai buffer, pembekuan darah, serta pertahanan tubuh terhadap penyakit (Frandsen, 1992). Proses pembentukan sel darah disebut hematopoiesis yang berlangsung di sumsum tulang belakang dan organ retikuloendotelial (hati dan limpa), terdiri dari tahap proliferasi sel, maturasi sel, dan diferensiasi sel. Sel induk hematopoietik nantinya pada akhir proses hematopoiesis akan

berdiferensiasi menjadi sel darah merah, sel darah putih, maupun trombosit sesuai dengan jenis sel induknya (Boyd dan Bolon, 2010).



Ilustrasi 1. Bagan Hematopoiesis dan Sel Darah yang Dihasilkan (Boyd dan Bolon, 2010)

#### 2.4.1. Sel darah putih (Leukosit)

Sel darah putih (leukosit) merupakan komponen darah yang berasal dari sel-sel progenitor limfoid dan myeloid dalam hematopoiesis (produksi sel darah) (Boyd dan Bolon, 2010). Leukosit berperan dalam beberapa proses fisiologis penting di dalam tubuh seperti kekebalan, peradangan, matriks ekstra selular, penyembuhan luka, gangguan kardiovaskular, penyakit autoimun, implantasi

embrio, serta maturasi serviks selama berada pada jumlah yang normal (Blesson, 2011). Jumlah leukosit pada Rusa Timor adalah 2.950 - 4.050 sel/ $\mu$ L (Tjendrajaja, 2011), 3.300 sel/ $\mu$ L pada rusa Timor betina liar yang dibius menggunakan *fentanyl* dan *azaperone*, 3.700 sel/ $\mu$ L pada rusa Timor betina yang ditangkarkan tanpa dibius, serta 4.100 sel/ $\mu$ L pada rusa Timor betina di penangkaran yang dibius menggunakan *xylazine* yang keseluruhannya berusia 1 - 2 tahun serta tidak bunting (Audige, 1992).

#### **2.4.2. Diferensial leukosit**

Diferensiasi sel darah putih menjadi limfosit berasal dari sel progenitor limfoid, sedangkan neutrofil, eosinofil, basofil, dan monosit berasal dari sel progenitor myeloid. Sel-sel progenitor limfoid mengalami limfopoiesis menjadi limfosit sel B, sel T dan sel NK sedangkan sel-sel progenitor myeloid terbagi lagi menjadi dua proses, yaitu granulopoiesis dan monopoiesis. Granulopoiesis akan menghasilkan sel neutrofil, eosinofil, dan basofil yang memiliki granula pada sitoplasmanya, sedangkan monopoiesis akan menghasilkan sel monosit (Boyd dan Bolon, 2010). Rataan persentase diferensial leukosit adalah 46 - 53% neutrofil, 0 - 2% eosinofil, 0 - 1% basofil, 0 - 2% monosit, dan 47 - 55% limfosit (Tjendrajaja, 2011). Diferensial leukosit rusa timor betina liar usia 1 - 2 tahun yang dibius menggunakan *fentanyl* dan *azaperone* adalah 18% neutrofil, 23% eosinofil, 2% basofil, 11% monosit, dan 46% limfosit, sedangkan pada rusa Timor betina yang ditangkarkan tanpa dibius adalah 30% neutrofil, 5% eosinofil, 0% basofil, 8%

monosit dan 57% limfosit, berbeda dengan yang dibius menggunakan *xylozine*, yakni berturut-turut sebesar 54%, 1%, 0%, 11% dan 34% (Audige, 1992).

**2.4.2.1. Neutrofil.** Persentase neutrofil berturut-turut pada fase proestrus, estrus, metestrus dan diestrus pada tikus putih adalah 31,1%; 32,7%; 37,25%; dan 41,3% (Muljono, 2001). Estrogen mengikat neutrofil menggunakan ligan percobaan pengikat, di mana estrogen akan menyebabkan jumlah neutrofil dalam darah menjadi lebih tinggi. Muljono (2001) menyatakan bahwa banyaknya *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) di sel epitel uterus menyebabkan kandungan neutrofil tinggi selama estrus (Blesson, 2011). Pada awal fase estrus (hari ke-0) terlihat populasi neutrofil lebih besar dibandingkan limfosit, namun memasuki 72 jam pertama (sesuai fase folikuler dari siklus estrus) populasi limfosit meningkat, sedangkan neutrofil menurun yang diduga disebabkan karena pergerakan neutrofil dari sirkulasi darah menuju uterus guna persiapan invasi bakteri (Wulster-Radcliffe *et al.*, 2003).

**2.4.2.2. Eosinofil.** Persentase eosinofil adalah 4,55% saat proestrus; 3,05% saat estrus; 3,35% saat metestrus; dan 5,25% saat diestrus pada tikus putih (Muljono, 2001). Estrogen menghambat akumulasi eosinofil peritoneal, sehingga menurunkan jumlah eosinofil dalam darah (Echinard *et al.*, 2011). Hasil berbeda menunjukkan bahwa distribusi eosinofil meningkat seiring dengan meningkatnya estrogen pada siklus estrus (Leiva *et al.*, 1991). Pemberian estradiol pada tikus ovariectomi menunjukkan terjadinya peningkatan infiltrasi eosinofil ke uterus

dengan menginduksi produksi *Eosinophil Chemotactic Factor* (EFC-U) pada sel stroma (Perez *et al.*, 1996).

**2.4.2.3. Basofil.** Persentase tertinggi basofil terdapat pada fase proestrus, menengah pada akhir fase diestrus, serta terendah pada awal fase diestrus dan estrus (Adler, 1981). Basofil menunjukkan nilai paling tinggi saat fase estrus pada tikus putih dengan rincian tiap fase adalah 0,2% saat proestrus; 1,3% saat estrus; 0,35% saat metestrus; dan 1,1% saat diestrus (Muljono, 2001).

**2.4.2.4. Monosit.** Persentase monosit pada tiap fase siklus reproduksi tikus putih adalah 7,25% saat proestrus; 12,25% saat estrus; 7,3% saat metestrus; dan 9,95% saat diestrus (Muljono, 2001). Terjadi peningkatan jumlah monosit pada fase luteal dan selama masa kebuntingan dibandingkan dengan fase folikular (Bouman *et al.*, 2001). Estrogen menurunkan angka monosit dimungkinkan karena hormon ini merangsang mitosis dan apoptosis pada monosit (Thongngarm *et al.*, 2003).

**2.4.2.5. Limfosit.** Limfosit merupakan jenis sel darah putih yang memiliki komposisi terbanyak pada tikus putih dibandingkan sel lainnya dan tertinggi saat fase proestrus, yakni mencapai 56,9%; sedangkan pada fase estrus, metestrus, dan diestrus berturut-turut hanya 50,7%; 51,75%; dan 42,4% (Muljono, 2001). Salah satu varian ER $\alpha$  yang disebut ER $\alpha$  46 terdapat pada permukaan sel limfosit dan menjadi mediator estrogen dalam menginduksi proliferasi sel T dan sel NK, tetapi tidak dengan sel B (Blesson, 2011). Konsentrasi estradiol lebih besar dari 500 kali konsentrasi fisiologis akan menghambat respon blastogenik limfosit untuk mitogens *in vitro* (Roth *et al.*, 1982). Aktivitas limfosit berfluktuasi selama siklus

estrus, dimana terjadi peningkatan pada fase estrus dan menurun pada fase luteal (Wulster-Radcliffe *et al.*, 2003).