BAB II

TIJAUAN PUSTAKA

2.1. Semen

Semen merupakan suatu produk yang berupa cairan yang keluar melalui penis sewaktu kopulasi. Semen terdiri dari sel-sel kelamin jantan yang dihasilkan oleh testis dan plasma semen yang dihasilkan oleh kelenjar aksesoris (Rahayu *et al.*, 2014). Pamungkas dan Anwar (2013) menyatakan bahwa semen terdiri dari 1-5% spermatozoa dan 80 - 85% plasma semen. Yendraliza (2008) menyatakan bahwa semen terdiri dari bagian yang bersel hidup dan yang tidak bersel atau tempat hidup sel. Sel-sel hidup yang bergerak disebut spermatozoa dan yang cair tempat sel bergerak dan berenang disebut seminal plasma. Wiratri *et al.* (2014) menyatakan bahwa volume semen sapi per ejakulasi sebesar 5 - 8ml.

Yendraliza (2008) menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi kualitas semen semen yang berkualitas dan berkuantitas dipengaruhi oleh makanan, suhu dan musim, frekuensi ejakulasi, libido dan faktor fisik, sedangkan yang menjadi faktor lain adalah penyakit, pengangkutan dalam perjalanan, umur, herediter, lingkungan dan gerak badan.

2.2. Pengenceran Semen

Pengenceran berfungsi untuk menambah volume semen sehingga memungkinkan untuk melakukan IB terhadap betina dalam jumlah yang lebih banyak dalam satu ejakulasi. Bahan pengencer yang baik adalah murah, sederhana, praktis untuk dibuat dan memiliki daya preservasi yang tinggi Wiratri et al., 2014). Syarat sebagai bahan pengencer yaitu harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, harus memungkinkan sperma dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat toksik, dapat menjadi penyanggah, dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin baik untuk semen beku maupun semen cair (Kusumawati dan Leondro, 2011). Yusuf et al. (2006) menyatakan bahwa pengenceran merupakan tahapan kritis karena semen merupakan barang rapuh dan tidak dapat tahan lama, maka dari itu diperlukan bahan pengencer yang mampu mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa yang lebih lama, mudah diperoleh, cepat dan murah. Penyimpanan dengan bantuan media air, menciptakan lingkungan mikro yang stabil sehingga mampu beradaptasi terhadap perubahan suhu drastis yang dapat mengakibatkan cold shock.

Proses penyimpanan memerlukan pengencer yang mengandung zat makanan dan mempunyai sifat melindungi spermatozoa sehingga dapat bertahan dalam periode penyimpanan yang lebih lama (Pamungkas dan Anwar, 2013). Selama proses penyimpanan kualitas semen akan menurun akibat dari proses metabolisme sperma yang berlangsung pada kondisi aerob dan anaerob (Husin *et al.*, 2007). Arifiantini dan Yusuf (2006) menyatakan bahwa untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer seperti *buffer* dan krioprotektan yang dapat melindungi dan mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan dan *thawing*. Tris merupakan salah satu bahan pengencer yang umum digunakan karena memilki

toksisitas yang rendah dan merupakan penyanggah yang baik sehingga dapat mempertahankan pH semen (Purwasih *et al.*, 2013). Diluter dapat menentukan kualitas spermatozoa dan fertilisasi sapi terutama dalam proses pembuatan semen cair atau beku (Hendri dan Mundana, 1999).

Bahan pengencer yang biasa digunakan yaitu kuning telur dan susu karena mengandung lesitin, selain itu lesitin juga dapat ditemukan pada tanaman seperti, kedelai, kacang tanah, jagung, gandum dan bunga matahari. Namun lesitin pada kedelai hampir mirip dengan lesitin pada kuning telur yang sudah biasa digunakan sebagai bahan pengencer. Kedelai merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan menjadi bahan pengencer karena kedelai memiliki kecenderungan terkontaminasi bakterial lebih kecil daripada kuning telur. Kandungan lesitin dari kedelai mirip dengan lesitin pada kuning telur sehingga dapat melindungi spermatozoa dari cold shock dan merupakan pilihan yang tepat sebagai sumber lesitin bahan pengencer semen dimasa yang akan datang. Penggunaan lesitin nabati mengurangi efek cekaman dingin serta mengurangi kontaminasi mikroorganisme pada spermatozoa (Aku et al., 2007). Sari kedelai merupakan salah satu teknologi pangan yang mensari fraksi terlarut dari kedelai dengan kualitas yang tidak jauh berbeda dengan susu sapi. Kandungan lesitin pada kedelai diketahui dapat melindungi selubung lipoprotein spermatozoa dari kejutan dingin akibat penurunan suhu yang tajam sehingga kualitas spermatozoa terjaga (Rhoyan et al., 2014). Secara alamiah, lesitin ditemukan pada kacang kedelai 1,48 - 3,08%, lebih tinggi dari kacang tanah 1,11%, hati anak sapi 0,85%, gandum 0,61%, makanan dari gandum 0,65%, telur 0,39% dan 4 - 6% pada otak manusia (Aku *et al.*, 2007).

Tabel 1. Kandungan Zat Nutrisi pada Kedelai

Zat	Kedelai
	(%)
Air	13,75
Protein	41,00
Lemak	15,80
Karbohidrat	14,85
Mineral	5,25

2.3. Evaluasi Semen

Sumeidiana et al. (2007) menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB ditentukan oleh kualitas semen pejantan unggul yaitu karakteristik semen segarnya yang dapat dinilai melalui pemeriksaan, secara makroskopis maupun mikroskopis. Pemeriksaan semen bertujuan untuk menentukan kelayakan semen, sedangkan tujuan khusus pemeriksaan secara makroskopis adalah untuk melihat kualitas semen secara kasat mata tanpa memakai bantuan alat, tujuan pemeriksaan secara mikroskopis adalah untuk melihat kualitas semen dengan menggunakan bantuan alat berupa mikroskop dan penilaian secara subjektif (BIB Ungaran, 2011). Kualitas semen dapat dilihat dari volume ejakulat, warna semen, aroma semen, derajat keasaman, kekentalan, konsentrasi, persentase sperma hidup, persentase abnormalitas sperma, gerak massa dan motilitas (Husin et al., 2007).

Pemeriksaan mikroskopik meliputi gerakan massa, gerakan individu, viabilitas dan mati spermatozoa, abnormalitas spermatozoa dan konsentrasi spermatozoa (Kartasudjana, 2001). Wahyu (2008) menyatakan bahwa pemeriksaan secara mikroskopis, meliputi gerakan massa, motilitas (minimal 70%). Pemeriksaan semen secara mikroskopis antara lain meliputi gerakan massa, viabilitas dan persentase abnormalitas (Hartanti *et al.*, 2012).

2.3.1. Motilitas

Pemeriksaan motilitas spermatozoa merupakan satu parameter penting yang dapat dijadikan dasar informasi tentang kemampuan fertilisasi spermatozoa (Sarastina *et al.*, 2012). Daya gerak progresif (motilitas) memilki peranan yang sangat penting dalam menentukan keberhasilan fertilitas (Badran dan Adelina, 2009). Motilitas individu semen segar yang layak untuk diproses ke tahap selanjutnya minimal 65%, karena motilitas yang tinggi akan meningkatkan kemampuan spermatozoa untuk fertilisasi (Pratiwi *et al.*, 2005). Ariantie *et al.* (2013) menyatakan bahwa persentase progresif motilitas spermatozoa normal agar dapat diolah lebih lanjut berkisar antara 70 - 90%. Persentase motilitas atau gerak individu semen segar akan terus menurun secara perlahan apabila telah ditambahkan pengencer. Semen cair dengan persentase motilitas tidak kurang dari 40% masih dapat digunakan sebagai materi inseminasi buatan (Alawiyah dan Hartono, 2006). Standar Nasional Indonesia (SNI) mensyaratkan bahwa semen yang memenuhi syarat digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil minimum 40% (Departemen Pertanian, 2000).

Persentase motilitas pada semen yang diencerkan menggunakan Tris kuning telur yaitu 52,23%, demikian pula pada Tris *soya* dengan rataan persentase motilitas spermatozoa sekitar 52,41% (Ariantie *et al.*, 2013). Pengencer CEP-2 + kuning telur + ekstrak jambu dapat mempertahankan persentase motilitas hingga hari ke-8 pada perlakuan 80% CEP-2 + kuning telur dengan penambahan filtrat jambu mulai 4% hingga 12% (Wiratri *et al.*, 2014). Penggunaan kuning telur 1 ml dalam pengenceran 0,2 ml semen segar menghasilkan motilitas 10,5%, motilitas ini lebih baik dari penggunaan kuning telur 2 ml, 3 ml dan 4 ml dimana menunjukkan motilitas secara berurutan yaitu 6,5%, 3,5% dan 1,5%. Semakin banyak pengencer yang ditambahkan maka motilitas semakin rendah (Jiyanto, 2011). Kusumawati dan Leondro (2011) menyatakan bahwa persentase motilitas setiap 24 jam selama 144 jam dengan penyimpanan pada suhu 5°C menunjukkan bahwa terjadi penurunan motilitas sebanyak 4,3% sampai 8,6%.

2.3.1. Persentase hidup

Persentase hidup spermatozoa merupakan salah satu uji yang sangat penting dalam menentukan ataupun memperkirakan banyaknya spermatozoa yang hidup dan mati. Spermatozoa hidup dan mati dapat dilihat dengan metode pewarnaan menggunakan eosin (Achlis *et al.*, 2013). Setelah proses penampungan sering kali spermatozoa tersebut rentan terhadap kematian yang sangat cepat (Ariantie *et al.*, 2013). Penanganan semen setelah penampungan juga perlu diperhatikan karena berkaitan dengan kualitas spermatozoa antara lain yaitu harus

terhindar dari cahaya matahari, guncangan serta kontaminasi udara luar (Salmah, 2014).

Spermatozoa dengan viabilitas 70% dapat dikategorikan masih baik, karena memiliki kisaran persentase antara 50 - 69% (Sugiarto et al., 2014). Ratarata semen segar yang telah ditambahkan dengan pengencer akan mengalami penurunan secara bertahap. Suhu yang optimum untuk daya tahan hidup spermatozoa adalah 37 – 38°C (Kusumawati dan Leondro, 2011). Pamungkas dan Anwar (2013) menyatakan bahwa semen segar yang dicampur dengan bahan pengencer gliserol dan Tris sitrat tanpa dilakukan penyimpanan terlebih dahulu, diperoleh rata-rata daya hidup sebesar 83,43 %. Akan tetapi sebaliknya setelah mengalami penyimpanan pada suhu $3-5^{\circ}$ C daya hidup yang diperoleh mencapai 65,03 %. Kusumawati dan Leondro (2011) menyatakan bahwa pengencer sitrat kuning telur lebih mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa sapi Simmental hingga 4,67 hari penyimpanan; susu skim kuning telur selama 3,86 hari dan air susu segar selama 4,00 hari dan terendah diperoleh dari bahan pengencer air kelapa muda kuning telur yakni 3,33 hari setelah pengenceran pada suhu penyimpanan 3 - 5^oC. Viabilitas spermatozoa yang diencerkan menggunakan Tris kuning telur didapatkan rataan sekitar 59,24%, sedangkan viabilitas spermatozoa yang diencerkan menggunakan Tris soya yaitu sekitar 60,49% (Ariantie *et al.*, 2013).

Penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan oleh meningkatnya jumlah spermatozoa rusak dan mati akibat kekurangan energi Rendahnya daya tahan hidup dapat disebabkan oleh aktivitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam media pengencer. Asam laktat yang berlebih dalam pengencer akan merubah pH yang dapat menimbulkan efek racun dan kematian bagi spermatozoa (Rhoyan et al., 2014). Hasil penelitian Wiratri et al. (2014) menyatakan bahwa viabilitas akan menurun akibat ketersediaan energi dalam pengencer semakin berkurang dan menurunnya pH karena terjadi peningkatan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa, adanya kerusakan membran plasma dan akrosom. Spermatozoa pada saat preparat dibuat masih dalam keadaan hidup akan berwarna putih sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena menyerap warna eosin. Purwasih et al. (2013) menyatakan bahwa pengenceran semen dengan bahan tertentu akan diperoleh daya hidup yang berbeda, hal tersebut tergantung kepada jenis dan kandungan bahan pengencer, pH, cara penanganan, cara penyimpanan dan suhu penyimpanan. Sebagai contoh penurunan daya hidup spermatozoa disebabkan oleh tingginya persentase campuran bahan pengencer dan juga kemungkinan peningkatan asam laktat yang lebih besar, sehingga terjadi perubahan keasaman yang berpengaruh pada daya hidup spermatozoa.

2.3.3. Abnormalitas

Nilai abnormalitas di bawah 20%, maka semen masih dapat digunakan untuk IB (Alawiyah dan Hartono, 2006). Kualitas semen segar yang diperoleh sudah memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk IB yaitu motilitas massa minimal 2+ dan abnormalitas kurang dari 20%. Semen dalam setiap ejakulasi akan mengandung spermatozoa yang abnormal sekitar 8 - 10%, namun apabila

lebih dari 25% akan berpengaruh terhadap fertilitas (Pamungkas dan Anwar, 2013). Semen yang diejakulasi oleh pejantan mengandung beberapa spermatozoa yang abnormal namun hal tersebut belum tentu menunjukkan rendahnya fertilitas kecuali apabila abnormal yang dimilki lebih dari 20%. Tipe-tipe kerusakan pada spermatozoa tersebut tidak berhubungan terhadap infertilitas (Aminasari, 2009).

McPake dan Pennington (2009) membagi abnormalitas dalam dua kelompok yaitu abnormalitas primer (yang meliputi abnormalitas kepala dan bentuk *midpiece*, abnormalitas *midpiece* dan *tightly coiled tails*) dan abnormalitas sekunder (kepala normal yang terputus, droplet dan ekor yang membengkok). Penilaian dilakukan terhadap abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Persentase spermatozoa hidup, membran plasma utuh (MPU) dan abnormalitas spermatozoa dihitung minimal 200 sel berdasarkan perhitungan 10 lapang pandang (Kusumawati dan Leondro, 2011).

Penambahan bahan pengencer pada semen juga dapat mengakibatkan spermatozoa abnormalitas antara lain mitokondria membengkak, spermatozoa mengecil, dan kerusakan pada ekor karena tekanan osmotiknya yang hipotonis (Herdiawan, 2004). Fungsi membran pada spermatozoa sebagai pelindung, apabila suatu sel mengalami kerusakan membran maka mengakibatkan terganggunya proses metabolisme intraseluler sehingga spermatozoa akan mengalami kelemahan dan pada akhirnya akan mati (Wiratri *et al.*, 2014). Susilawati (2013) menyatakan bahwa pengaruh tingginya abnorrmalitas berasal dari *processing*, penyimpanan dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut,

selain itu juga dari faktor pejantan saat penampungan yang berhubungan dengan fertilitas ternak itu sendiri.

Kualitas abnormalitas dengan perlakuan pengencer sitrat dan susu kedelai 6% rata-rata hampir sama dengan pengencer sitrat dan susu kedelai 0% yaitu cenderung menurun hingga jam ke-120. Sedangkan kenaikan abnormalitas yang terjadi pada perlakuan menggunakan pengencer andromed, sitrat dan susu kedelai 2% serta sitrat dan susu kedelai 4% pada jam ke-72 dan ke-120 kemungkinan karena terlalu padatnya spermatozoa yang masih hidup sehingga menjadikan banyaknya gesekan yang terjadi antar spermatozoa lalu menyebabkan kerusakan struktur morfologi spermatozoa (Rahayu *et al.*, 2014).