

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa (sel gamet jantan) yang terjadi hanya di tubuli seminiferi yang terletak di testes (Susilawati, 2011). Spermatogenesis merupakan proses perkembangan sel germinal (*immature*) melalui pembelahan, diferensiasi dan meiosis untuk menghasilkan spermatid berekor yang haploid yang mengalami maturasi membentuk spermatozoa (Hayati, 2011).

Proses spermatogenesis merupakan 2 proses pembelahan 1) pembelahan mitosis dan miosis disebut dengan spermatositogenesis (dari $2n$ menjadi $2n$), yaitu pembelahan dari spermatogonium samapi dengan spermatosit primer. Miosis I adalah pembelahan dari spermatosit primer ke spermatosit sekunder (dari $2n$ menjadi n), sedangkan miosis II adalah pembelahan dari spermatosit sekunder menjadi spermatid (dari n menjadi n). 2) Perubahan spermatid menjadi spermatozoa disebut dengan spermiogenesis (Susilawati, 2011).

Spermatositogenesis dikendalikan oleh *folicle stimulating hormone* (FSH) dari adenohipofisa dan spermiogenesis berada di bawah pengaruh *leuteuzing hormone* (LH) dan testosteron (Toelihere, 1981). Spermatozoa pada masing-masing spesies mempunyai ukuran yang berbeda-beda akan tetapi bentuknya hampir sama. Pada kepala spermatozoa terdapat akrosom, sedangkan pada ekor secara anatomis terdapat bagian *middle piece*, *principal piece* dan bagian ekor

yang terdapat *central axonemal* yang terdapat 9+2 mikrotubulus, dan dibalut dengan *outer fibril*, lapisan mitochondria yang membentuk kolom longitudinal pada dorsal dan ventral dan *circumferial ribs* (Susilawati, 2011).

2.2. Sexing Spermatozoa Metode BSA

Jenis kelamin ditentukan oleh adanya kromosom X dan Y pada spermatozoa pejantan (Garner dan Hafez, 2000). Spermatozoa berkromosom X, jika membuahi sel telur akan menghasilkan embrio betina. Sedangkan spermatozoa berkromosom Y, akan menghasilkan embrio jantan (Susilawati *et al.*, 1999). Spermatozoa X dan Y masing-masing berbeda dalam ukuran dan bentuk spermatozoa, berat, densitas, motilitas, muatan dan kandungan biokimia pada permukaannya (Hafez, 2000). Perbedaan tersebutlah yang menyebabkan spermatozoa kromosom X dan kromosom Y dapat dipisahkan.

Banyak metode *sexing* spermatozoa kromosom X dan kromosom Y yang telah dilakukan. Metode pemisahan tersebut antara lain yaitu sedimentasi, *albumin column*, sentrifugasi gradien densitas, elektroforesis, H-Y antigen, *flow cytometry* dan filtrasi dengan *Sephadex column* (Hafez, 2000). Kaiin *et al.* (2008) menyatakan bahwa metode pemisahan sperma sapi yang sudah banyak digunakan di luar negeri menggunakan *flow cytometry* yang secara akurat dapat mengukur kandungan DNA sperma sehingga dapat dibedakan antara sperma pembawa jenis kelamin betina (X) atau pembawa jenis kelamin jantan (Y). Johnson and Seidel (1999) menyatakan bahwa dengan *sexing* sperma menggunakan *flow cytometry* dapat diperoleh 85%-95% kelahiran anak dengan jenis kelamin sesuai.

Namun menurut Kaiin *et al.* (2008) menyatakan bahwa harga peralatan *flow cytometry* yang cukup mahal mendorong pengembangan teknik yang lebih sederhana yaitu dengan menggunakan metode kolom albumin dengan menggunakan serum albumin sapi (*Bovine Serum Albumin*, BSA). Berdasarkan hasil penelitian Kaiin *et al.* (2005) diperoleh bahwa konsentrasi BSA 5%-10% memberikan hasil optimum dalam memisahkan sperma X dan Y pada sapi penelitian. Berdasarkan hasil penelitian Afiati *et al.* (2004) yang menggunakan kolom BSA 5%:10% mampu memperoleh spermatozoa X sebesar $72\% \pm 5,3$ pada fraksi atas dan spermatozoa Y sebesar $77\% \pm 6,5$ pada fraksi bawah.

Perbedaan konsentrasi BSA yang semakin meningkat diharapkan dapat memisahkan spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi (spermatozoa Y) akan mampu menembus konsentrasi medium pemisah yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada media yang mempunyai konsentrasi lebih rendah (Ericsson and Glass, 1982).

2.3. Morfometri Spermatozoa

Spermatozoa pembawa kromosom X dan Y memiliki perbedaan ukuran, dapat diketahui secara mikroskopis dan pewaranaan. Sehingga dengan cara morfometri spermatozoa dan pewarnaan dapat mengetahui sperma pembawa kromosom X dan Y. Pearson *et al.* (1973) menyatakan bahwa sperma pembawa kromosom X memiliki permukaan lebih besar 7% dari sperma pembawa kromosom Y.

Spermatozoa yang memantulkan cahaya fluoresens diprediksi sebagai spermatozoa X karena luas kepala spermatozoa X lebih besar dan mempunyai massa DNA yang lebih besar pula (Ericsson and Glass, 1982). Pengkajian terhadap morfometri spermatozoa perlu dilakukan untuk mengetahui karakteristik ukuran-ukuran spermatozoa pada berbagai hewan (Gizejewski *et al.*, 2002).

2.4. Uji Kualitas Semen Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Pengujian kualitas spermatozoa dapat dilakukan dengan dua cara yaitu uji kualitas semen secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis dilakukan untuk memperkirakan kualitas semen secara kasat mata, evaluasi semen secara makroskopis meliputi volumen, derajat keasaman (pH), konsistensi, warna dan bau (Arifiantini, 2012).

Uji kualitas secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop. Setiawan (1995) menyatakan bahwa penilaian semen secara mikroskopis meliputi konsentrasi sperma, mortalitas sperma, gerakan massa dan pewarnaan deferensial untuk mengetahui daya tahan hidup sperma.

2.4.1. Persentase abnormal

Pengamatan abnormalitas spermatozoa difokuskan pada bagian ekor, leher, dan kepala yang abnormal (Putra *et al.*, 2012). Menurut Dethan *et al.* (2010) spermatozoa dihitung sampai 200 sel pada satu atau beberapa pandangan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x, kemudian ditentukan persentase abnormalitas spermatozoa.

2.4.2. Persentase MPU

Keutuhan Membran Plasma menentukan hidup matinya spermatozoa, sehingga nilai persentase MPU senilai dengan persentase spermatozoa hidup (Rizal, 2005). Menurut Revell and Mrode (1994) syarat MPU tidak kurang dari 60%. Ekor spermatozoa yang melingkar mengidentifikasi keutuhan plasma membrannya (Indriani *et al.*, 2013).