

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Semen Beku

Semen beku adalah semen yang telah diberi penambahan pengencer untuk memberikan nutrisi pada semen, dengan tujuan meningkatkan kualitas semen yang disimpan dengan keadaan beku dalam *container* yang berisi nitrogen cair dengan suhu -196°C . Semen beku yang berkualitas baik ditunjukkan dengan persentase motilitas dan persentase hidup *post thawing* yang tinggi (Aini *et al.*, 2014). Semen beku memiliki keunggulan yaitu dapat disimpan dalam jangka waktu lama, namun memiliki kelemahan penurunan kualitas semen selama proses pembekuan karena melewati berbagai suhu ekstrim yang dapat menurunkan kualitas (Putri *et al.*, 2015).

Pembekuan semen adalah memberhentikan sementara aktivitas metabolisme sel tanpa mematikan fungsi sel, sehingga proses kehidupan akan berlanjut setelah pembekuan dihentikan atau dicairkan kembali (Putri *et al.*, 2015). Usaha untuk memperoleh semen beku berkualitas tinggi diperlukan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas semen selama proses pembekuan semen hingga kualitas semen pada saat *thawing* (Arifiantini *et al.*, 2014).

2.2. Pengencer Skim Kuning Telur

Pengencer semen diperlukan untuk menambah volume semen dan memberi nutrisi pada sel spermatozoa sehingga dapat meningkatkan viabilitas dan motilitas

spermatozoa. Selain itu pengenceran juga mampu melindungi spermatozoa dari *cold shock* (kejutan dingin) yang dapat meningkatkan mortalitas semen (Mumu, 2009). Salah satu pengencer yang umum digunakan untuk semen sapi yaitu susu skim kuning telur. Pengencer yang digunakan harus mengandung nutrisi bagi sperma selama penyimpanan agar sperma tetap bergerak progresif, mengandung antioksidan, tidak bersifat racun, sebagai *buffer*, mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik serta mengandung antibiotik yang berfungsi untuk menahan pertumbuhan bakteri (Trilaksana *et al.*, 2015).

Pengencer skim kuning telur adalah pengencer yang dibuat dari campuran susu skim dan kuning telur. Susu skim merupakan susu yang sudah dikurangi kandungan lemaknya. Susu skim merupakan medium yang sangat menguntungkan bagi spermatozoa karena mengandung nutrisi yang penting seperti karbohidrat dan mineral sebagai energi bagi spermatozoa (Lubis *et al.*, 2014). Selain itu, susu skim juga mengandung zat lipoprotein dan lesitin yang berfungsi melindungi sperma dari kejutan dingin (Widjaya, 2011). Bahan yang telah lazim ditambahkan dalam pengencer untuk mencegah pengkristalan dan melindungi dari kejutan dingin dalam sperma sehingga mampu meningkatkan daya hidup sperma adalah gliserol. Gliserol mampu berdifusi ke dalam sel sperma sehingga dapat mencegah kerusakan sel sperma saat proses pembekuan semen. Gliserol yang ditambahkan dalam pengencer harus optimal. Apabila berlebihan gliserol dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik yang akan berakibat dehidrasi sperma, karena kekurangan cairan dalam sperma sehingga dapat meningkatkan kematian sel sperma akibat kerusakan organel-organel sel (Setiono *et al.*, 2015).

Pengencer susu skim kuning telur terdiri dari *buffer* (susu skim), antibiotik (*streptomycin* dan *penicillin*), kuning telur, glukosa dan gliserol (Savitri *et al.*, 2014). Upaya mempertahankan kualitas semen agar berkualitas baik, dibutuhkan medium pengencer yang mengandung nutrisi yang optimum bagi spermatozoa. Selain susu skim, kuning telur juga ditambahkan dalam medium pengencer untuk melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*). Kuning telur mengandung nutrisi yang lengkap dengan komposisi air 48%, protein 16,6%, lemak 32,6%, karbohidrat 1,0% dan mineral 1,1%. Karbohidrat yang terkandung dalam kuning telur salah satunya yaitu glukosa yang mampu menghasilkan energi untuk proses metabolisme spermatozoa (Aila *et al.*, 2016).

2.3. Vitamin C dalam Pengencer

Salah satu penyebab terjadinya kematian spermatozoa kerbau selama proses pembekuan dan *thawing* adalah terjadinya peroksidasi lipid, yang menyebabkan terjadinya perubahan atau kerusakan pada struktur spermatozoa, seperti membran plasma dan tudung akrosom. Kematian spermatozoa tersebut disebabkan membran plasma spermatozoa mengandung asam lemak tak jenuh yang rentan terhadap reaksi peroksidasi (Savitri *et al.*, 2014). Peroksidasi lipid dapat menurunkan daya pembuahan spermatozoa. Kerusakan tersebut dapat dicegah dengan penambahan antioksidan seperti vitamin C ke dalam bahan pengencer untuk meningkatkan ketahanan kualitas spermatozoa selama proses penyimpanan (Andrianto, 2016).

Penambahan vitamin C cukup efektif melindungi semen sapi dari kerusakan oksidasi selama proses pembekuan hingga dicairkan kembali (*thawing*). Vitamin C

yang optimal dalam pengencer dapat berdampak pada kualitas semen dengan cara mengurangi kerusakan sel sperma terutama pada membran plasma sperma (Asadpour *et al.*, 2011). Membran plasma banyak mengandung lemak tak jenuh yang tidak tahan dengan reaksi peroksidasi lipid yang dapat meningkatkan angka kematian spermatozoa selama proses pengolahan karena adanya kontak dengan O₂ (oksigen) sehingga menghasilkan radikal bebas. Vitamin C mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi rantai yang berpengaruh terhadap viabilitas dan fertilitas spermatozoa (Nugroho *et al.*, 2014). Vitamin C juga memiliki kemampuan untuk menguatkan kestabilan jaringan membran plasma terhadap peroksidasi yang terjadi pada saat pengolahan semen beku karena ada kontak langsung dengan O₂ (oksigen) yang dapat menyebabkan kematian pada spermatozoa (Savitri *et al.*, 2014). Semen sebelum didistribusikan harus diuji kualitasnya terlebih dahulu melalui pengujian *post thawing* yang terdiri dari motilitas, mortalitas dan abnormalitas semen.

2.4. Motilitas

Motilitas merupakan cara penilaian yang paling sederhana dalam menentukan layak atau tidaknya semen digunakan untuk IB. Penilaian motilitas semen dilakukan dengan cara subjektif menggunakan mikroskop (Toelihere, 1981). Motilitas semen memegang peranan penting dalam keberhasilan tingkat fertilitas. Motilitas semen *post thawing* yang baik digunakan untuk IB harus memenuhi standar sebesar $\geq 40\%$ (Badan Standarisasi Nasional, 2017).

Penambahan vitamin C mampu meminimalkan kerusakan membran plasma sel sperma yang terjadi akibat reaksi peroksidasi (Feradis, 2009). Vitamin C juga mampu mengikat oksigen radikal dalam sperma sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid yang menghambat motilitas sperma (Rosmaidar *et al.*, 2013). Dosis antioksidan yang terlalu banyak dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi yang menyebabkan aktivitas antioksidan menghilang bahkan antioksidan yang berlebihan dapat menjadi prooksidan sehingga menyebabkan motilitas semen menurun (Savitri *et al.*, 2014).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi motilitas sperma antara lain pengaruh pengenceran, tekanan osmotik dan suhu. Pengencer harus mengandung unsur-unsur yang melindungi semen selama proses pembekuan. Selain itu, pengencer juga harus mengandung nutrisi bagi sel sperma untuk metabolisme sel sehingga sel sperma mampu menghasilkan energi untuk beraktivitas. Sperma memerlukan nutrisi untuk proses metabolisme yang menghasilkan energi berupa ATP sehingga mampu untuk meningkatkan daya gerak (motilitas) semen *post thawing* (Rizal *et al.*, 2003). Motilitas semen dapat terjaga jika tekanan osmotik semen dalam pengencer harus seimbang. Pada umumnya, sperma lebih mudah dipengaruhi keadaan hipertonic yaitu kelebihan cairan dalam tubuh sperma dibandingkan dengan keadaan hipotonik yaitu kekurangan cairan dalam tubuh sperma. Motilitas semen juga sangat dipengaruhi oleh suhu pendinginan ekstrim yang biasa disebut dengan *cold shock*. *Cold shock* dapat dicegah dengan cara pendinginan yang dilakukan secara perlahan-lahan. Selain itu, *cold shock* juga dapat dicegah dengan menambahkan

bahan dalam pengencer yang berfungsi sebagai pelindung sel sperma (Toelihere, 1981).

2.5. Mortalitas

Mortalitas semen merupakan persentase perhitungan sel sperma yang mati. Perhitungan mortalitas dilakukan dengan cara membandingkan sperma yang mati dengan total sperma yang dihitung. Sel sperma memiliki membran plasma dengan permeabilitas yang tinggi terutama pada bagian kepala sperma. Permeabilitas membran tersebut merupakan dasar dalam pewarnaan semen menggunakan eosin untuk membedakan sel sperma yang mati dan yang masih hidup (Toelihere, 1981). Mortalitas dapat dipengaruhi oleh kurangnya antioksidan yang terdapat dalam bahan pengencer seperti vitamin C. Peroksidasi dapat merusak struktur lipid pada membran plasma yang menyebabkan kematian sel sperma (Feradis, 2009). Vitamin C dalam bahan pengencer mampu mencegah reaksi peroksidasi lipid pada membran plasma sperma akibat dari radikal bebas, sehingga mampu mengurangi persentase kematian sperma (Savitri *et al.*, 2014).

Persentase kematian sel sperma dapat disebabkan oleh tekanan osmotik yang meningkat atau hipertonik, sehingga permeabilitas membran plasma sperma menurun dan terjadi perpindahan cairan dari dalam sel sperma menuju keluar tubuh sperma. Hipertonik terjadi akibat dari meningkatnya ion hidrogen dalam semen karena pH yang menurun oleh asam laktat. Asam laktat dalam pengencer meningkat akibat dari proses metabolisme yang meningkat. Namun, perlakuan *thawing* yang terlalu lama dapat meningkatkan proses metabolisme sehingga dapat menurunkan

motilitas semen (Maulida, 2014). Sel sperma yang rusak dan mati diakibatkan oleh pH semen dan pendinginan (Rosmaidar *et al.*, 2013). Selain itu, faktor yang dapat meningkatkan persentase kematian sel sperma adalah suhu pendinginan ekstrim yang biasa disebut dengan *cold shock*. *Cold shock* dapat dicegah dengan cara pendinginan yang dilakukan secara perlahan-lahan dan juga dapat dicegah dengan cara menambahkan bahan dalam pengencer yang berfungsi sebagai pelindung sel sperma dari pengkristalan (Toelihere, 1981).