

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Kondisi Lingkungan**

#### **1. Dataran rendah**

Dataran rendah adalah hamparan luas tanah dengan tingkat ketinggian yang diukur dari permukaan laut adalah relatif rendah (sampai dengan 200 m dpl). Istilah ini diterapkan pada kawasan manapun dengan hamparan yang luas dan relatif datar yang berlawanan dengan dataran tinggi. Pada dataran rendah ditandai dengan suhu udara yang tinggi dan tekanan udara maupun oksigen yang tinggi Hafez (1968).

#### **2. Kelembaban udara**

Kelembaban udara adalah banyaknya kandungan uap air di atmosfer. Udara atmosfer adalah campuran dari udara kering dan uap air. Perubahan tekanan sebagian uap air di udara berhubungan dengan perubahan suhu. (Hardjodino, 1975).

#### **3. Angin dan arah angin**

Angin terjadi karena adanya perbedaan tekanan udara atau perbedaan suhu udara pada suatu daerah atau wilayah. Hal ini berkaitan dengan besarnya energi panas matahari yang di terima oleh permukaan bumi. Pada suatu wilayah, daerah yang

menerima energi panas matahari lebih besar akan mempunyai suhu udara yang lebih panas dan tekanan udara yang cenderung lebih rendah sehingga akan terjadi perbedaan suhu dan tekanan udara antara daerah yang menerima energi panas lebih besar dengan daerah lain yang lebih sedikit menerima energi panas, akibatnya akan terjadi aliran udara pada wilayah tersebut (Lakitan,1994).

Menurut Sientje (2003), angin diturunkan oleh pola tekanan yang luas dalam atmosfer yang berhubungan dengan sumber panas atau daerah panas dan dingin pada atmosfer. Kecepatan angin selalu diukur pada ketinggian tempat ternak berada. Hal ini penting karena transfer panas melalui konveksi dan evaporasi di antara ternak dan lingkungannya dipengaruhi oleh kecepatan angin.

## **B. Sapi Simmental**

Sapi Simmental merupakan sapi potong turunan Bos taurus yang dikembangkan di Lembah Simme, Switzerland dan Swiss. Pertumbuhan ototnya bagus dan penimbunan lemak di bawah kulit rendah. Jenis sapi ini dikembangkan di Australia dan Selandia Baru sejak tahun 1972 lewat introduksi semen beku dari Inggris dan Kanada. Simmental berwarna merah, bervariasi mulai dari yang gelap sampai hampir kuning dengan totol-totol serta mukanya yang berwarna putih.

Sapi ini terkenal karena kemampuannya menyusui anak yang baik serta pertumbuhannya juga cepat, badannya panjang dan padat. Sapi ini termasuk yang berukuran berat baik pada kelahiran, penyapihan maupun saat mencapai dewasa (Blakely dan Bade, 1991).

Anak sapi yang berumur 2 tahun pertumbuhannya pesat sekali. Semua jenis hijauan dapat diberikan pada sapi ini termasuk jerami kering. Sapi yang berumur 23 bulan bobotnya mencapai 800 kg dan pada umur 2,5 tahun bobot sapi mencapai 1,1 ton sistem pemeliharaan ternak sapi yang baik akan memberikan hasil produksi yang baik pula. Sistem pemeliharaan pada ternak sapi yang sering digunakan terdiri atas tiga bagian yaitu ekstensif, intensif dan semi intensif (Sanvorini, 2002).

Sapi Simmental memiliki keunggulan pertumbuhan yang cepat dan harga jualnya yang tinggi. Kualitas semen yang dihasilkan oleh pejantan unggul mempunyai peranan penting dalam IB, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan dengan teliti dan hati-hati. Kriteria pejantan unggul yang baik adalah mempunyai kualitas semen yang bagus dan bobot badan yang tinggi.

### **C. Semen Sapi**

Semen adalah sekresi kelamin hewan jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung. Semen berasal dari pejantan unggul, digunakan untuk inseminasi buatan, semen beku sapi adalah semen yang berasal dari pejantan sapi terpilih yang diencerkan sesuai prosedur dan dibekukan pada suhu minus 196°C. Ada beberapa faktor yang dapat memengaruhi kualitas dan kuantitas semen, salah satu faktor yang memengaruhi kualitas dan kuantitas semen adalah bobot badan. Menurut Susilawati, *et al.*, (1993) semen yang berkualitas dari seekor pejantan unggul dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: berat badan, umur pejantan, sifat genetik, suhu dan musim, frekuensi ejakulasi dan makanan.

Semen terdiri dari *spermatozoa* dan sebagian besar cairan sekresi kelenjar aksesori (plasma semen). Volume semen dan jumlah *spermatozoa* yang diejakulasi pada sapi jantan sangat bervariasi (Turman dan Rich 2010). Hal ini tergantung dari masing-masing ternak individu, umur, musim, nutrisi, bangsa ternak, frekuensi ejakulasi, libido, dan kondisi dari ternak tersebut. Dalam keadaan normal, semen yang lebih kental mengandung *spermatozoa* yang lebih banyak dibandingkan dengan *spermatozoa* yang encer. Semen sapi normal berwarna seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh. Konsentrasi *spermatozoa* sapi normal adalah antara  $0,8 - 2,0 \times 10^9$  *spermatozoa/ml* (Garner dan Hafez 2000)

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan dan selanjutnya dibekukan pada suhu tertentu yang bertujuan untuk penghentian sementara kegiatan hidup dari sel tanpa mematikan fungsi sel, reaksi metaboliknya berhenti mendekati total. Sel yang tidak bergerak menurunkan kecepatan metabolisme sehingga dapat menghemat dalam penggunaan energi sehingga proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Pembuatan semen beku merupakan teknik penyimpanan semen yang efektif karena dapat disimpan dalam waktu yang lama (Vishwanath dan Shannon 2000). *Spermatozoa* yang telah dibekukan dan dicairkan kembali (*thawing*) akan menghasilkan *spermatozoa* yang sebagian sudah mengalami kapasitas sehingga daya hidupnya rendah dan motilitas progresifnya tidak sebaik *spermatozoa* yang masih segar. *Spermatozoa* yang sudah mengalami kapasitas akan bergerak hiperaktif atau berlebihan namun gerakannya kurang progresif (Ismaya 2009).

Dari segi fisiologis, plasma semen berfungsi sebagai sarana transportasi sperma pada saat melalui saluran reproduksi jantan ketika ejakulasi, mengaktifkan untuk sperma non motil dan sebagai bahan penyangga yang kaya akan nutrisi yang berperan untuk membantu sperma supaya tetap hidup setelah dipindahkan ke dalam saluran reproduksi betina (Evan dan Maxwell, 1987). Plasma semen terdiri atas zat-zat organik dan anorganik. Zat-zat organik yang dikandung plasma semen terdiri atas fosforilkolin, gliserilfosforilkolin, asam sitrat, fruktosa, inositol, sorbitol, ergotonin, dan sperumin sedangkan zat-zat anorganik yang dikandungnya terdiri atas kalium, kalsium, dan bikarbonat. Dengan adanya komponen kimiawi tersebut pH semen sekitar 7,0 dengan tekanan osmotik sama dengan tekanan osmotik darah yaitu 0,9% NaCl (Partodiharjo, 1982).

Sel sperma terdiri atas kepala, leher, dan ekor. Sperma terdiri atas deoksiribonukleoprotein dan mukopolisakarida. Deoksiribonukleoprotein terdapat dalam nukleus dan kepala sperma, sedangkan mukopolisakarida terdapat dalam kromosom yang berfungsi sebagai pembungkus kepala sperma yang terikat di dalam molekul protein. Plasmalogen atau lemak terdapat pada leher, badan, dan ekor sperma. Plasmalogen berfungsi sebagai sarana respirasi bagi sperma dan ditutup oleh selubung protein berbentuk keratin (Salisbury dan VanDemark, 1985)

Model pengemasan semen beku yang biasa digunakan menurut Hafez (1993) yaitu:

1. *straw* yang terbuat dari polivinil klorida, terdapat dua ukuran yaitu *ministrav* berisi 0,25 ml dan *midistrav* berisi 0,5 ml semen;
2. ampul gelas berisi 0,5-1 ml semen;

3. *pellet* berisi 0,1-0,2 ml semen.

Umur dan daya guna semen yang dibekukan akan bertahan lama karena pembekuan adalah menghentikan sementara kegiatan hidup dari sel (metabolisme sel) tanpa mematikan fungsi sel dimana proses hidup dapat terus berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Jadi, pada prinsipnya menggunakan faktor penurunan temperatur untuk mempertahankan daya hidup dan kemampuan fertilisasi *spermatozoa* (Partodiharjo, 1982).

#### **D. Penyimpanan dan Pindahan Semen Beku**

Semen beku harus disimpan pada suhu yang sangat dingin dan yang umum dilakukan adalah menyimpannya dalam kontainer berisi nitrogen cair bersuhu  $-196^{\circ}\text{C}$  ( $-320^{\circ}\text{F}$ ). Metode lain yang digunakan adalah penyimpanan secara mekanik bersuhu  $-110^{\circ}\text{C}$  ( $-166^{\circ}\text{F}$ ) dan  $\text{CO}_2$  padat atau es kering bersuhu  $-79^{\circ}\text{C}$  ( $-110^{\circ}\text{F}$ ) (Sorensen, 1975).

Pada saat proses pindahan semen tidak boleh mengalami temperature *shock* atau perbedaan suhu yaitu perbedaan antara suhu semen dengan suhu lingkungan serta tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung.

Untuk mengantisipasi hal tersebut, diperlukan syarat-syarat pindahan semen beku yang baik adalah sebagai berikut:

1. pindahan semen beku harus dilakukan dengan cepat (maksimal 5 detik) dan sebaiknya dilakukan dengan pinset;
2. pindahan semen harus menggunakan goblet dan dilakukan dalam rendaman nitrogen cair pada *storage* kontainer;

3. diusahakan terhindar dari angin dan sinar matahari.

Perlu diperhatikan bahwa kira-kira 50% sampai 70% sel-sel sperma akan mati atau imotil karena proses pembekuan (BIB Lembang, 1997).

Selama penyimpanan dalam jangka waktu yang lama aktivitas gerakan dan metabolisme yang dilakukan oleh sperma membutuhkan energi yang besar. Oleh karena itu, lama hidup sperma sangat terbatas pada energi yang terkandung di dalam tubuhnya dan plasma semen.

#### **E. *Thawing***

Pencairan kembali semen beku dapat dilakukan dengan berbagai cara dan apapun cara *thawing* yang dilakukan harus berpegang kepada prinsip bahwa kurva peningkatan suhu semen harus naik secara konstan sampai waktu inseminasi, sebab suhu semen beku yang naik turun sesudah *thawing* akan mematikan *spermatozoa*, maka disarankan agar memegang *straw* pada bagian ujungnya untuk menghindari pengaruh suhu panas yang mengalir dari tangan (Toelihere, 1993 Dan BIB Lembang, 1997).

Adapun yang dapat memengaruhi *thawing* yaitu:

##### 1. Suhu dan lama *thawing*

Selk (2002) menyatakan bahwa untuk menghindari bahaya *cold shock* pada *straw* beku dilakukan *thawing* selama 10 sampai 60 detik menggunakan air hangat.

Toelihere (2003) menyatakan bahwa *thawing* dilakukan dengan temperatur dengan suhu 34°C selama 15 detik. Sayoko *et al.*, (2007) menyatakan bahwa

*thawing* menggunakan air hangat akan memberikan hasil persentase *spermatozoa* hidup lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan air sumur.

lama *thawing* 30 detik memberikan hasil lebih baik terhadap persentase *spermatozoa* hidup dari pada *thawing* selama 15 detik. Temperature *thawing* 21-25°C dengan waktu di bawah satu menit memperoleh tingkat motilitas 51, 17% lebih baik dari temperatur *thawing* 5°C yang memiliki motilitas sebesar 45,95% (Adikarta dan Listiana Wati, 2001). Oleh karena itu dianjurkan untuk *thawing* tidak lebih dari 60 detik dan menggunakan air hangat guna mengurangi mortalitas *spermatozoa*.

Pada proses *thawing*, *straw* dipindahkan dari kontainer ke media *thawing*. Dalam perlakuan tersebut *straw* berada di udara luar yang berpotensi merusak. Lama *thawing* adalah 15 detik, yaitu yang dibutuhkan agar semen beku mencair dengan sempurna. Sesudah pencairan kembali, semen beku merupakan barang rapuh dan tidak dapat bertahan lama seperti semen cair (Toelihere, 1993).

Di Jerman Barat bagian Utara, metode *thawing* terhadap *straw* dilakukan pada air bersuhu 34°C selama 15 detik, terhadap ampul digunakan air bersuhu 40°C selama 35-40 detik. Di Amerika, metode *Thawing* dilakukan dengan memasukkan *straw* kedalam air es yang bersuhu 5°C selama 5-6 menit. Untuk Indonesia metode *thawing* yang paling praktis adalah dengan menggunakan air kran atau sumur, dengan catatan semen yang sudah dicairkan harus diinseminasikan dalam waktu kurang dari 5 menit (Toelihere, 1993). Persentase motilitas tertinggi dicapai pada waktu segera setelah semen beku dicairkan kembali dan akan menurun seiring bertambahnya waktu sesudah *thawing* (Gustari, 1993).

Semakin cepat perubahan suhu *thawing* dapat mengurangi tekanan *spermatozoa* dan melewati masa tidak stabil (kritis) dengan cepat, sehingga *spermatozoa* hidup dan normal lebih banyak. Lama pencelupan pada air *thawing* yang pendek memberikan *spermatozoa* yang hidup lebih maksimal. Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan *spermatozoa* khususnya keutuhan *spermatozoa* dalam semen. Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan *spermatozoa*, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi (Handiwirawan, *et al* 1997).

## 2. Perpindahan panas

Perpindahan panas dapat mempengaruhi suatu zat atau benda, perpindahan panas dapat di bedakan menjadi 3 yaitu:

- a. Konveksi adalah perpindahan panas yang disertai dengan perpindahan zat perantaranya. Perpindahan panas secara Konveksi terjadi melalui aliran zat;
- b. Radiasi adalah perpindahan panas tanpa melalui perantara. Merupakan proses terjadinya perpindahan panas (kalor) tanpa menggunakan zat perantara;
- c. Konduksi adalah perpindahan panas melalui zat perantara. Namun, zat tersebut tidak ikut berpindah ataupun bergerak. Pada konduksi perpindahan energi panas (kalor) tidak di ikuti dengan zat perantaranya (<http://www.miung.com/2013/05/pengertian-perpindahan-panas-konveksi.html>)

## F. Evaluasi semen beku

Evaluasi atau pemeriksaan semen merupakan suatu tindakan yang perlu dilakukan untuk mengetahui kualitas dan kuantitas semen (Kartasudjana 2001). Evaluasi yang dilakukan meliputi persentase motilitas *spermatozoa*, persentase *spermatozoa*, hidup dan persentase membran plasma utuh. Evaluasi kualitas semen beku dilakukan setelah pencairan kembali atau *post thawing*. Evaluasi ini meliputi penghitungan persentase hidup dan gerakan individual dari *spermatozoa*.

Berdasarkan petunjuk teknis pengawasan mutu bibit ternak standar minimal untuk semen beku yang baik mengandung 25 juta *spermatozoa* / 0,25 ml dan motilitas *post thawing* sebesar 40% (Ditjenak 2009). Motilitas sering dijadikan indikator fertilitas *spermatozoa*. Pengujian motilitas dilakukan untuk mengetahui pergerakan dari ekor *spermatozoa*. Namun demikian pergerakan *spermatozoa* dipengaruhi juga oleh integritas struktur morfologi *spermatozoa*. Persentase motilitas merupakan persentase *spermatozoa* yang bergerak progresif ke depan. Evaluasi dilakukan dengan cara mengamati *spermatozoa* pada 10 lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Angka yang diberikan berkisar antara 0% hingga 100% (Turman dan Rich 2010).

Teknik pewarnaan eosin-nigrosin dilakukan untuk penilaian *spermatozoa* hidup. Teknik pewarnaan differensial eosin nigrosin merupakan teknik yang sederhana untuk pengujian *spermatozoa* hidup. Zat warna eosin akan diserap oleh *spermatozoa* yang mati sehingga akan berwarna merah atau merah muda akibat permeabilitas dinding sel meninggi pada sel *spermatozoa* yang mati, sedangkan nigrosin akan mewarnai latar dari *spermatozoa*.

Pewarna eosin digunakan karena mempunyai sifat asam sehingga mampu mendeteksi sperma yang bersifat basa hidup atau tidak. Jika eosin dipertemukan dengan sperma yang masih hidup maka cairan eosin tidak dapat masuk ke sperma, dikarenakan selaput sperma yang sama asamnya dengan eosin sehingga saling tolak-menolak. Sedangkan jika sperma mati kemungkinan selaputnya juga rusak, maka eosin dapat masuk ke tubuh sperma. Setelah ditetesi eosin, maka preparat diletakkan dibawah mikroskop, diamati *spermatozoa* hidup dengan perbesaran 100x. Setelah didapatkan fokus kemudian diamati dan difoto menggunakan kamera digital dan diperoleh hasil pewarnaan sperma (Narato, 2009).

#### **G. Motilitas *Spermatozoa***

Motilitas adalah jumlah yang bergerak maju ialah jumlah *spermatozoa* semua dikurangi jumlah mati. Dianggap normal jika motil laju  $> 40\%$ . Menurut Rehan *et al.*, (1975) dalam Yatim (1984), yang normal % motilnya ialah  $63 \pm 16$  SD dengan range 10—95, namun penelitian melaporkan *spermatozoa* yang tidak bergerak belum tentu mati, mungkin ada sesuatu zat sitotoksin atau antibodi yang membuatnya tidak bergerak.

Keanekaragaman metabolisme *spermatozoa* memungkinkan pengendalian aktivitas metabolisme dengan merubah faktor lingkungan tertentu seperti suhu, jumlah substrat, koloid, serta ion-ion atau gas dalam lingkungannya, yang dapat memperpanjang daya fertilitas *spermatozoa* diluar tubuh, sehingga terdapat keterkaitan antara proses metabolisme *spermatozoa* dan pergerakan *spermatozoa* (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Menurut Toelihere (1985), faktor-faktor yang mempengaruhi metabolisme *spermatozoa* yaitu:

#### 1. Suhu

Suhu yang tinggi dapat meningkatkan angka metabolisme dan menurunkan ketahanan *spermatozoa* hidup. Bila suhu dinaikkan mencapai 50°C maka motilitas *spermatozoa* akan terhenti, karena ketahanan substrat, menurunnya pH akibat akumulasi asam laktat, atau kombinasi kedua faktor tersebut dan penyimpanan *spermatozoa* pada suhu rendah dapat menekan angka metabolisme tetapi fertilitas *spermatozoa* masih dapat dipertahankan;

#### 2. Konsentrasi

Peningkatan konsentrasi *spermatozoa* pada ejakulasi normal akan menurunkan angka metabolisme. Potassium merupakan kation utama dalam sel *spermatozoa* dan sodium merupakan kation utama dalam plasma seminalis. Potasium merupakan penghambat alamiah metabolisme *spermatozoa* sehingga dengan meningkatnya konsentrasi sel *spermatozoa* akan menurunkan angka metabolisme;

#### 3. Tekanan osmosis

Sperma tetap motil dalam waktu lama di dalam media yang osotonik. Pengencer yang bersifat hipotonik dan hipertonic akan menurunkan angka metabolisme.

Membran *spermatozoa* bersifat *semipermeabel*, pengencer yang bersifat hipotonik dan hipertonic akan mengakibatkan transfer air melalui membran sehingga integritas sel;

#### 4. Hormon

Testoteron dan beberapa androgen lain akan menurunkan angka metabolisme.

Cairan dalam saluran reproduksi betina akan meningkatkan aktivitas metabolisme

yang ditunjukkan dengan meningkatnya motilitas *spermatozoa*, terutama disebabkan oleh estrogen.

#### 5. Zat anti bakteri

Penisilin dan dihidrostreptomisin atau neomisin sering ditambahkan ke dalam semen untuk mengontrol perkembangan bakteri sehingga persaingan penggunaan substrat dapat dihindari;

#### 6. Gas

Konsentrasi karbondioksida yang rendah akan menstimulasi metabolisme aerob, oksigen yang dibutuhkan akan memacu respirasi sel sehingga dapat meningkatkan proses metabolisme *aerob spermatozoa*;

#### 7. Pengaruh cahaya

Sinar matahari yang langsung mengenai *spermatozoa* akan menurunkan motilitas, angka metabolisme, dan fertilitas *spermatozoa* karena meningkatnya suhu. Sinar atau cahaya dapat menyebabkan suatu reaksi fotokemis di dalam sperma, yang menghasilkan hidrogen peroksida dalam jumlah yang toksik;

#### 8. pH

aktivitas optimum enzim-enzim pada *spermatozoa* berlangsung pada pH 7,0 (6,9-7,5 tergantung jenis spesies). Aktivitas metabolisme tertinggi dicapai pada pH mendekati pH netral. Pada pH asam angka metabolisme akan turun dan pada pH basa angka metabolisme akan meningkat, namun *spermatozoa* akan cepat kelelahan.

Untuk mengetahui motilitas *spermatozoa* dilakukan cara yaitu sampel semen ditetaskan diatas gelas objek dan ditutup *cover glass* dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan menghitung

persentase *spermatozoa* yang pergerakannya progresif maju ke depan dibandingkan dengan yang tidak bergerak sebanyak  $\pm 100$  *spermatozoa* dengan satuan persen (Partodiharjo, 1992).

$$\% \text{ Motilitas } Spermatozoa = \frac{\text{total } spermatozoa \text{ yang diamati}}{\text{jumlah } spermatozoa \text{ progresif}} \times 100\%$$

Penilaian semen menurut Toelihere (1981), dapat ditentukan sebagai berikut:

- a. 0 % : *spermatozoa* tidak bergerak;
- b. 0-30 % : gerakan berputar ditempat; bergerak progresif;
- c. 30-50 % : gerakan berayun atau melingkar; bergerak progresif;
- d. 50–80 % : ada gerakan massa; bergerak progresif;
- e. 80–90% : ada gelombang; bergerak progresif;
- f. 90 – 100 % : gelombang sangat cepat; bergerak sangat progresif;

Penilaian gerakan individual *spermatozoa* menggunakan mikroskop dan melihat pola pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan merupakan gerakan terbaik. Gerakan melingkar atau gerakan mundur merupakan tanda *cold shock* atau media yang kurang isotonik terhadap semen. Gerakan berayun dan berputar-putar di tempat biasanya terlihat pada semen yang sudah tua dan apabila kebanyakan *spermatozoa* berhenti bergerak dan dianggap mati. Motilitas *spermatozoa* dipengaruhi oleh kemampuan metabolisme *spermatozoa* yang ditunjang oleh lingkungan yaitu suhu dan komponen-komponen yang terdapat di dalam medium (Toelihere,1993).

## H. Persentase *Spermatozoa* hidup

Persentase *spermatozoa* hidup sangat dipengaruhi oleh suhu, sinar matahari secara langsung dan guncangan yang berlebihan Toelihere (1993). Pengamatan gerakan individu dilihat dengan mikroskop, dihitung di semua lapangan pandang. Metode pewarnaan eosin 2% adalah metode yang dilakukan dalam pemeriksaan persentase *spermatozoa* hidup. Perhitungan persentase *spermatozoa* hidup menurut Mumu (2009) adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Spermatozoa hidup} = \frac{\text{sel sperma hidup}}{\text{sel sperma hidup} + \text{sel sperma mati}} \times 100\%$$