

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Sapi Bali

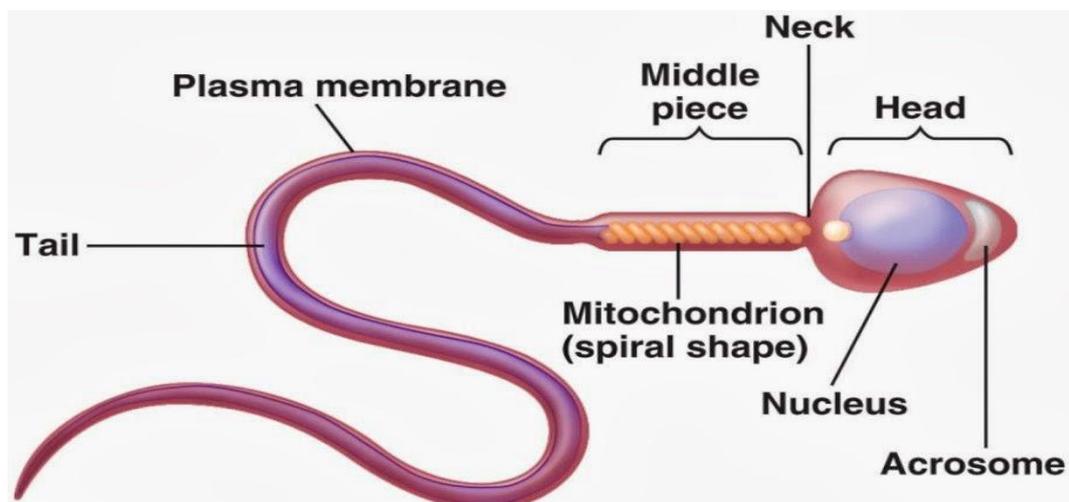
Sapi Bali merupakan sapi dari golongan *Bos sondaicus* yang telah mengalami proses domestikasi sebelum 3.500 SM di wilayah Pulau Jawa atau Bali dan Lombok. Sapi Bali merupakan plasma nutfah asli Indonesia dan kemurnian genetiknya telah dilindungi dengan Peraturan Gubernur Bali Nomor 45 Tahun 2004 dan Perda No 2/2003 yang melarang bibit Sapi bali betina keluar dari wilayah Provinsi Bali (Guntoro, 2008).

Sapi Bali termasuk kategori sedang dengan berat dewasa berkisar antara 211--303 kg untuk ternak betina dan 337--494 kg untuk ternak jantan. Sapi Bali jantan dan betina tidak memiliki punuk dan seolah tidak bergelambir. Pertambahan bobot tubuh Sapi Bali berkisar antara 0,6 kg--0,8 kg dengan persentase karkas cukup tinggi berkisar antara 52--60% (Guntoro, 2008). Secara umum ukuran badan Sapi Bali termasuk kategori sedang dengan bentuk badan memanjang, dada dalam, badan padat dengan perdagingan yang kompak, kepala agak pendek, telinga berdiri dan dahi datar (Murtijo, 1990).

## B. Semen

Semen adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan Inseminasi Buatan (Toelihere, 1985). Semen terdiri dari dua bagian, spermatozoa atau sel-sel kelamin jantan yang bersuspensi di dalam suatu cairan dan medium semi-gelatinous yang disebut plasma semen (Toelihere, 1985).

Menurut Nalbandov (1990), sel spermatozoa yang normal terbentuk dari kepala, leher dan ekor. Kepala ditutup oleh tudung protoplasmik. Bentuk kepala bervariasi tergantung spesies. Bentuk kepala spermatozoa pada sapi, domba, babi dan kelinci berbentuk bulat telur pipih, sedangkan pada manusia berbentuk bulat. Leher merupakan bagian tengah dan ekor tidak tersusun dari flagellum tunggal yang padat tetapi tersusun dari beberapa berkas fibril yang dibungkus oleh suatu selubung, pada puncak ekor selubung menghilang dan fibril menyembul dalam bentuk sikat yang telanjang.



Gambar 1. Sel spermatozoa

Sifat-sifat fisik dan kimiawi semen sebagian besar ditentukan oleh plasma semen (Mann, 1967 dalam Toelihere 1985). Plasma semen merupakan sekresi epididimis dan kelenjar kelamin asesori yaitu *vesica seminalis*, *prostata* dan *bulbourethralis*. Sekresi tersebut berfungsi sebagai *buffer* dan medium bagi spermatozoa agar daya hidupnya dapat dipertahankan secara normal setelah ejakulasi (Hafez, 2000; Partodihardjo, 1982).

Menurut Toelihere (1985), sekitar 90% volume semen sapi terdiri dari plasma semen. Plasma semen terkenal secara biokimiawi karena mengandung persenyawaan-persenyawaan kimiawi organik spesifik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, inositol, *glycerylphosphoryl-choline* (GPC), ergothionine dan prostaglandin yang tidak ditemukan di bagian-bagian lain dari tubuh hewan dalam konsentrasi sedemikian tinggi.

Tabel 1. Komposisi kimiawi semen sapi penuh

Konstituen Semen	Sapi
pH	6,4--7,8
Air (g/100ml)	87--95
Natrium (mmol/l)	140--280
Kalium (mmol/l)	80--210
Kalsium (mmol/l)	35--60
Magnesium (mmol/l)	7--12
Klorida (mmol/l)	110--290
Fruktosa (g/100ml)	150--900
Sorbitol (g/100ml)	10--140
Asam sitrat gr/100ml	340--1150
Inositol (g/100ml)	25--46
<i>Glycerylphosphoryl-choline</i> (GPC) (g/100ml)	100--500
Ergothioneine (g/100ml)	kosong
Protein (g/100ml)	6,8
Plasmalogen (g/100ml)	30--90

Sumber : Toelihere (1985)

### C. Karakteristik Semen Sapi

Semen dari jenis ternak tertentu memiliki karakteristik yang berbeda, Feradis (2010) dan Nursyam (2007) menyatakan bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh. Volume semen sapi berkisar antara 5--8 ml/ejakulasi (Garner dan Hafez, 2000); 2--10 ml/ejakulasi (Nalbandov, 1990); 1--15 ml/ejakulasi (Toelihere, 1993). Untuk pH semen segar adalah 6,4--7,8 (Butar, 2009; Nalbandov, 1990; Toelihere, 1985). Konsentrasi spermatozoa sapi yang baik berkisar antara  $2000\text{--}2200 \times 10^6$  sel spermatozoa tiap ml semen (Garner dan Hafez, 2000);  $800\text{--}2000 \times 10^6$  (Toelihere, 1993). Motilitas semen sapi yang baik berkisar antara 40--75% (Garner dan Hafez, 2000). Menurut Toelihere (1985), penilaian gerakan individu yang terlihat pada mikroskop adalah sebagai berikut :

- 0 % : spermatozoa tidak bergerak;
- 0--30 % : gerakan berputar ditempat; pergerakan progresif;
- 30--50 % : gerakan berayun atau melingkar; pergerakan progresif;
- 50--80 % : ada gerakan massa; pergerakan progresif;
- 80--90 % : ada gelombang; pergerakan progresif;
- 90--100 % : gelombang sangat cepat; pergerakan sangat progresif;

### D. Metabolisme Spermatozoa

Reaksi yang menghasilkan energi di dalam semen hanya berlangsung pada spermatozoa (Mann, 1964). Menurut Toelihere (1985), energi untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan *Adenosin Triphosphat* (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi-reaksi penguraiannya menjadi *Adenosin*

*Diphosphat (ADP) dan Adenosin Monophosphat (AMP). Adenosin Triphosphat (ATP) adalah energi yang diperlukan sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa, ATP akan di konversikan menjadi ADP yang menghasilkan 7.000 kalori per mol energi. Reaksinya sebagai berikut :*



Dalam keadaan normal energi yang dilepaskan dapat dipakai sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesa), jika tidak dipergunakan sewaktu dilepaskan, ia akan menghilang sebagai panas.

Apabila pemberian energi berupa senyawa phosphor (P~P) di dalam ATP dan ADP habis, maka kontraksi fibril-fibril spermatozoa akan terhenti dan spermatozoa tidak bergerak. Untuk melangsungkan pergerakan spermatozoa ATP dan ADP harus dibangun kembali, untuk membangun ATP dari ADP, atau ADP dari AMP dengan penambahan gugusan *phosphoryl*, diperlukan sumber energi dari luar.

Dalam kebanyakan aktivitas fisiologik, sumber energi tersebut didapatkan dari hidrat arang atau lemak. Ditemukan empat bahan organik di dalam semen yang dapat dipakai secara langsung atau tidak langsung oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya. Bahan-bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, GPC dan plasmalogen. Dalam pengaplikasiannya, keempat bahan tersebut dapat digunakan secara langsung apabila tersedia oksigen

yang secara normal terdapat dalam semua bagian saluran kelamin betina. Pembentukan kembali ATP sebagai pemberian energi dapat terjadi dengan keadaan tanpa oksigen oleh fruktolisis dan dengan oksigen melalui respirasi dan fruktolisis, dengan kata lain hanya hidrat arang yang mampu menghasilkan energi bagi spermatozoa baik dengan atau tanpa oksigen.

#### **E. Susu Skim Kuning Telur sebagai Pengencer**

Pengencer adalah suatu bahan yang dapat mengawetkan spermatozoa dan menyediakan kondisi osmotik yang baik (menguntungkan) sebagaimana menyediakan energi bagi spermatozoa selama penyimpanan, pendinginan, *equilibrasi* dan pembekuan. Penambahan protektan pendingin seperti kuning telur dan krioprotektan seperti gliserol, karbohidrat, laktosa atau sukrosa adalah penting untuk melindungi spermatozoa selama pendinginan, pembekuan dan *thawing* (Farstadt, 1996).

Menurut Toelihere (1993), pengenceran semen bertujuan untuk menambah volume semen dari setiap ejakulasi dan memberi zat-zat makanan yang diperlukan untuk mempertahankan daya tahan hidup dan fertilitas spermatozoa, disamping itu pengencer harus mempunyai sifat-sifat seperti plasma semen yaitu harus dapat menciptakan keadaan yang memungkinkan spermatozoa tahan terhadap kondisi buatan yang berhubungan dengan penyimpanan.

Menurut Salisbury dan VanDemark (1985), pengencer yang baik harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- a. mempunyai tekanan osmosa isotonis dengan darah sapi jantan dan dapat mempertahankan tekanan isotonis itu selama penyimpanan;

- b. memberikan imbalan unsur mineral yang dibutuhkan untuk kehidupan spermatozoa;
- c. menyediakan bahan makanan sel mani untuk proses metabolisme aeroba dan anaeroba;
- d. memiliki lipoprotein atau *lechitin* untuk melindungi sel mani terhadap kejutan dingin;
- e. menyediakan penyanggah terhadap produk akhir metabolisme yang bersifat racun terhadap spermatozoa;
- f. merupakan sumber bahan reduksi untuk melindungi enzim seluler yang mengandung *sulphydryl*; dan
- g. bebas dari substansi produk kuman-kuman atau organisme penyakit menular yang berbahaya terhadap spermatozoa, alat-alat reproduksi sapi betina, proses fertilisasi, implantasi dan pengembangan ovum yang difertilisasi.

Menurut Toelihere (1985), pengencer memiliki fungsi sebagai berikut :

- 1. menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa yang terdiri dari karbohidrat, glukosa, protein, zat anorganik dan inorganik;
- 2. melindungi spermatozoa dari pengaruh buruk pendinginan (*cold shock*);
- 3. menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan pH;
- 4. mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit;
- 5. mengandung antibiotik untuk melindungi semen dari kontaminasi mikroba;

6. memperbanyak volume semen sehingga lebih banyak hewan betina yang diinseminasikan dalam satu ejakulat.

Bahan pengencer yang digunakan sebagai preservasi semen harus memenuhi persyaratan, sebagai berikut :

1. murah, sederhana dan praktis dibuat tetapi mempunyai daya preservasi tinggi;
2. mempunyai sifat fisik dan sifat kimiawi yang hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat-zat toksik;
3. dapat mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilisasi spermatozoa; dan
4. memberikan kemungkinan penilaian spermatozoa sesudah pengenceran.

Menurut Hunter (1995) *dalam* Salisbury dan VanDemark (1985), baik susu penuh maupun susu skim memenuhi kriteria sebagai larutan penyangga ketika dipanaskan pada suhu 90°C--95°C selama 10 menit. Susu juga dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat *cold shock* selama pendinginan dan sumber nutrien untuk metabolisme spermatozoa.

Pengencer susu skim bebas lemak dikombinasi dengan glukosa umum digunakan sebagai pengencer terutama untuk penyimpanan, tetapi juga baik untuk evaluasi. Pengencer ini dapat menjaga motilitas dan fertilitas spermatozoa dengan baik dan relatif lebih murni serta mudah untuk menyiapkannya. Pengencer ini membutuhkan pemanasan pada suhu 92°C--95°C selama 10 menit untuk menginaktifkan laktenin, yaitu suatu agen anti *streptococcus* yang ditemukan di

dalam susu dan dapat bersifat toksik bagi spermatozoa sapi dan kuda (Maxwell dan Salamon, 1993).

Menurut Salisbury dan VanDemark (1985), proses pemanasan susu dapat melepaskan glukosa dari disakarida dan laktosa di dalam susu. Susu sapi normal mengandung sejumlah glukosa tertentu yang menyediakan zat karbohidrat yang bermanfaat untuk spermatozoa dan beberapa karbohidrat yang tidak jelas identifikasinya, substansi pelindung lesitin dan substansi untuk proses oksidasi metabolisme, termasuk penguraian komponen lemak seperti gliserol dan asam-asam organik.

Dalam pengencer perlu penambahan bahan lain yang dapat berfungsi sebagai pelindung ekstraseluler selama penyimpanan (Hafez, 2008). Kuning telur sering ditambahkan dalam pengencer karena terbukti dapat memperpanjang daya hidup spermatozoa sapi (Moce dan Graham, 2006), menyediakan infrastruktur membran, dan menambah fluiditas membran yang dapat meningkatkan kemampuan fertilisasi (Ladha, 1998), mengubah fase transisi lipid selama terjadi perubahan suhu sehingga dapat mengurangi sensitivitas terhadap suhu dingin (Zeron dkk., 2002).

Sekitar 30% dari berat telur adalah bagian dari kuning telur, kuning telur mempunyai komposisi yang lebih lengkap dibandingkan dengan putih telur. Komposisi kuning telur terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat mineral dan vitamin (Sarwono, 1995) dan protein telur termasuk sempurna karena mengandung semua jenis asam amino esensial dalam jumlah yang cukup seimbang (Haryanto, 1996). Kelebihan kuning telur ini terletak pada lipoprotein dan lesitin yang

terkandung di dalamnya yang dapat mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa dan mencegah *cold shock* (Salisbury dan VanDemark, 1985).

## **F. Karbohidrat**

Ketersediaan sumber energi yang berasal dari karbohidrat merupakan salah satu prasyarat untuk pengencer semen yang baik. Karbohidrat dalam bahan pengencer mempunyai beberapa fungsi yaitu sebagai sumber nutrisi, mengatur tekanan osmotik dan sebagai krioprotektan (Yildiz dkk., 2000). Karbohidrat dapat menjadikan membran plasma sel lebih stabil selama proses kriopreservasi (Bakas dan Disalvo, 1991). Efek krioprotektif karbohidrat dihasilkan dari terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus hidroksil karbohidrat dan bagian kepala polar fosfolipida membran plasma sel, sehingga karbohidrat menggantikan posisi molekul air selama proses dehidrasi berlangsung saat pembekuan (Aisen dkk., 2002).

Proses metabolisme yang menghasilkan ATP dapat berlangsung dengan baik jika membran sel tetap terlindungi, sehingga spermatozoa tetap mampu mempertahankan motilitas dan daya hidupnya. Sebagai krioprotektan ekstraseluler, karbohidrat akan melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan secara mekanik yang mungkin terjadi saat proses kriopreservasi semen. Menurut Maxwell dan Salamon (2000), karbohidrat dalam keadaan beku berbentuk seperti kaca (*glass*) yang tidak tajam, sehingga tidak merusak sel spermatozoa secara mekanik.

Karbohidrat juga memegang peranan penting dalam menurunkan kandungan garam larutan pengencer, sehingga dapat mengurangi efek solusi (*solution effect*). Ini menyebabkan karbohidrat dapat mencegah kerusakan terhadap sel akibat meningkatnya kadar garam selama proses pembekuan. Dengan demikian, karbohidrat dapat mengatur fluiditas membran plasma sel spermatozoa (Nicollajsen dan Hvidt, 1994 *dalam* Salisbury dan VanDemark, 1985).

Proses pengenceran, pendinginan, dan penyimpanan yang lama menginduksi reduksi dari integritas membran plasma. Persentase spermatozoa dengan membran plasma yang rusak meningkat setelah didinginkan. Dengan penambahan karbohidrat, kerusakan membran plasma dapat dikurangi. Konsentrasi karbohidrat punya efek protektif terhadap integritas membran plasma (Panglowhapan dkk, 2003).

Menurut Maxwell dan Salamon (1993), beberapa karbohidrat dapat menjadi sumber energi bagi spermatozoa selama penyimpanan yaitu glukosa dan fruktosa. Menurut Hafez (2000), pada pengolahan semen cair, semen yang telah disentrifugasi dilarutkan dalam bahan pengencer yang mengandung karbohidrat sebagai sumber energi yang umumnya berupa glukosa, fruktosa, dan laktosa, mengandung penyangga maupun buffer lainnya dan mengandung bahan anti kejutan dingin (*cold shock*) untuk mencegah kerusakan spermatozoa akibat penyimpanan dalam suhu rendah.

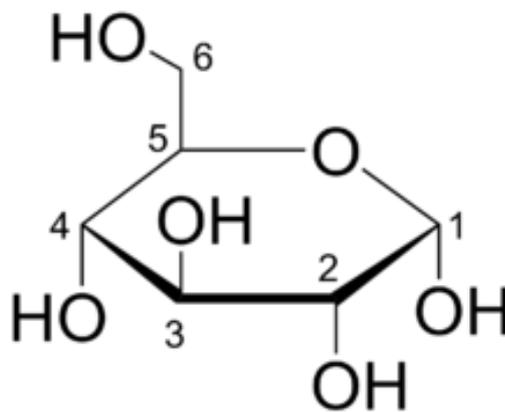
Glukosa dan Fruktosa adalah monosakarida atau gula sederhana dengan rumus molekul ( $C_6H_{12}O_6$ ) yang tidak dapat dihidrolisis menjadi bentuk yang sederhana

lagi. Pengaruh utama penambahan glukosa dan fruktosa pada semen cair adalah mempertahankan motilitas (Panglowhapan, 2003).

### 1. Glukosa

Glukosa merupakan bahan bakar utama penghasil energi pada semua sistem kerja biologi atau pada semua organisme. Glukosa merupakan molekul karbohidrat utama yang berfungsi sebagai bahan bakar untuk semua tipe sel (Mansjur, 2001).

Menurut Tillman, dkk., (1986), glukosa dalam alam terdapat dalam bentuk D-glukosa yang banyak terdapat pada buah-buahan dan madu. Glukosa merupakan komponen dasar bagi pembentukan molekul pati dan selulosa. Secara komersial, glukosa dihidrolisis dari pati jagung. Glukosa merupakan bagian terpenting dalam nutrisi yang merupakan produk akhir dari pencernaan karbohidrat oleh ternak non ruminansia, dan bentuk primer yang digunakan sebagai sumber energi.

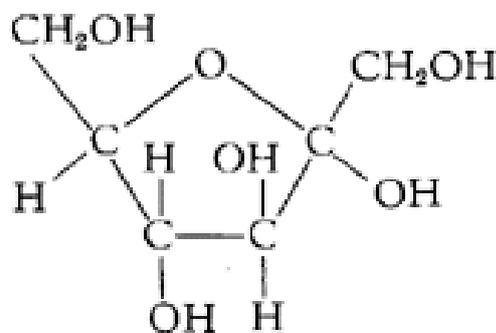


Gambar 2. Struktur D-Glukosa

Kuning telur mengandung glukosa yang lebih suka dipergunakan oleh sel-sel spermatozoa sapi untuk metabolismenya daripada fruktosa yang terdapat di dalam semen (Van Tienhoven dkk, 1952 *dalam* Toelihere 1985).

## 2. Fruktosa

Fruktosa disebut sebagai gula buah-buahan dan ditemukan dalam bentuk bebas pada hijauan daun, buah-buahan dan madu. Fruktosa juga terdapat dalam sukrosa dan fruktan. Di tanaman, fruktosa dapat berbentuk monosakarida dan/atau sebagai komponen dari sukrosa. Sukrosa merupakan molekul disakarida yang merupakan gabungan dari satu molekul glukosa dan satu molekul fruktosa (Tillman, dkk., 1986).



Gambar 3. Struktur D-Fruktosa

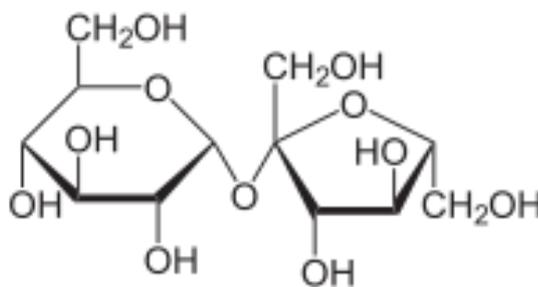
Fruktosa termasuk kelompok ketosa yang secara fisiologis ditemukan dalam plasma semen yang berguna dalam proses metabolisme spermatozoa untuk menghasilkan energi dan daya hidup bagi spermatozoa (Nelson, 1967). Rata-rata kadar fruktosa yang terkandung dalam air mani sapi berkisar diantara 736mg/100ml sampai 1062mg/100 ml dengan rata-rata 683 mg/100ml (Mann, 1954 dalam Salisbury dan VanDemark, 1985).

Menurut Maxwell dan Salamon (1993), selain sebagai sumber energi fruktosa dapat mempertahankan tekanan osmotik dari larutan pengencer serta mempertahankan integritas membran plasma utuh (MPU). Kadar fruktosa

mempunyai korelasi yang positif dengan motilitas (Chakrabarti dan Guha, 1993). Menurut Hammerstedt (1993), semakin banyak fruktosa yang terdapat dalam semen maka akan semakin tinggi motilitasnya karena fruktosa akan menghasilkan ATP yang sangat penting untuk kontraksi fibril-fibril pada ekor spermatozoa yang berfungsi untuk menimbulkan pergerakan (motilitas) pada spermatozoa.

### 3. Sukrosa

Sukrosa merupakan disakarida yang tersusun atas sebuah  $\alpha$ -D-glucopyranosil dan  $\beta$ -D-fructofuranosyl yang berikatan antar ujung reduksinya. Sukrosa tidak mempunyai ujung pereduksi sehingga termasuk dalam gula non pereduksi. Sukrosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) membentuk kristal keras anhydrous dalam bentuk monoklin, yang mempunyai tiga sumbu asimetris berbeda panjangnya. Mempunyai densitas  $1,606 \text{ g/cm}^3$ , berat molekul 342, berat jenis 1,033 sampai 1,106 (Arya, 2012).



Gambar 4. Struktur sukrosa

Sukrosa merupakan salah satu gula disakarida yang dapat ditambahkan ke dalam pengencer semen. Penambahan sukrosa selain berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa juga melindungi membran sel spermatozoa secara ekstraseluler selama penyimpanan pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$ . Karbohidrat dari golongan disakarida seperti sukrosa dan laktosa lebih baik dalam mempertahankan fungsi sebagai

krioprotektan ekstraseluler dibandingkan dengan monosakarida seperti glukosa dan fruktosa (Aisen dkk., 2002). Menurut Maxwell dan Salamon (1993), disakarida seperti sukrosa dan laktosa berfungsi untuk menjaga atau meningkatkan tekanan osmotik dari pengencer.