

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sapi Brahman

Sapi Brahman merupakan sapi yang berasal dari India yang merupakan keturunan dari Sapi Zebu (*Bos Indicus*). Ciri khas sapi Brahman adalah berpunuk besar dan berkulit longgar, gelambir dibawah leher sampai perut lebar dengan banyak lipatan-lipatan. Telinga panjang menggantung dan berujung runcing. Sapi ini adalah tipe sapi potong terbaik untuk dikembangkan. Sapi Brahman memiliki keunggulan yaitu mudah beradaptasi terhadap suhu panas, makanan yang sederhana, dan tahan gigitan caplak (Sudarmono dan Sugeng , 2008).



Gambar 1. Sapi Brahman

Salah satu faktor yang mempengaruhi pubertas adalah genetik, faktor genetik yang berpengaruh terhadap pubertas dicerminkan dengan adanya perbedaan-perbedaan antar bangsa, *strain*, dan persilangan. Bangsa sapi perah mencapai pubertas lebih cepat dibandingkan dengan sapi potong. Sapi-sapi Brahman dan Zebu mencapai pubertas 6--12 bulan lebih lambat daripada bangsa-bangsa sapi eropa. Menurut Mujahid (2012), pengaruh suhu lingkungan yang konstan terhadap timbulnya pubertas pada sapi-sapi dara Brahman (Zebu). Pada sapi-sapi dara yang dikandangkan pada suhu 80 °F (28.9 °C) pubertas dicapai pada rata-rata umur 398 hari dibandingkan dengan 300 hari pada 50 °F (10 °C). Pada sapi-sapi dara yang ditempatkan dengan kondisi luar, pubertas dicapai pada umur 320 hari.

Suardi (2001) menyatakan rendahnya fertilitas pada sapi Brahman disebabkan oleh pengamatan birahi yang kurang akurat dengan lama masa estrus $6,7 \pm 0,8$ jam, nutrisi dan lamanya induk menyusui yang dapat menyebabkan terjadinya anestrus post partum pada sapi Brahman, lamanya waktu yang diperlukan untuk pengeluaran plasenta setelah melahirkan, dan adanya infeksi pada uterus yang dapat mempengaruhi jarak beranak.

B. Klasifikasi Taksonomi Sapi Brahman

Menurut Blakely dan Bade (1992), sapi Brahman memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Phylum : *Chordata*;

Sub-phylum : *Vertebrata*;

Class : *Mamalia*;
Sub-Class : *Eutheria*;
Ordo : *Artiodactyla*;
Sub-ordo : *Ruminantia*;
Infra-Ordo : *Pecora*;
Family : *Bovidae*;
Genus : *Bos*;
Group : *Taurinae*;
Species : *Bos indicus*.

Menurut Anonim (2012), ciri khas sapi ini memiliki postur tubuh yang besar, berpunuk, berkulit longgar, serta memiliki gelambir di bawah leher sampai perut, dengan daging yang banyak. Dengan posturnya yang besar, sapi Brahman disebut-sebut sebagai jenis sapi potong terbaik.

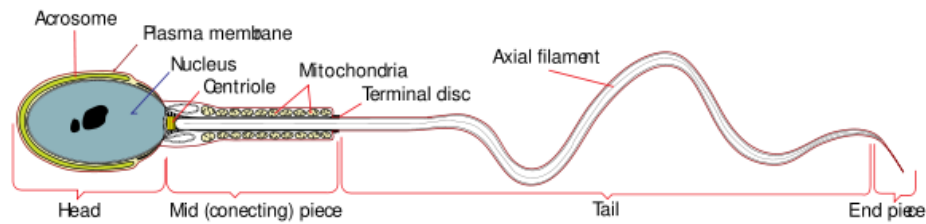
C. Fisiologis Semen Sapi

Semen merupakan campuran spermatozoa beserta bahan pengcernya. Semen dikeluarkan atau diejakulasikan melalui proses kopulasi secara normal dengan betina atau dikoleksi secara utuh melalui vagina buatan. Spermatozoa (sel kelamin jantan) dihasilkan oleh organ testis yang terdiri dari sepasang testes dalam proses spermatogenesis, sedangkan cairan berupa plasma semen dihasilkan oleh kelenjar aksesoris (glandula vesikularis dan prostat).

Menurut Kristanto (2004), plasma semen berfungsi sebagai media transportasi spermatozoa dari alat kelamin jantan menuju kelamin betina dan sebagai bahan

penyangga serta mengandung medium yang kaya nutrisi yang berperan membantu spermatozoa tetap hidup di luar tubuh setelah dikeluarkan atau diejakulasikan.

1. Struktur spermatozoa



Gambar 2. Struktur spermatozoa (Ladyofhats dan Rozzychan, 2007)

Spermatozoa terdiri dari tiga bagian yaitu kepala, bagian tengah, dan ekor. Di dalam bagian kepala terdiri dari lapisan pelindung akrosom dan membran plasma, untuk bagian dalam terdiri dari inti sel yang mengandung materi genetik (DNA). Garner dan Hafez (1993) menyatakan bahwa spermatozoa normal terdiri dari kepala dan ekor, kepala berbentuk oval memanjang lebar dan datar, berisi materi inti dan kromosom DNA yang bersenyawa protein untuk membawa informasi genetik. Menurut Athur *et al* (1996), akrosom mengandung enzim akrosomal (*acrosin* dan *hyaluronidase*) yang berfungsi untuk melisiskan ikatan kumulus oophorus dan melisiskan zona pelusida pada sel telur saat terjadinya proses pembuahan. Bagian tengah terdapat mitokondria yang menjadi proses metabolisme dan bagian ekor berfungsi sebagai alat gerak spermatozoa.

2. Plasma semen

Plasma semen memiliki kandungan nutrisi yang memenuhi kebutuhan spermatozoa di luar tubuh agar dapat tetap hidup selama proses pembuahan di

dalam alat kelamin betina. Komponen penyusun plasma semen terdiri dari *glycosaminoglycan* (GAG), yang merupakan suatu protein, natrium, dan klorin sebagai bahan anorganik, penyangga dan sebagai sumber energi bagi spermatozoa baik yang dapat digunakan secara langsung seperti fruktosa dan sorbitol maupun yang secara tidak langsung digunakan yaitu *glyceryl phosphoryl choline* (GPC) (Bearden dan Fuquay, 1997). Tambing (1999) melaporkan bahwa komposisi kimia plasma semen kambing PE terdiri dari protein, vitamin C, kalium, natrium, magnesium dan kalsium.

Siswanto (2006), menyatakan bahwa, peranan beberapa komponen kimiawi yang terdapat di dalam plasma semen antara lain: protein sangat diperlukan untuk kestabilan dan permeabilitas membran plasma spermatozoa; vitamin C berperan melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan selama proses pembekuan semen, dengan jalan mengikat radikal oksigen sehingga mencegah terbentuknya peroksidasi lipid yang dapat menghambat glikolisis maupun motilitas; kalium, natrium, dan klorida sangat diperlukan untuk menjaga integritas fungsional membran plasma spermatozoa dan berperan pula mempertahankan tekanan osmotik di dalam dan di luar sel spermatozoa; kalsium berperan dalam menginduksi motilitas dan hiperaktivasi spermatozoa; bikarbonat berperan sebagai agen penyangga untuk mencegah penurunan pH semen selama proses penyimpanan; fruktosa dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi baik dalam kondisi *anaerob* (penyimpanan) dan *aerob* (saluran reproduksi betina).

3. Metabolisme spermatozoa

Proses metabolisme spermatozoa terjadi di dalam mitokondria. Proses metabolisme berjalan karena adanya proses respirasi sel. Kegiatan metabolisme sel membutuhkan adanya energi sebagai bahan proses metabolisme. Kebutuhan energi sel spermatozoa diperoleh dari sumber cairan semen. Menurut Kristanto (2004), cairan semen mengandung empat substrat yang digunakan sebagai bahan energi, yaitu fruktosa, sorbitol, *gliseryl phosphoryl choline* (GPC) dan *plasmlogen*. Substrat-substrat tersebut akan bereaksi dan menghasilkan energi yang berasal dari perombakan *adenosin triphosphat* (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi penguraian menjadi *adenosin diphosphat* (ADP) dan *adenosin monophosphat* (AMP). Garner dan Hafez (2000), menyatakan hasil pembentukan ADP akan menghasilkan energi 7000 mol/ kalori. Reaksi digambarkan dalam proses berikut:



Siswanto (2006) menyatakan bahwa proses perombakan fruktosa menjadi energi dapat terjadi tanpa atau adanya oksigen. Proses perombakan fruktosa menjadi energi tanpa oksigen (*anaerob*) melalui tahapan jalur Embden-Meyerhof dan dengan adanya oksigen (*aerob*) melalui jalur Siklus Krebs.

Energi yang dihasilkan dari hasil metabolisme akan digunakan sebagai energi mekanik. Energi yang dihasilkan digunakan sebagai energi gerak, metabolisme, dan untuk kehidupan sel spermatozoa. Bearden dan Fuquay (2000) menyatakan bahwa proses metabolisme dipengaruhi oleh suhu. Semakin rendah suhu lingkungan maka proses metabolisme akan berjalan lambat, begitu pula pada suhu yang tinggi proses metabolisme akan berjalan dengan cepat. Selama proses pembekuan sel spermatozoa akan mengalami penghentian hampir seluruh aktivitas metabolisme sel karena pengaruh suhu lingkungan yang menjadi dingin. Pada proses penyimpanan tersebut reaksi metabolisme akan terjadi secara *anaerob* tetapi energi yang dihasilkan akan menjaga daya tahan sel spermatozoa.

4. Kualitas spermatozoa

Kualitas spermatozoa dipengaruhi oleh dua faktor yaitu lingkungan dan kondisi ternak. Lingkungan ternak yang dapat memengaruhi seperti suhu, kandang, pakan dan segala sesuatu yang berkaitan dengan manajemen pemeliharaan. Sedangkan kondisi ternak mencakup jenis ternak, spesies, kondisi organ reproduksi, dan kondisi kesehatan ternak. Untuk mengetahui kualitas spermatozoa yang akan digunakan dalam inseminasi buatan dapat dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis.

a. Evaluasi makroskopis

Pemeriksaan secara makroskopis digunakan untuk mengetahui pH, volume, bau, konsistensi dan warna spermatozoa. Kondisi pH semen umumnya berada pada kisaran 6-8 dengan kondisi ideal dalam keadaan netral pH 7. Keadaan semen

tersebut dipengaruhi oleh cairan semen yang memiliki sifat *buffer* yang berfungsi menjaga kondisi lingkungan spermatozoa tetap stabil. Garner dan Hafez (2000) menyatakan bahwa semen sapi normal memiliki pH 6,4 -- 7,8.

Volume semen menunjukkan banyaknya semen yang diejakulasikan oleh pejantan yang dikoleksi semennya. Banyak dan sedikitnya volume semen dipengaruhi oleh libido, frekuensi ejakulasi, jenis ternak, nutrisi pakan dan kondisi ternak itu sendiri. Setiap kali ejakulasi sapi jantan umumnya menghasilkan 5 -- 8 ml, domba 0,8 -- 1,2 ml, kambing 0,5 -- 1,5 ml, babi 150 --200 ml, kuda 60 -- 100 ml, dan ayam 0,2 -- 0,5 ml (Toilehere, 1981). Semen memiliki bau yang amis yang khas dan diikuti bau yang sama dengan kondisi tubuh ternak tersebut. Apabila kondisi semen dalam keadaan busuk, berarti semen tersebut mengandung nanah ataupun reaksi tubuh terhadap infeksi penyakit yang menyerang organ reproduksi.

b. Evaluasi mikroskopis

Pada pemeriksaan secara mikroskopis semen dievaluasi untuk mengetahui, konsentrasi, gerakan masa, motilitas membran utuh plasma dan abnormalitas spermatozoa. Toilehere (1981) menyatakan pemilihan konsentrasi atau jumlah spermatozoa per mililiter semen sangat penting, karena faktor inilah yang menggambarkan sifat-sifat semen dan dipakai sebagai salah satu kriteria penentuan kualitas semen. Hsb (2009) menyatakan semen sapi memiliki karakteristik konsentrasi spermatozoa yang berderajat tinggi biasanya berkisar dari 2000×10^6 sampai 2200×10^6 untuk setiap per mililiternya. Sifat-sifat semen pada sapi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat semen sapi

Sifat	Sapi
Volume (ml)	5--8
Konsentrasi sperma (juta/ml)	100--1800
Jumlah sperma/ejakulat (milyar)	4,8
pH	6,2--7,5
Spermtozoa motil %	70
Spermatozoa morfologik normal %	85

Toilehere (1981)

Spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke suatu arah merupakan gelombang yang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi sperma hidup di dalamnya (Toilehere, 1981). Berdasarkan penilaian gerakan masa kualitas semen dapat ditentukan sebagai berikut :

1. “sangat baik” (+++), terlihat bergelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif serta bergerak cepat;
2. “baik” (++), terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan agak lamban;
3. “kurang baik” (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan individual aktif progresif;
4. “buruk” (N/O), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan individual.

Penilaian gerakan individu yang terlihat pada mikroskop adalah 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. Penentuan kualitas semen berdasarkan motilitas spermatozoa mempunyai nilai 0 sampai 5, sebagai berikut: 0 – spermatozoa immotil atau tidak bergerak; 1 – pergerakan berputar ditempat; 2 – gerakan berayun melingkar, kurang dari 50 persen bergerak progresif, dan tidak ada gelombang; 3 – antara 50 sampai 80 persen spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa; 4 – pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90 persen sperma motil; 5 – gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat, menunjukkan 100 persen motil aktif (Toilehere, 1981).

D. Bahan Pengencer dan Peranannya

Dalam pembuatan pengencer semen hal yang harus diperhatikan adalah penggunaan peralatan yang bersih dan steril serta bahan-bahan yang dipergunakan tidak bersifat toksik baik untuk spermatozoa itu sendiri maupun untuk alat kelamin betinanya (Siswanto, 2006). Bahan pengencer semen haruslah memiliki sifat yang dapat menjaga kondisi fisik, kimia dan biologis spermatozoa. Oleh karena itu, bahan pengencer memiliki fungsi : memperbanyak volume semen; melindungi spermatozoa dari *cold shock*; menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa; menyediakan *buffer* untuk mempertahankan pH, tekanan osmotik, dan keseimbangan elektrolit; mencegah kemungkinan terjadinya pertumbuhan kuman (Partodihardjo, 1992).

Menurut Bearden dan Fuquay (1997), pengencer semen haruslah memenuhi syarat diantaranya, isotonik terhadap semen; memiliki kemampuan sebagai penyangga sehingga dapat mempertahankan spermatozoa terhadap perubahan pH;

dapat melindungi spermatozoa selama proses ekuilibrase, pendinginan, pembekuan maupun *thawing*; mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk metabolisme spermatozoa; serta mengandung antibiotik yang dapat mencegah kontaminasi bakteri.

Bahan pengencer terdiri dari berbagai macam zat yang memiliki fungsi sebagai bahan yang mengandung antibiotik dan nutrisi. Sumber nutrisi berasal dari glukosa, fruktosa, kuning telur, susu dan rafinosa. Sedangkan antibiotik yang melindungi spermatozoa dari bakteri berasal dari streptomisin dan penicillin.

Tujuan penggunaan antibiotik yang berasal dari streptomisin dan penisilin secara bersama-sama memiliki efek baik mengatasi bakteri gram positif (+) dan bakteri gram negatif (-) (Harjoutomo, 1987).

1. Pengencer tris sitrat

Jenis bahan pengencer yang telah digunakan untuk pengolahan semen pada mamalia adalah jenis pengencer tris. *Trisaminomethane* bersama asam sitrat berperan sebagai penyangga untuk mempertahankan perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat hasil metabolisme spermatozoa juga berperan untuk mempertahankan tekanan osmolaritas dan keseimbangan elektrolit karena mengandung garam dan asam amino (Siswanto, 2006).

Bearden dan Fuquay (1997) menyatakan pengencer semen berbahan dasar tris digunakan pada sapi, domba, dan babi karena dapat memperpanjang daya hidup spermatozoa pada suhu $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Selain itu, alasan penggunaan pengencer berbahan dasar tris pada semen beku sapi karena pengencer tersebut dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa selama proses preservasi jika

dibandingkan dengan jenis bahan pengencer lain. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sitomorang (1990) yang melaporkan bahwa pengencer tris sitrat yang disimpan pada suhu 5 °C selama 24 jam dapat mempertahankan motilitas dan kehidupan spermatozoa sebesar 48,89% dan 57,25%.

2. Peranan kuning telur dalam pengencer

Penggunaan kuning telur dalam bahan pengencer sangat dibutuhkan karena kuning telur merupakan bahan sumber energi dan sebagai agen protektif bagi sel spermatozoa. Kuning telur (*yolk*) mengandung zat lipoprotein dan lemak sehingga peranannya di dalam pengencer dapat dimetabolisme menjadi sumber energi dan sebagai protektif.

Hammerstedt (1993) melaporkan bahwa kuning telur mengandung *phospatidyl choline* yang dapat melindungi membran spermatozoa dengan cara memulihkan kehilangan *fosfolipid* selama *cold shock* dan mencegah aliran kalsium ke dalam spermatozoa. Toilehere (1995) menyatakan bahwa kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang berperan dalam pertahanan selubung lipoprotein spermatozoa serta mengandung glukosa yang digunakan sebagai bahan energi dalam proses metabolisme.

Drajad (1994) menyatakan bahwa pengencer tris sitrat kuning telur yang digunakan untuk pengenceran sperma sapi yang dibekukan menggunakan kriogen CO₂ kering, maupun nitrogen cair diperoleh hasil yang cukup memuaskan.

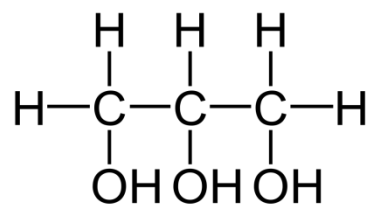
Motilitas sperma pasca *thawing* berkisar 54.40% ± 7.20 sampai dengan 57.00% ± 3.35.

E. Krioprotektan Gliserol

Krioprotektan merupakan suatu zat kimia yang mampu memberikan perlindungan terhadap sel dari pengaruh *lethal* selama proses kriopreservasi. Supriatna dan Pasaribu (1992) menyatakan bahwa krioprotektan merupakan zat kimia non elektrolit yang berfungsi mereduksi pengaruh letal proses pemaparan kriopreservasi sel diantaranya baik yang berupa efek larutan maupun pembentukan kristal es ekstraseluler maupun intraseluler sehingga dapat menjaga viabilitas sel setelah kriopreservasi.

Berdasarkan sifat fisik, kimia dan biologis krioprotektan dikelompokkan menjadi dua yaitu ekstraseluler dan intraseluler. Jenis krioprotektan intraseluler adalah gliserol, *dimethyl sulfoxide*, *1,2 prepanediol* dan etilen glikol. Sedangkan yang termasuk krioprotektan ekstraseluler adalah PVP, sukrosa, rafinosa, laktosa, protein, kuning telur dan susu (Siswanto, 2006).

Menurut Tambing (1999), gliserol merupakan krioprotektan intraseluler yang telah banyak digunakan dalam bahan pengencer semen mamalia. Gliserol merupakan hasil hidrolisis lipid (trigliseraldehida) memiliki peran dalam melindungi sel spermatozoa dari lingkungan yang merugikan (agen protektif). Susunan molekul gliserol terdiri dari tiga atom karbon (C) dan tiga gugus OH. Berikut ini susunan gliserol yang ada pada gambar di bawah ini :



Gambar 3. Struktur molekul gliserol

Menurut Sinha *et al.*, (1992), tingkatan gliserol sebesar 6% dalam pengencer memberikan persentase motilitas yang lebih tinggi (58,10%) sesudah *thawing* dibandingkan dengan penambahan gliserol sebesar 5% (57,93%) dan 7% (57,93%). Evan dan Maxwell (1987) melaporkan bahwa penggunaan gliserol yang dianjurkan adalah 6--8%, jika kurang dari itu maka gliserol tidak akan memberikan efek yang berarti, sedangkan jika lebih tinggi maka akan menimbulkan efek toksik pada spermatozoa. Das dan Rajkonswar (1994) menambahkan bahwa penggunaan gliserol pada bahan pengencer sebesar 7 %.

Supriatna dan Pasaribu (1992) melaporkan bahwa gliserol memiliki keunggulan bila digunakan dalam bahan pengencer yaitu menurunkan titik beku larutan sehingga pengeluaran air dari dalam sel baru terjadi pada suhu rendah sekali dan menyebabkan reduksi volume sel di dalam proses pendinginan dapat berkurang serta mencegah presipitasi larutan; melindungi membran sel sehingga lentur, tidak rapuh dan meningkatkan afinitas lipoprotein membran terhadap ion K ; mencegah terjadinya dehidrasi karena memiliki daya ikat yang kuat terhadap air; dan memecah kristal es yang berukuran besar, berbentuk tajam yang dapat merusak organel sel secara mekanik.

Penggunaan gliserol selain dapat memberikan keuntungan dapat pula memberikan kerugian karena bersifat toksik. Toilehere (1993) melaporkan bahwa efek negatif dari gliserol adalah merusak struktur spermatozoa selama proses pembekuan semen, menyebabkan *osmotic-shock* dan memberikan efek negatif terhadap antibiotik di dalam pengencer.

F. Kerusakan Semen Beku

Kerusakan sel spermatozoa selama proses pembekuan disebabkan oleh banyak faktor diantaranya kualitas semen pasca koleksi dan proses pengolahan semen beku. Pada proses koleksi kerusakan semen dapat disebabkan oleh kondisi ternak, nutrisi, frekuensi ejakulat dan keterampilan kolektor. Sedangkan selama proses pembekuan kerusakan semen beku disebabkan oleh pembentukan kristal-kristal es dan perubahan tekanan osmotik.

Menurut Supriatna dan Pasaribu (1992), terdapat tiga hal yang menyebabkan terjadinya kerusakan semen beku diantaranya kerusakan mekanik, yang ditandai dengan kerusakan organel sitoplasma atau pecah karena ekspansi es, konsentrasi larutan menjadi toksik dan letal akibat adanya dehidrasi dari suspensi media baik intra maupun ekstraseluler, dan perubahan fisik-kimiawi diantaranya presipitasi, denaturasi, koagulasi dari protein, disosiasi ion dan kehilangan sifat-sifat absorpsi atau sifat-sifat pengikatan air.