

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Semen Domba

Semen domba yang dipancarkan oleh berbagai macam hewan terdiri dari 2 campuran yaitu: bagian padat banyak mengandung sel spermatozoa dan bagian cairan semen yang sebagian besar berasal dari kelenjar aksesoris (Hardijanto dan Hardjopranto, 1994). Menurut Frandson (1992) spermatozoa dihasilkan oleh tubulus seminiferus, sedangkan plasma semen merupakan campuran sekresi dari beberapa kelenjar yaitu ampula, ductus deferens, vesikula seminalis, bulbourethralis dan prostat. Menurut Hafez (1993) plasma semen mengandung nutrisi sebagai buffer untuk kapasitas. Plasma semen berfungsi untuk motilitas, metabolisme, dan pelindung spermatozoa untuk melawan keadaan asam dalam vagina.

Tabel 2.1. Komposisi Plasma Semen Domba:

Komposisi	Konsentrasi(mg/100ml)
Air, g/100ml	85
GPC	72
Sorbitol	72
Inositol	12
Asam sitrat	140
Ergotionin	0
Plasmalogen	380
Natrium	190
Kalium	90
Klorida	86
Kalsium	11
Mg	8

Sumber: Bearden and Fuquay, 1992

Ciri-ciri makroskopis semen domba yang baik adalah warna putih susu (krem), volume semen antara 0,7-2 ml, konsentrasi pekat dan pH antara 6,9-7,3

(Evan and Maxwell, 1987). Ciri-ciri mikroskopis semen Domba yang baik antara lain: konsentrasi semen $2-6.10^9$ spermatozoa/ml, abnormalitas tidak lebih dari 20 %, persentase kematian tidak lebih dari 50 %. Kondisi semen domba dapat di pengaruhi oleh umur, kondisi ternak, frekuensi pengambilan dan pelaksanaan pengambilan (Nalbandov, 1990).

2.2 Anatomi Alat Kelamin Domba Jantan

Sistem reproduksi domba jantan terbagi menjadi 3 besar yaitu: alat kelamin primer berupa gonad jantan atau testis dan alat kelamin sekunder yang terdiri dari saluran alat kelenjar pelengkap (Gatenby, 1991). Saluran reproduksi dilengkapi dengan kelenjar accesoris dan alat kelamin luar yang terdiri atas penis yang terbungkus preputium (Partodiharjo, 1992).

Testis sebagai alat kelamin primer mempunyai 2 fungsi yaitu memproduksi spermatozoa dan memproduksi hormon kelamin jantan yaitu testosteron (Salisbury and van Demark, 1985). Spermatozoa dihasilkan di dalam tubulus seminiferus akibat pengaruh *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) sedangkan hormon kelamin jantan dihasilkan oleh sel-sel interstitial/sel leydig akibat pengaruh *Interstitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH) (Hardjopranto, 1995). Testis terbungkus dalam kantong skrotum yang berisi 2 lobi testis yang masing-masing lobi mengandung 1 testis. Suhu testis lebih rendah dari suhu badan hal ini berperan dalam proses spermatogenesis normal yang terjadi di dalam testis (Salisbury and Van Demark, 1985)

Alat kelamin sekunder berupa pembuluh alat saluran reproduksi yang menghubungkan testis dengan dunia luar yaitu: vas efferens, epididimis, vas

defferens dan penis yang digunakan untuk menyalurkan semen, cairan accesoris dari alat kelamin tambahan dan urine melalui urethra (Hardijanto dan Hardjo Pranjoto, 1994).

Epididimis terletak di belakang testis melekat pada tunika albugenia merupakan saluran berkelak-kelok yang menghubungkan testis ke arah luar. Epididimis terbagi menjadi 3 bagian yaitu: kaput, korpus, dan kauda epididimis adalah sebagai alat transportasi, pendewasaan dan penimbunan spermatozoa (Hafez, 1993).

2. 3 Morfologi Spermatozoa

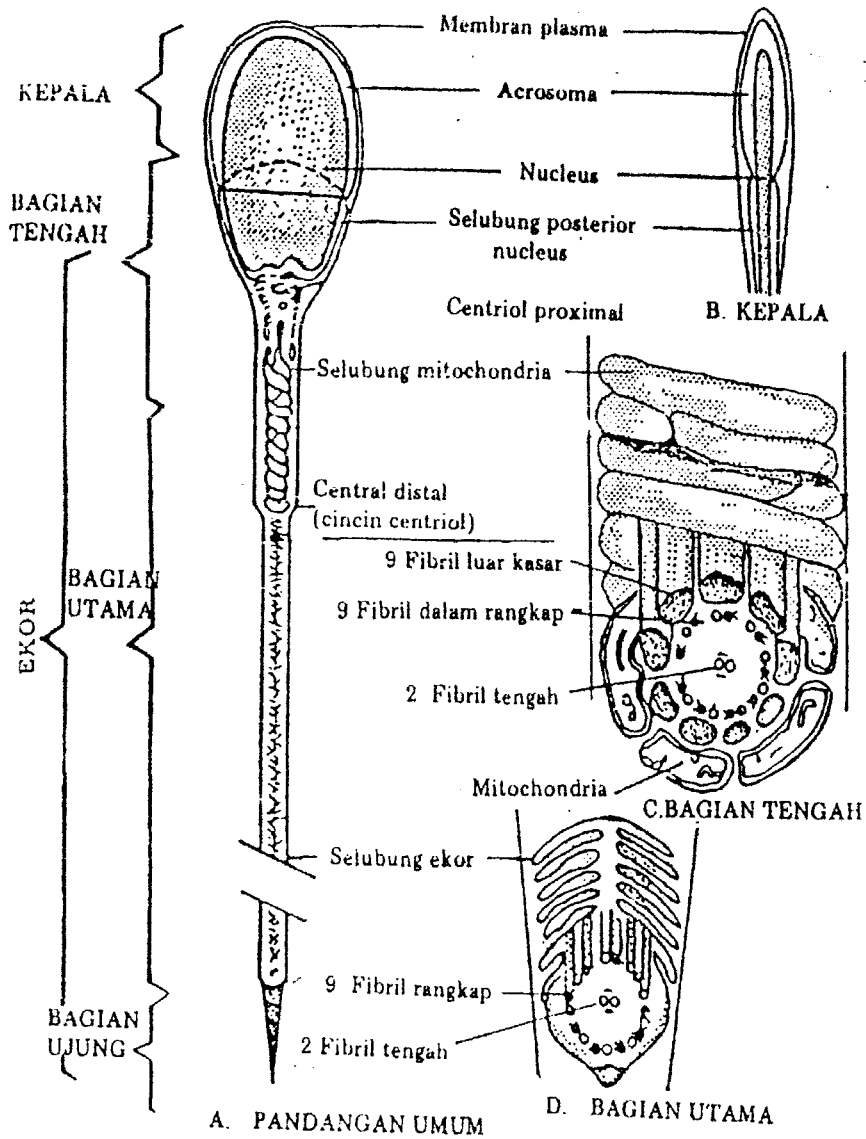
Spermatozoa adalah sel yang sudah sangat terspesialisasi, padat dan tidak lagi mengalami pertumbuhan (Hafez, 1980). Sel spermatozoa terdiri dari bagian kepala, leher dan ekor yang berbeda susunan kimiawinya. Kepala terdiri dari deoksiribonukleoprotein yang sebagian besar terdapat di dalam inti, sedangkan akrosomnya mengandung banyak ikatan protein dan karbohidrat yang disebut akrosomal polisakarida. Bagian leher selain mengandung lipida yang pada umumnya lipoprotein, juga didapatkan sitokrom yang berfungsi dalam reaksi pernapasan sel spermatozoa. Bagian ekor mengandung plasmalogen dan protein keratin yang ada di benang-benang fibril dan kulit spermatozoa (Hardijanto dan Hardjoprano, 1994).

Menurut Frandson (1992) setiap spermatozoa terdiri dari kepala, bagian tengah (*mid piece*) dan ekor. Intinya mempunyai ukuran kira-kira sepertiga panjang kepala mengandung bahan genetik yang dibutuhkan pada saat pembuahan ovum. Inti spermatozoa haploid (X) mengandung sebanyak separuh dari jumlah

kromosom inti diploid (2X) pada sel somatik Kromosom bertanggung jawab pada transmisi karakteristik yang dapat diturunkan pada turunannya. Bagian tengah digambarkan sebagai pusat tenaga spermatozoa karena terdapat mitokondria di dalamnya. Mitokondria tersebut berderet-deret seperti untaian spiral membentuk putaran helix mengandung sistem enzim yang berkerja pada siklus asam trikarboksilat dan transport elektron, serta fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk *Adenosin Triphosphat* (ATP) untuk pergerakan spermatozoa. Ekor spermatozoa menyerupai flagellum. Dua setriol terletak dalam bagian tengah (*mid piece*). Fibril-fibril yang serupa dengan silia terentang dalam ekor. Terdapat 2 fibril sentral yang dikelilingi oleh sebuah cincin yang terdiri dari 9 pasang fibril perifer. Fibril-fibril ini bersifat kontraktil dan menimbulkan gerakan ekor spermatozoa.

Bagian kepala spermatozoa panjangnya 8-10 μ , lebar 4-5 μ , tebal 0,3-0,5 μ dan mengandung materi genetik. Bagian leher dengan panjang 0,3-1,5 μ menghubungkan dasar kepala dengan bagian tengah dan mengandung sentra proksimal. Bagian tengah panjangnya 8-10 μ dengan diameter 0,64-0,85 μ . Bagian ekor panjangnya 45-50 μ dan semakin mengecil dengan diameter sebesar 0,5-0,25 μ (Salisbury and Van demark, 1985).

Sekurang-kurangnya ada empat bahan organik di dalam semen yang berfungsi sebagai bahan sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, Glycerol Phosphoryl Cholin (GPC) dan plasmalogen (Teolihere, 1980)



Gambar 2.1. Morfologi Spermatozoa Toelihere (1980)

2.4 Spermatogenesis

Spermatozoa dihasilkan di dalam tubuli seminiferus. Perkembangan dimulai dari spermatogonia berturut-turut akan mengalami suatu seri pembelahan menjadi spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa yang selanjutnya bergerak ke arah lumen tubulus. Beberapa waktu kemudian setelah sel ini melekat pada sel sertoli spermatozoa akan melepaskan diri dan bebas berada dalam rongga tubulus seminiferus menuju saluran-saluran berikutnya. Keseluruhan proses pembentukan spermatozoa disebut spermatogenesis (Salisbury and Van demark, 1985).

Proses spermatogenesis pada hewan mamalia menurut Hardjopranto (1995) dibagi menjadi 4 tahap yaitu :

1. Tahap Proliferasi

Tahap ini dimulai pada testis hewan sejak sebelum lahir sampai dengan beberapa waktu setelah lahir. Bakal sel kelamin yang ada pada lapisan basal dari tubulus seminiferus melepaskan diri dan membelah secara mitosis sampai dihasilkan banyak sel spermatogonia.

2. Tahap Tumbuh

Pada tahap ini spermatogonia membagi diri secara mitosis sebanyak 4 kali sehingga dihasilkan 16 spermatosit primer. Lama periode ini 15-17 hari.

3. Tahap Menjadi Masak

Pada tahap ini terjadi pembelahan meiosis sehingga sel spermatosit primer berubah menjadi sel spermatosit sekunder dan jumlah kromosom menjadi separuhnya. Periode ini berjalan selama 15 hari. Beberapa jam

kemudian spermatosit sekunder akan berubah menjadi spermatid. Proses dari spermatogonium sampai menjadi spermatid disebut spermatocytogenesis.

4. Tahap Transformasi

Pada tahap ini terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid sehingga terbentuk sel spermatozoa/sel mani. Periode ini membutuhkan waktu 15 menit dari 1 sel spermatogonium akan terbentuk 64 buah sel spermatozoa. Seluruh proses spermatogenesis berjalan selama 45-47 hari. Proses perubahan dari spermatid menjadi spermatozoa disebut spermiogenesis.

2.5 Kapasitasi dan Reaksi Akrosom

Kapasitasi adalah suatu proses persiapan dan terjadinya perubahan fisiologis spermatozoa di dalam saluran reproduksi hewan betina untuk meningkatkan motilitasnya (Burk and Sailing, 1992). Menurut Hunter (1995) sebelum spermatozoa bisa menembus pembungkus sel telur (sel kumulus dan sel korona) spermatozoa harus menjalani perubahan fisiologi yang dapat meningkatkan motilitas dan kemampuan melepaskan enzim proteolisis dari bagian akrosom di kepalanya. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses kapasitasi *in vitro* spermatozoa diantaranya: suhu, komposisi dan pH media, sel kumulus oosit dan variasi individu dari pejantan yang digunakan. Suhu optimum untuk spermatozoa *in vitro* pada mamalia 37 °C, komposisi media terutama dalam penyediaan lingkungan yang sesuai (pH dan tekanan osmosis) dan sumber energi (laktat, piruvat dan serum albumin) yang diperlukan bagi metabolisme spermatozoa (Yanagimachi, 1988).

Reaksi akrosom yang terjadi setelah kapasitasi merupakan perubahan struktur pada bagian anterior kepala spermatozoa yang tampak perlu bagi proses pembuahan pada hewan mamalia yang memungkinkan pelepasan enzim dari akrosom, sehingga membantu penetrasi bungkus sel telur melalui zona pellucida . Pada proses ini terjadi penggabungan ganda antara selaput akrosom itu sendiri sedemikian rupa sehingga bagian anterior kepala spermatozoa dibatasi oleh vesikula (Hunter, 1995). Diantara vesikula itu terbentuk serangkaian pintu atau lubang kecil yang diduga sebagai tempat keluarnya enzim yang menyerupai tripsin disebut akrosin. Ketika terjadi reaksi akrosom membran plasma lepas dan hilang dari permukaan anterior akrosom kejadian ini diikuti dengan pelepasan enzim akrosom sedikit demi sedikit (Hafez , 1993).

Sardjito (2003) menyatakan bahwa akrosom mempunyai peranan yang sangat penting karena mengandung enzim yang essensial untuk proses fertilisasi. Enzim tersebut antara lain :

1. Enzim Hyaluronidase yang berfungsi untuk menguraikan cumulus oophorus dan memungkinkan spermatozoa dapat menembus lapisan terluar dari sel telur.
2. Enzim Penetrasi Corona (CPE) yang berfungsi dalam proses penembusan spermatozoa pada corona radiata sehingga corona radiata dapat dihancurkan.
3. Enzim Akrosom yang berguna pada proses penembusan spermatozoa melalui zona pelucida.
4. Enzim ATP-ase yang mempengaruhi akrosom untuk mengadakan kapasitasi.

2.6 Bahan Pencuci Spermatozoa

Dalam pelaksanaan program fertilisasi *in vitro* diperlukan pencucian spermatozoa dengan menggunakan media isotonis untuk memisahkan spermatozoa motil dan non motil (Hinting, 1989).

Salah satu bahan pencuci spermatozoa yang bersifat isotonis adalah medium *Brackett and Oliphant's* (BO). Selain meningkatkan motilitas spermatozoa, medium BO juga diketahui dapat meningkatkan kematangan hidup sel spermatozoa domba. Medium BO banyak mengandung Na, Ca, Mg dan sodium klorida juga mengandung glukosa. Piruvat sebagai bahan nutrisi spermatozoa serta asam amino yang sangat dibutuhkan bagi kelangsungan hidup spermatozoa. Glukosa berfungsi sebagai sumber energi melalui proses glikolisis yang mengubah glukosa menjadi glukosa 6 fosfat yang kemudian diubah menjadi fruktosa 6 fosfat. Dengan bantuan enzim *Diphosphorydin Nukleotid* (DPN) fruktosa 6 fosfat akan diubah menjadi 1-3-difosfogliserat yang pada akhirnya menjadi asam monofosfat gliserin. Asam monofosfat gliserin menghasilkan sumber energi yang dipakai untuk pergerakan motilitas serta metabolisme (biosintesa) sel spermatozoa (Rimayanti dkk, 1998).

Bovine Serum Albumin (BSA) merupakan bagian produk darah. Istilah albumin menjelaskan suatu protein/gugusan protein yang larut air. Albumin merupakan protein berlimpah dalam sistem sirkulasi dan berkontribusi sebanyak 80 % terhadap tekanan osmotik darah. Albumin yang bertanggung jawab terhadap pH darah (*Anonimous*, 2000). Pada medium BO selain terdapat sodium piruvat dan glukosa sebagai sumber energi juga kafein untuk meningkatkan motilitasnya terutama proses kapasitasi, sehingga dapat meningkatkan angka persentase daya tahan hidup dan motilitas spermatozoa (Rimayanti dkk, 1998).

Menurut Boatman *et al* (1990) yang dikutip oleh Utomo dkk (2000) kafein dapat membantu kapasitas spermatozoa dengan cara memindahkan faktor dekapasitasi yang melekat pada membran plasma seperti *calmodulin binding protein*. Secara *in vivo* kafein dapat memelihara dan menstimulasi motilitas, kapasitas dan reaksi akrosom.

2.7 Sentrifugasi

Tujuan dilakukan sentrifugasi adalah membuang elemen plasma dari permukaan sel spermatozoa dan pada waktunya memungkinkan terjadi pembentukan vesikulasi pada membran kepala spermatozoa yang menghasilkan reaksi akrosom (Hunter, 1995). Plasma semen mengandung bahan-bahan atau faktor-faktor yang merusak daya pembuahan spermatozoa. Plasma semen juga mengandung mikroorganisme yang mencemari sistem kultur serta limfosit yang menghasilkan sekresi toksik yang menghambat pembuahan (Hinting, 1989).

Sentrifugasi merupakan suatu teknik untuk memisahkan plasma semen dan bahan krioprotektan yang terdapat pada sel spermatozoa. Setelah semen disentrifus pellet dicuci dengan cara penambahan media dengan volume lebih banyak untuk menghilangkan bekas-bekas plasma semen dan bahan krioprotektan. Sehingga seminal plasma dan bahan krioprotektan akan terkikis dari permukaan sel spermatozoa sebelum mencapai tempat fertilisasi (Hinting, 1989).

Menurut Zaneveld (1985) kecepatan sentrifugasi dengan satuan rpm dapat ditransformasikan menjadi g dengan rumus:

$$X g = 1,12 r (rpm/1000)^2$$

$$r \text{ sentrifus} = 100 \text{ mm}$$

g = gravitasi

Sehingga diperoleh kecepatan sentrifugasi 1800 rpm = 363 g dan 2800 rpm = 878 g. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 1.

2.8 Motilitas Spermatozoa

Motilitas sangat penting untuk fertilisasi karena motilitas dapat menunjukkan gambaran spermatozoa yang sehat. Motilitas dapat membantu transport spermatozoa dari luar untuk mencapai tempat terjadinya fertilisasi (Hafez, 1987).

Motilitas spermatozoa di dalam suatu contoh semen ditentukan secara keseluruhan atau sebagai rata-rata dari populasi spermatozoa terhadap semen segar yang baru ditampung dan belum diencerkan dilakukan pemeriksaan gerakan massa dan gerakan individu (Toelihere, 1980).

Energi yang digunakan untuk motilitas sperma didapat dengan cara memanfaatkan cadangan *Adenosin Triphosphat* (ATP) yang tersimpan di intraseluler. Pemanfaatan ATP diatur secara endogen oleh tingkatan pada siklus *Amino Monophosphat* (AMP) (Hafez, 2000).

Menurut *Anonimous* (1997) kategori rata-rata persentase motilitas berkisar antara 0-100 %. 80-100 % nilainya baik sekali, 60-80 % bernilai baik, 40-60 % cukup baik, 20-40 % termasuk kategori jelek dan 0-20 % bernilai sangat jelek

2.9 Keutuhan Membran Sel Spermatozoa.

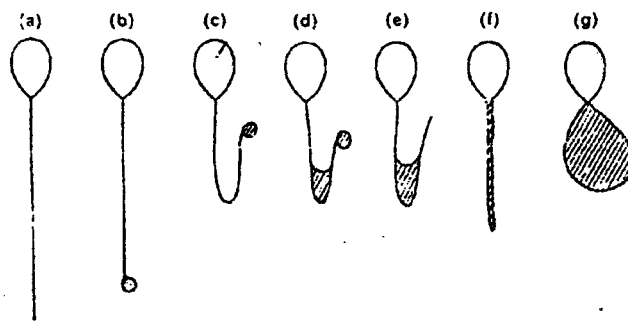
Keutuhan membran sel spermatozoa harus tetap terjaga agar kelangsungan hidup spermatozoa, motilitas dan kemampuan fertilitas dapat dipertahankan. Hal tersebut dikarenakan selain berfungsi sebagai pelindung secara fisik organel-

organel sel spermatozoa dari kerusakan mekanis, membran plasma juga berfungsi sebagai penjaga keseimbangan elektrolit intra dan ekstrasel sehingga proses fertilisasi dapat berjalan dengan baik (Hunter, 1995).

Membran ini terdiri dari dua lapisan lipoprotein yang komposisinya terdiri dari 52 % protein, 40 % lipid, dan 8 % karbohidrat. Susunan dari membran spermatozoa adalah kepala lapisan lipoprotein hidrofilik membentuk permukaan kepala bagian luar dan kepala lapisan hidrofobik membentuk kepala bagian dalam. Lipid merupakan komponen utama yang bertanggung jawab untuk mengatur keadaan cair dari membran lipid bilayer, serta perubahan komposisi dari plasma membran spermatozoa. Komposisi lipid pada membran spermatozoa terdiri dari: kolesterol, sphingomyelin, phospholipid dan phosphatidil etanolamin. Kolesterol berfungsi untuk mengatur keadaan cairan serta permeabilitas sel spermatozoa. Kolesterol keluar dari membran selama proses kapasitasi sehingga terjadi pemasukan besar-besaran Ca^{2+} dari luar sel. Peristiwa peningkatan jumlah Ca^{2+} intraseluler ini merupakan proses penting dalam reaksi akrosom (Mafruchati dkk, 1996).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jayendran and Zanelved (1984) bahwa untuk menilai apakah spermatozoa mempunyai membran yang utuh dilakukan dengan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST) atau Uji Pembengkakan Hipoosmotik.

Membran plasma spermatozoa yang utuh ditandai dengan ekor yang melingkar jika dipaparkan dalam larutan hipoosmotik dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama kurang dari 1 jam (Jayendran, 1984).



Gambar 2.2 Skema perubahan tipe bentuk spermatozoa setelah Uji HOST (Jayendran and Zaneveld, 1984).

a= tidak ada perubahan (membran tidak utuh), b-g= variasi perubahan bentuk pada ekor spermatozoa (membran utuh)