

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Kerbau

Batasomma (1985) mengklasifikasikan ternak Kerbau dalam kingdom: *animalia*, kelas: *mammalia*, subklas: *ungulata*, ordo: *artiodactila*, sub ordo: *ruminansia*, famili: *bovidae*, genus: *bubalus* dan species: *bubalis*. Pada zaman *pleistocene*, genus *bubalis* tersebar di dataran Eropa dan Asia Timur, kemudian terpusat di India, Indochina dan kepulauan di Asia Tenggara. Ternak kerbau di Asia berasal dari kerbau liar *bubalis arnee* dari India, oleh Linnaeus jenis ternak kerbau ini dinamakan *bubalis bubalis*.

Kerbau yang didometikasi sekarang secara umum dibagi menjadi dua yaitu kerbau rawa (*Swamp buffalo*) yang berkembang di Asia Tenggara: Vietnam, Laos, Kamboja, Thailand, Philipina, Malaysia, dan Indonesia; dan kerbau sungai atau River buffalo yng berkembang di Eropa, Mesir, Aserbaja, Bulgaria, Italia, Afganistan, Pakistan, dan India (Siregar dkk, 1996).

Ternak kerbau yang ada di Indonesia sebagian besar merupakan rumpun kerbau lumpur atau kerbau rawa (*Swamp buffalo*) sebanyak 95%, sedangkan sisanya 5% termasuk rumpun kerbau sungai (*River buffalo*) yang banyak dipelihara di Sumatra Utara (Kampas, 2008). Kerbau rawa merupakan salah satu jenis ternak penghasil daging yang sangat adaptif dengan kondisi di Indonesia sehingga banyak ditenakkan. Kerbau mempunyai keistimewaan tersendiri dibandingkan sapi, karena mampu hidup dalam kawasan yang relatif sulit terutama bila pakan yang tersedia berkualitas sangat rendah (Bestari dan Suherman, 1998).

Keunggulan yang dimiliki ternak kerbau adalah dapat memanfaatkan hijauan yang berkualitas rendah dan tahan terhadap musim kering yang panjang, selain itu kapasitasnya sebagai tenaga kerja merupakan potensi bagi petani peternak kerbau, di samping dagingnya memiliki nilai gizi yang tidak kalah dibandingkan sapi (Baikuni, 2002).

Peningkatan populasi kerbau sebagai ternak potong dapat diusahakan antara lain melalui manajemen pakan, manajemen bibit, dan perkandangan ternak serta peningkatan produktivitas ternak (Toelihere, 1985).

## **2.2. Organ Reproduksi Kerbau Jantan**

Organ reproduksi hewan jantan hampir sama dengan sapi, antara lain dapat dibagi atas tiga komponen yang pertama organ kelamin primer, yaitu gonad atau testes (Kelenjar benih). Kedua saluran-saluran yang terdiri dari *Epididimis*, *Vas deferens*, *Uretra* dan kelenjar-kelenjar mani terdiri dari kelenjar *Vasikularis*, kelenjar *Prostate*, dan kelenjar *Cowper*. Ketiga alat kelamin bagian luar yaitu penis (Partodihardjo, 1987). Penisnya bertipe fibroelastik dan terdapat didalam kantong yang bertaut erat ke ventral dinding perut (Hafez, 1987).

Perkembangan paling pesat testes kerbau terjadi pada umur 9 bulan. Ukuran badan berbanding lurus dengan volume testes dan terdapat korelasi antara berat testes dengan jumlah sperma yang diproduksi (Toelihere, 1981). Menurut Rao *et al.* (1993) serta Ganguli dan Prasad (1993) Menyatakan ukuran testes terutama lingkaran testes berkorelasi positif dengan berat testes, produksi semen, kualitas sperma, fertilitas dan aktifitas testes. Spermatogenesis mulai berlansung

pada umur 12 sampai 15 bulan, akan tetapi ejakulat yang mengandung sperma yang baik diperoleh dari kerbau yang telah berumur 24 bulan.

Epididymis pada kerbau lebih kecil dari pada sapi, berat epididymis kira-kira 18,63 g, panjang caput 4,93 cm, corpus 9,66 cm dan cauda 2,2 cm. Kelenjar-kelenjar pada kerbau relatif lebih kecil dan kurang berlobulasi dari sapi (Toelihere, 1985). Menurut Jainuddin dan Hafez (1987) kerbau jantan mencapai pubertas umur 24-30 bulan lebih lambat dari sapi umur 10-12 bulan.

Menurut Kunawongkit dan Bodhipaksha (1978) libido atau keinginan kelamin jantan timbul setelah betina pemancing disiapkan. Lingkungan yang ramai seperti banyak orang serta keadaan suhu sangat mempengaruhi libido kerbau lumpur. Libido kerbau lebih rendah bila penampungan semen dilakukan pada siang hari. Waktu antara pendekatan jantan ke betina sampai ejakulat berkisar antara 1 menit 30 detik sampai 4 jam.

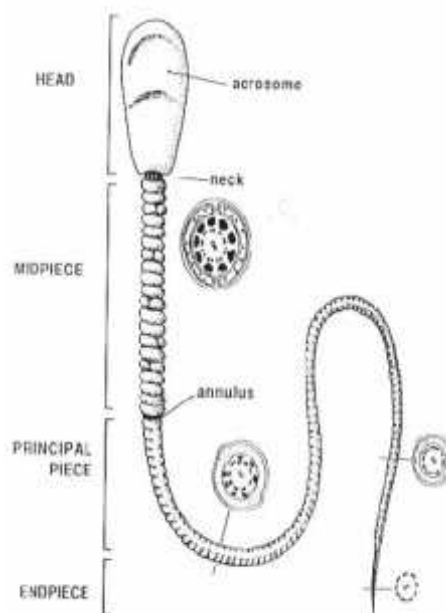
### **2.3. Semen**

Semen adalah sekresi kelamin pejantan yang secara normal diejakulasikan kedalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung untuk keperluan IB. Semen terdiri atas sel spermatozoa (gamet jantan) dan campuran antara cairan seluler dan sekresi-sekresi kelenjar aksesoris (plasma seminalis) yang berasal dari saluran reproduksi jantan (Garner & Hafez, 2000). Spermatozoa dibentuk dalam *tubuli seminiferi testes* dan selanjutnya mengalami proses penyempurnaan untuk kemudian disimpan pada epididimis, sedangkan plasma seminalis merupakan cairan dengan pH basa serta banyak mengandung bahan-bahan kimia yang diperlukan bagi spermatozoa.

## 2.4. Morfologi Spermatozoa

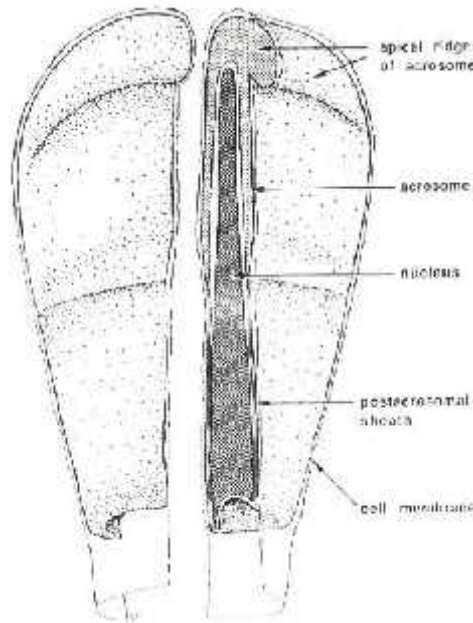
Spermatozoa merupakan sel memanjang, terdiri atas bagian kepala berbentuk datar dan ekor yang mengandung mitokondria yang penting bagi pergerakan sel, dimana diantara kepala dan ekor dihubungkan oleh bagian yang disebut leher (Garner & Hafez, 2000). Komponen utama kepala adalah nukleus, yang tersusun atas kromatin, dengan 60% bagian anterior kepala diliputi akrosom, bagian belakang kepala diliputi oleh tudung nukleus (Salisbury *et al.*, 1978). Hubungan antara anterior dan posterior disebut cincin nukleus.

Dibagian tengah dan ekor dibagi menjadi tiga daerah. Dimulai dari bagian anterior adalah bagian tengah, bagian yang lebih tipis adalah bagian utama ekor, dan bagian yang sangat tipis merupakan bagian ujung. Bagian utama ekor, merupakan pusat metabolisme, dihubungkan dengan bagian kepala spermatozoa dengan suatu segmen yang sangat pendek yang disebut ekor.



Gambar 2.1. Struktur sel spermatozoa.  
(Sumber; Saacke & Almquist 1964)

Potongan melintang dari bagian tengah, utama dan ujung memperlihatkan serat-serat axonema yang dilapisi oleh mitokondria pada bagian tengah, pembungkus berserabut pada bagian utama dan serabut aksonema pada bagian ujung.



Gambar 2.2. Gambaran ultra struktur kepala spermatozoa  
(Sumber; Saacke & Almquist 1964)

## 2.5. Karakteristik Semen Kerbau

Menurut Garner dan Hafez (2000) semen merupakan cairan suspensi sel yang di dalamnya mengandung spermatozoa dan sekresi kelenjar aksesoris dari organ kelamin jantan. Semen terdiri atas dua bagian yaitu spermatozoa dan plasma semen. Sejumlah parameter digunakan untuk menilai kualitas dari semen, diantaranya volume, konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa, jumlah spermatozoa hidup, jumlah spermatozoa abnormal dan komposisi biokimiawinya, serta tes fungsional.

Kepadatan spermatozoa pun ternyata penting untuk menentukan dosis dan kapasitas fertilitas dari semen tersebut. Motilitas progresif penting karena dapat

memperkirakan penilaian usia hidup semen. Spermatozoa dikatakan motil apabila spermatozoa tersebut bergerak ke depan (*progresive motility*), sedangkan spermatozoa yang bergerak melingkar disebut sebagai *non-progresive motility* (Arifiantini dkk, 2005).

Semen kerbau lumpur berwarna krem, krem keputihan atau putih susu dengan konsistensi agak kental. Konsistensi ini tergantung pada konsentrasi sperma yang tergantung di dalamnya. Konsentrasi sperma kerbau relatif lebih rendah dari pada sapi. Konsentrasi sperma kerbau lumpur di Indonesia berkisar antara 200 sampai 1.000 juta per ml dengan rata-rata 600 juta per ml (Thoelihere, 1981).

Volume semen kerbau per ejakulat umumnya lebih rendah dari pada sapi. Rata-rata volume ejakulat kerbau Murrah adalah  $3,70 \pm 0,20$  ml (Dhami dan Shani, 1994),  $3,28 \pm 0,14$  ml (Nainar *et al.*, 1990), 3,3 ml sampai 4,0 ml (Rattan, 1988), 2,87 ml (Rao, 1993). Sedangkan volume ejakulat kerbau lumpur di Indonesia berkisar antara 0,5 sampai 2,5 ml dengan rata-rata 1,3 ml (Toelihere, 1985), 1,7 sampai 2,3 ml (Yusuf, 1979) dan 2,38 ml (Situmorang, 1991). Seperti pada sapi, ejakulat kedua pada kerbau lebih baik dari ejakulat pertama. Walaupun volume dan konsentrasi sperma pada ejakulat kedua lebih rendah, tetapi motilitas sperma pada ejakulat kedua lebih tinggi dari pada ejakulat pertama (El-Sheikh, 1969 dan Toelihere, 1981).

Gerakan massa sperma kerbau lumpur di Indonesia berkisar antara 1 (+) sampai 3 (+++). Menurut Suryaprakasam dan Rao (1993) gerakan massa sperma kerbau Murrah adalah 2,03 (skala skor 1 sampai 3). Persentase sperma hidup kerbau lumpur berkisar antara 48% sampai 80% dengan rata-rata 66,6%

(Toelihere, 1985), sedangkan kerbau Murrah 80,1% (Dhami dan Sahni, 1994). Semen kerbau lumpur bersifar agak basah (Toelihere, 1985), pH 6,8 menurut Yusuf (1979).

Menurut Bhavsar *et al.*, (1990) abnormalitas sperma kerbau adalah  $9,93 \pm 0,12\%$ . Sperma degenerasi 0,98-2,45%, bengkok 0,76-1,38% dan rusak 0,75-1,74% (Dhami *et al.*, 1994). Perubahan bentuk akrosom dapat berupa pembengkakan (*swollen*), pecah (*ruptured*), berkerut (*ruffled*) dan terlepas. Abnormalitas akrosom semen segar kerbau adalah  $6,52 \pm 0,43\%$  meningkat menjadi  $55,06 \pm 2,54\%$  pada semen beku (Krishna dan Rao, 1987).

## **2.6. Pemeriksaan Semen**

### **2.6.1. Gerakan Massa**

Feradis (2010) mengatakan bahwa sperma dalam suatu kelompok mempunyai kecendrungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah yang menyerupai gelombang yang tebal dan tipis, bergerak cepat dan lamban tergantung dari spermatozoa hidup di dalamnya. Gerakan massa spermatozoa dapat dilihat jelas di bawah mikroskop dengan pembesaran (10×10) dan cahaya yang kurang.

Berdasarkan penilaian gerakan massa, kualitas semen dapat di tentukan sebagai berikut:

- a. Sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
- b. Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.

- c. Lumayan (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- d. Buruk (*necrospermia* atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual.

### **2.6.2. Gerakan Individual**

Pembesaran pandangan mikroskop (45x10) pada selapis tipis semen di atas gelas objek yang ditutupi glass penutup akan terlihat gerakan-gerakan individual spermatozoa. Pada umumnya yang terbaik adalah pergerakan progresif atau gerakan aktif maju kedepan. Gerakan maju dan mundur merupakan tanda *cold shock* atau media yang tidak isotonic dengan semen yang tua, jika semen tidak bergerak maka dianggap mati (Feradis, 2010).

### **2.6.3. Penilaian**

Riady (2006) mengatakan bahwa penilaian dinyatakan dalam persentase sel spermatozoa yang gerak maju (motil progresif) terhadap keseluruhan jumlah sel spermatozoa serta gerak individu sperma sebagaimana ditetapkan dalam standar mutu semen beku sapi (SNI 01-4869.1-2005 dan semen beku Kerbau SNI 01-4869.2-2005).

Kualitas semen di tentukan dengan nilai 0 sampai 5 sebagai berikut:

- 0. Spermatozoa immotile atau tidak bergerak
  - 1. Gerakan berputar di tempat
  - 2. Gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang



3. Antara 50% sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa.
4. Pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil.
5. Gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat, menunjukkan 100% motil aktif.

Skala persentase pergerakan dari 0-100 atau 0-10 merupakan alat untuk mencapai tujuan yang sama. Motilitas spermatozoa di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik karena kebanyakan persentase 50-80% spermatozoa yang motil aktif progresif (Feradis, 2010).

## **2.7. Abnormalitas**

Toelihere (1985) mengklasifikasikan abnormalitas menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala yang terlampau besar, kepala terlampau kecil, kepala pendek melebar, pipih memanjang dan piriformis, kepala rangkap, ekor ganda, bagian tengah melipat, membengkok, membesar, piriformis atau bertaut abaxial pada pangkal kepala, dan ekor melingkar, putus atau terbelah. Abnormalitas sekunder termasuk ekor yang putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat, adanya butiran-butiran protoplasma proksimal atau distal dan akrosom yang terlepas

Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah abnormal tersebut terjadi didalam tubuli seminiferi atau didalam epididimis. Selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari

contoh semen maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993).

## **2.8. Membran Plasma Utuh**

Toelihere (1985) mengungkapkan bahwa spermatozoa terdiri dari bagian kepala dan ekor serta permukaan ditutupi oleh lapisan membran lipoprotein. Apabila sel tersebut mati, permeabilitas membrannya tinggi, terutama didaerah pangkal kepala dan hal ini merupakan dasar perwarnaan semen yang membedakan sperma hidup dari yang mati. Membran plasma terdiri dari 52% protein, 40% lemak, dan 8% karbohidrat (Toelihere, 1985).

## **2.9. Penampungan Semen**

Wodzick *et al.* (1991) mengatakan bahwa penampungan semen secara rutin pada ternak tergantung pada cara merangsang pejantan untuk pejantan untuk ejakulasi dalam vagina buatan. secara umum penampungan semen adalah proses ejakulasi yang di pengaruhi oleh beberapa faktor internal dan eksternal, faktor inetranal antara lain hormonal, metabolisme dan keturunan sedangkan faktor eksternal adalah faktor lingkungan (Feradis, 2010). Ada beberapa metode penampungan, diataranya metode pemijatan (mesase), Metode elektro ejakulator dan Vagina buatan.

## **2.10. Pengenceran Semen**

Toelihere (1985) menyatakan bahwa, pengenceran merupakan usaha untuk memperbanyak volume semen serta memenuhi kebutuhan fisik dan kimia sperma selama proses pembekuan dan penyimpanan. Semen perlu di campur dengan

larutan pengencer yang menjamin kebutuhan fisik dan kimiawinya dan di simpan pada suhu dan kondisi tertentu yang mempertahankan kehidupan spermatozoa selama waktu yang diinginkan untuk kemudahan di pakai sesuai dengan kebutuhan. Semen harus di perlakukan dengan hati-hati untuk mencegah *cold shock* atau panas tinggi kontaminasi dengan air, urine dan bahan-bahan kimia pengocokan berlebih-lebihan atau exposure ke udara atau ke sinar matahari yang langsung (Feradis, 2010).

Berdasarkan fungsinya maka pengencer harus mengandung : pertama, sumber energi untuk kelangsungan hidup sperma seperti fruktosa, glukosa dan laktosa. Kedua, anti kejutan dingin seperti lipoprotein dan lecithin. Ketiga, memiliki penyangga seperti Sitrat, Tris dan Phospat. Keempat, memiliki keseimbangan elektrolit seperti anorganik. Kelima, mengandung antibiotik yang melindungi semen dari kontaminasi mikroba (Toelihere, 1985).

## **2.11. Bahan Pengencer**

Menurut Toelihere (1985) pengencer yang baik untuk semen kerbau adalah bikarbona glukosa kuning telur, glisin sitrat kuning telur, Tris-kuning telur. Persentase motilitas lebih baik pada pengencer yang diberikan antibiotik dibandingkan tanpa antibiotik (Gangadhar, 1986).

### **2.11.1. Pengencer Andromed**

Andromed merupakan bahan pengencer instan berupa cairan yang dapat digunakan dalam proses pembekuan semen. Pengencer andromed mengandung *gliserol* yang berfungsi untuk menghasilkan energy dan

membentuk fruktosa, sehingga menunjukkan spermatozoa yang optimum (Munazaroh *et al.*, 2013). Bahan pengencer andromed terdiri dari tris hidroksil metal, aminometan, fruktosa, asam sitrat dan beberapa jenis antibiotic (Minitub, 2001).

## **2.12. Ekuilibrase**

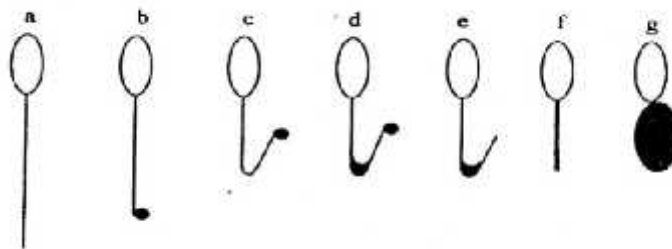
Waktu ekuilibrase adalah periode yang diperlukan spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan penegncer, sehingga pada waktu pembekuan, kematian spermatozoa yang berlebihan dapat dihindari (Toelihere,1985).

Waktu ekuilibrase berbeda-beda pada berbagai jenis, bangsa dan individu penjantan. Menurut Toelihere (1979), bahwa semen harus berada didalam pengencer dengan atau tanpa gliserol karena kurang dari 4 jam pada suhu 5 C. Menurut Arifiantini dan Yusuf (2006), ekuilibrase bertujuan melindungi spermatozoa dari kematian yang disebabkan oleh penurunan tekanan osmotik yang mengganggu keutuhan membran spermatozoa akibat pembekuan.

## **2.12. *Hypo-osmotic SwellingTest* (HOS Test)**

Larutan Hipoosmotik adalah pengaturan secara aktif konsentrasi cairan tubuh yang lebih rendah dari konsentrasi media. Menurut Casper *et al.*, (1996) HOS Test dikembangkan untuk melihat kemampuan membran spermatozoa sebagai sarana transport. Sperma dalam larutan hipoosmotik, apabila membran berfungsi dengan baik maka akan terjadi pembengkakan pada membran plasma dan pembengkakan ekor.

Perubahan-perubahan yang terjadi antara lain dicirikan oleh pembengkakan pada ujung ekor (Gambar 3.2.b – d), lengkungan pada ekor (Gambar 3.2.c – e), ekor yang pendek dan tebal (Gambar 3.2.f) atau pembengkakan pada sebagian atau seluruh bagian dari lengkungan yang di bentuk oleh ekor spermatozoa (Gambar 3.2.d, e dan g), yang menunjukkan integritas spermatozoa yang baik.



Gambar 2.3. Skema perubahan morfologi pada spermatozoa yang diinkubasi dengan medium hipotonik.

*Hypo-osmotic Swelling (HOS) Test* pada awalnya dirancang penggunaannya pada spermatozoa manusia untuk mengevaluasi aktivitas biokimia dari fisik membran plasma secara utuh (Jeyendran *et al.* 1984). Hal ini didasarkan pada pengamatan bahwa jika spermatozoa dengan membran sel fungsional ditempatkan pada larutan hipoosmotik, air mengalir melalui membran dan masuk ke dalam sel, sehingga membangun kembali keseimbangan antara kompartemen cairan ekstraseluler dan cairan intraseluler. Sel tersebut meningkatkan volumenya dan membran yang menutupi ekor spermatozoa mengembang, menyebabkan flagellum menggulung di dalamnya. Ekor melingkar dimulai pada ujung distal ekor dan berlanjut menuju bagian tengah dan kepala saat tekanan osmotik pada media pembekuan menurun (Fonseca *et al.*, 2005).

Fonseca *at al.* (2005) juga mengatakan bahwa pembengkakan menyebabkan perubahan baik dalam ukuran maupun bentuk sel yang dapat dievaluasi menggunakan *Phase Contrast Microscope*.