

SKRIPSI

**PENAMBAHAN EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda
Citrifolia Linn*) PADA PENGENCER TRIS KUNING TELUR
AYAM RAS TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI BALI**

Disusun dan diajukan oleh

HASRIANI

I111 16 556



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

SKRIPSI

**PENAMBAHAN EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda
Citrifolia Linn*) PADA PENGENCER TRIS KUNING TELUR
AYAM RAS TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI BALI**

Disusun dan diajukan oleh

HASRIANI

I111 16 556

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Peternakan
Pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Penambahan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* Linn)
pada Pengencer Tris Kuning Telur Ayam Ras
terhadap Kualitas Semen Sapi Bali**

Disusun dan diajukan oleh

HASRIANI

I111 16 556

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Pada tanggal 11 Desember 2020 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

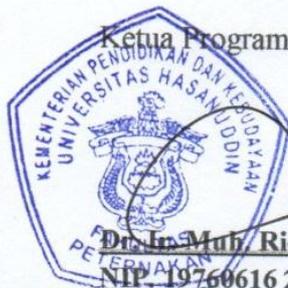
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
NIP. 19700725 199903 1 001

Dr. Agr. Ir. Renny Fatmyah Utami, S.Pt., M.Agr., IPM
NIP. 19720120 199803 2 001

Ketua Program Studi,



Dr. Ir. Mub. Ridwan, S.Pt., M.Si., IPU
NIP. 19760616 200003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hasriani
NIM : I111 16 556
Program Studi : Peternakan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**Penambahan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* Linn)
pada Pengencer Tris Kuning Telur Ayam Ras
terhadap Kualitas Semen Sapi Bali**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Januari 2021

Yang Menyatakan



Hasriani

ABSTRAK

Hasriani. I111 16 556. Penambahan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia Linn*) pada Pengencer Tris Kuning Telur Ayam Ras terhadap Kualitas Semen Sapi Bali. Dibimbing oleh **Muhammad Yusuf** sebagai pembimbing utama dan **Renny Fatmyah Utamy** sebagai pembimbing kedua.

Ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia Linn*) mengandung xeronin dan proxeronin yang dapat menangkal radikal bebas dan vitamin C yang mampu menstabilkan jaringan pelindung sehingga dapat mempertahankan kualitas dan meningkatkan daya hidup spermatozoa. Kuning telur mengandung lesitin dan lipoprotein yang merupakan protein terberat molekul tinggi yang dapat mencegah terjadinya *cold shock*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui penambahan ekstrak buah mengkudu pada pengencer Tris Kuning Telur (TKT) ayam ras sehingga dapat meningkatkan kualitas semen sapi Bali. Penelitian ini menggunakan analisis *repeated measurement Anova* dengan 5 perlakuan yaitu P0 = pengencer TKT ayam ras tanpa ekstrak buah mengkudu (kontrol) P1 = Suplementasi ekstrak mengkudu 0,02 gr/ml pengencer pada TKT ayam ras; P2 = suplementasi ekstrak mengkudu 0,04 gr/ml pengencer pada TKT ayam ras; P3 = suplementasi ekstrak mengkudu 0,06 gr/ml pengencer pada TKT ayam ras; dan P4 = suplementasi ekstrak mengkudu 0,08 gr/ml pengencer pada TKT ayam ras. Metode penelitian dimulai dengan pembuatan ekstrak mengkudu dan pembuatan pengencer TKT ayam ras. Semen yang digunakan dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis terlebih dahulu kemudian semen diencerkan sesuai dengan perlakuan lalu diekuilibrasikan selama 3 jam hingga 4 hari. Selanjutnya semen dievaluasi secara mikroskopis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa spermatozoa pada perlakuan P0, P1, P2, P3, dan P4 setelah ekuilibrasikan selama 3 jam hingga 4 hari menunjukkan adanya pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase motilitas dan viabilitas. Namun, penambahan ekstrak buah mengkudu menunjukkan terjadinya penurunan persentase motilitas dan viabilitas. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak mengkudu pada dosis 0,02gr/ml ke dalam pengencer TKT ayam ras yang dapat mempertahankan kualitas semen sapi Bali.

Kata kunci: ekstrak mengkudu, motilitas, spermatozoa, TKT ayam ras, viabilitas

ABSTRACT

Hasriani. I111 16 556. The addition of *Mengkudu* Fruit Extract (*Morinda citrifolia* Linn) to Tris-Layer Egg Yolk Extender on the Quality of Bali Bull Semen. Supervised by **Muhammad Yusuf** and **Renny Fatmyah Utamy**.

Mengkudu fruit extract (*Morinda citrifolia* Linn) contains xeronin and proxeronin which could ward off free radicals and vitamin C which stabilize protective tissue so that it can maintain the quality and increase the viability of the sperms. Egg yolk contains lecithin and lipoprotein which have high molecules that could prevent from cold shock. The objective of this study was to determine the addition of *mengkudu* fruit extract to Tris-layer egg yolk extender to improve the quality of Bali bull semen. This study was analysed using repeated measurement of Anova with 5 treatments i.e. P0 = Tris-layer egg yolk extender without *mengkudu* fruit extract (as a control) and the other four treatments included of *mengkudu* fruit extract at different level i.e. P1 = supplementation of *mengkudu* extract at a level of 0.02 gr/ml; P2 = supplementation of *mengkudu* extract at a level of 0.04 gr/ml; P3 = supplementation of *mengkudu* extract at a level of 0.06 gr/ml; and P4 = supplementation of *mengkudu* extract at a level of 0.08 gr/ml in the extender. The study was started by making *mengkudu* fruit extract and Tris-layer egg yolk extender. After semen was collected, the semen was evaluated macroscopically and microscopically first, then the semen was diluted according to the treatment and then equilibrated for 3 hours to 4 days. Furthermore, the semen was evaluated microscopically. The results of this study revealed that the sperms in each treatment after equilibration for 3 hours to 4 days showed a significant effect ($P < 0.05$) on the percentage of motility and viability. However, the increase in the number of level of *mengkudu* fruit extract showed that there was a decrease in the percentage of motility and viability. This study concluded that the *mengkudu* fruit extract at a dose of 0.02 g/ml into the Tris-layer egg yolk extender could maintain the quality of Bali bull semen.

Keywords: *mengkudu* fruit extract, motility, spermatozoa, tris diluent chicken egg yolk, viability

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim...

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kepada Allah ta'ala yang masih memberikan limpahan rahmat sehingga penulis tetap dapat menjalankan aktivitas sebagaimana mestinya, dan tidak lupa pula kami hanturkan salawat dan salam kepada junjungan baginda Nabi Muhammad sallallahu'alaihi wassalam, keluarga dan para sahabat, tabi'in dan tabiuttabi'in yang terdahulu, yang telah memimpin umat islam dari jalan kejahilian menuju jalan Addinnul Islam yang penuh cahaya kesempurnaan.

Dengan penuh rasa hormat, penulis merangkaikan untaian terima kasih tiada tara kepada ayah **Sapri** dan ibu **Rosnani** yang telah melahirkan, mendidik dan membesarkan dengan penuh cinta dan kasih sayang yang begitu tulus kepada penulis sampai saat ini dan senantiasa memanjatkan doa untuk keberhasilan penulis. Dukungan baik spiritual maupun materil, keikhlasan dalam merawat dan mendidik penulis sampai saat ini. Serta **Muhammad Hasrin**, **Muhammad Syahir**, dan **Firdah Yasyrah** yang telah menjadi adik yang sangat baik bagi penulis. Semoga Allah senantiasa melindunginya dan mengumpulkan keluarga kami dalam syurga-Nya.

Terima kasih tak terhingga kepada bapak **Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** selaku pembimbing utama dan kepada ibu **Dr. Agr. Ir. Renny Fatmyah Utamy, S.Pt., M. Agr., IPM** selaku pembimbing anggota atas didikan, bimbingan, serta waktu yang telah diluangkan untuk memberikan petunjuk dan menyumbangkan pikirannya dalam membimbing penulis mulai dari perencanaan penelitian sampai selesainya skripsi ini.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis hanturkan dengan segala keikhlasan dan kerendahan hati kepada:

1. Rektor Unhas **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A**, Dekan Fakultas **Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc**, Wakil Dekan dan seluruh Bapak Ibu Dosen yang telah melimpahkan ilmunya kepada penulis, dan Bapak Ibu Staf Pegawai Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
2. Bapak **Prof. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc**. dan bapak **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si.**, selaku pembahas yang telah memberikan masukan dan nasehat bagi penulis.
3. **Dosen** pengajar Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang telah banyak memberi ilmu yang sangat bernilai bagi penulis.
4. **Dr. Ir. Aslina Asnawi, S.Pt., M.Si., IPM** dan **Dr. Sutomo, S.Pt., M.Si** selaku Penasehat Akademik yang banyak meluangkan waktu untuk memberikan motivasi, nasehat, dan dukungan kepada penulis.
5. **Dr. Ir. Zulharnaim, S.Pt., M.Si., IPM** selaku Pembimbing Seminar Pustaka terima kasih atas ilmu dan bimbingannya.
6. **Dr. Muhammad Hatta, S.Pt., M.Si** dan **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM** selaku pembimbing penulis Praktek Kerja Lapang (PKL) terima kasih atas ilmu dan bimbingannya.
7. **Prof. Dr. Ir. Jasmal A. Syamsu, M.Si., IPU., ASEAN Eng** dan **Prof.Dr. Ir. Muhammad Irfan Said, S. Pt., MP., IPM** selaku pembimbing penulis persuratan organisasi.

8. Kepada seluruh staf “**UPTD-IB**”, **Pak Gunawan, Kak Madi, Pak Usman, Pak Kuddus, Ibu Ida, Kak Majdah** yang telah membantu dan memberi arahan kepada penulis selama penelitian.
9. Sahabat-sahabat “**FLAMINGO**”, **Hajaratul Aswar, Nur Abri, Farliansyah, Syaripuddin, Windiana, Anisa Triana Kadir, Andi Agustina, Syurah Aulia Rahman, dan Rahmayanti** yang sudah saya anggap seperti saudara dari awal perkuliahan sampai sekarang, teman curhat, teman jalan, teman suka duka kerja tugas, laporan, asistensi dan lab. Terima kasih atas segala bantuan, canda tawa, motivasi, dukungan kepada penulis dalam keadaan apapun. Semoga kita semua sukses. Aamiin.
10. Sahabat-sahabatku **Nelar dan Novic Arya Kusuma Sari** yang sudah saya anggap seperti saudara dari awal perkuliahan sampai sekarang, teman curhat, teman jalan, teman berbagi suka duka, teman makan, teman tidur. Terima kasih atas segala bantuan, canda tawa, motivasi, dukungan kepada penulis dalam keadaan apapun. Semoga kita semua sukses. Aamiin.
11. Teman-teman “**BOSS’16**” yang tidak bisa saya sebutkan namanya satu persatu yang telah menemani dan mendukung penulis selama kuliah.
12. Teman-teman “**FD (EWAKO JNS)**” yang penulis tidak bisa sebutkan namanya satu persatu yang telah menemani dan mendukung penulis selama kuliah.
13. Teman-teman “**TEAM SEMEN**” **Muhammad Fajar Amrullah, Andrianus Tombilangi, A. Nirmala, Nurul Fasirah, dan Rahmat** yang telah menjadi partner penelitian, teman seperjuangan penelitian, teman suka duka penelitian, dan teman seperjuangan dalam mengejar gelar S.Pt.

14. Teman-teman **PKL, Dinar, Muhammad Fajar Amrullah, Muhammad Irgi Fahresi** dan **Agung Gumelar** yang telah memberi motivasi dan semangat kepada penulis.
15. **Kak Ani, Kak Ebit, Imran, Lia, Ima, Kak Burhan, Mila, Nisfah, Indah, Kalla, Lulu, Aisyah, Siddik, Fathir, Kak Saleh, Kak Salam, Kak Upe, Kak Reni, Kak Yuyu, Kak Greg, Kak Bayu, Kak Appang, Kak Turi, Kak Mila, Muti, Nunu, Putri, Martin, Oll, Abel, Kak Fira, Iqbal, Fadil, Kak Acci** dan teman-teman bahkan kakak-kakak serta adik-adik lainnya yang tidak sempat saya cantumkan namanya yang telah banyak membantu penulis selama kuliah, penelitian dan sehari-hari.
16. Kanda, teman-teman dan adik-adik **Himpunan Mahasiswa Produksi Ternak Universitas Hasanuddin (HIMAPROTEK-UH)** yang telah banyak memberi wadah kepada penulis untuk berproses dan belajar.
17. Kanda, teman-teman dan adik-adik **FOSIL** dan **HMI Komisariat Peternakan Cab. Makassar Timur** yang penulis tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah memberikan wadah kepada penulis selama kuliah.
18. Kakak, teman dan adik ”**Asisten Laboratorium Ilmu Ternak Perah dan Manajemen Ternak Perah**”, **Kak Sayyed, Kak Dicky, Kak Eppink, Kak Isdam, Kak Abrar, Kak Cenceng, Ayyub, Takim, Upe, Mela, Irma, Andri, Mul, Amran, Ulil, Made, Tiwi, dan Imma** yang telah membantu dan memberikan motivasi kepada penulis selama kuliah.
19. Rekan-rekan Mahasiswa Fakultas Peternakan kepada Angkatan **Larfa 2013, Ant 2014, Rantai 2015, Griffin 2017, Crane 2018 dan Vestco 19.**

20. Teman-teman **“CHIO”**, **Sherly Marlina, Rahmi Muliani, Sahriani, Lisa Amanda, Nurlaelah**, dan **Rinda Muliati** yang selalu memberikan motivasi serta semangat kepada penulis.
21. Teman-teman **Sekolah Menengah Pertama**, **Ima, Eka, Ani, Masni, Ayu, Arman, Iwan, Arif, Amir, Ramdani, Imran, Ani, Rahma, Dewi, Emi**, dan **Lia** yang selalu memberikan motivasi serta semangat kepada penulis.
22. Teman-teman **KKN REGULER KAB. BULUKUMBA Gel. 102** khususnya Kabupaten Bulukumba, Kecamatan Bulukumpa, Kelurahan Tanete **Muh. Tommy Anugro Haryum, Kevin Hizkia Patiallo, Muh. Darul Fikri, Mahaedir Amri Aliagung, Annisa Muslimah Fadhilah Tamrin, Putri Angraini, Marhaeni S., Nur Inzani**, dan **Anita**. Serta **Agung** dan **Wawan** yang telah banyak menginspirasi dan mengukir pengalaman hidup bersama penulis yang tak terlupakan selama 1 bulan mengabdikan diri di masyarakat.

Dengan sangat rendah hati, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran pembaca sangat diharapkan demi perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan nantinya. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi kita semua. Aamiin Ya Rabbal Aalamin. Akhir Qalam Waassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Makassar, Januari 2021



Hasriani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
PENDAHULUAN.....	1
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
Semen dan Kualitas Semen	4
Pengencer Semen	5
Buah Mengkudu	6
MATERI DAN METODE PENELITIAN	
Waktu dan Tempat	10
Materi Penelitian	10
Metode Penelitian.....	10
Prosedur Penelitian.....	11
Rancangan Penelitian	15
Parameter Penelitian.....	15
Analisa Data	16
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
Kararakteristik Semen Segar Sapi Bali.....	17
Motilitas Spermatozoa Sapi Bali setelah Pengenceran	20
Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali setelah Pengenceran	22
KESIMPULAN DAN SARAN	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	30
BIODATA	45

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Diagram Alir Proses Pengenceran Semen.....	11
2. Motilitas Speermatozoa Sapi Bali setelah Pengenceran.....	20
3. Viabilitas Speermatozoa Sapi Bali setelah Pengenceran	22

DAFTAR TABEL

No.		Halaman
1.	Karakteristik Semen Segar Sapi Bali secara Makroskopik dan Mikroskopik	17

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Motilitas Spermatozoa setelah Ekuilibrasi	30
2. Viabilitas Spermatozoa setelah Ekuilibrasi	37
3. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	44

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kebutuhan produk peternakan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk, pendapatan masyarakat dan pengetahuan masyarakat terhadap gizi. Namun, peternakan di Indonesia belum mampu memenuhi kebutuhan masyarakat akan protein hewani. Hal ini terjadi karena masih rendahnya populasi dan produktivitas ternak. Agar hal ini tidak terjadi, maka selain pencegahan penyakit, pencegahan pemotongan hewan betina produktif dan pengadaan bibit unggul, persoalan reproduksi juga perlu mendapat perhatian dan penanganan yang serius dalam usaha peningkatan populasi dan produktivitas ternak. Salah satu cara untuk meningkatkan populasi dan produktivitas ternak sapi adalah dengan pemanfaatan teknik Inseminasi Buatan (IB) (Kaiin dkk., 2004).

Faktor genetik maupun non genetik adalah penyebab rendahnya kualitas semen cair yang diolah menjadi semen beku. Salah satu faktor non genetic yang mempengaruhi kualitas semen adalah pengencer. Pengencer yang digunakan harus dapat menunjang kehidupan spermatozoa. Maka dari itu diperlukan suatu bahan yang dapat mempertahankan kualitas semen terutama pada motilitas spermatozoa, karena pada dasarnya hanya sperma motil yang mempunyai peluang besar untuk membuahi sel telur.

Masalah utama yang sering dihadapi pada bahan pengencer yaitu belum adanya informasi yang cukup untuk bahan pengencer yang mengandung antioksidan yang mudah diperoleh secara cepat, mudah, dan murah namun mampu mempertahankan kualitas spermatozoa lebih lama. Bahan pengencer yang

baik harus dapat memperlihatkan kemampuannya dalam memperkecil tingkat penurunan kualitas spermatozoa sehingga pada akhirnya dapat memperpanjang lama penyimpanannya pasca pengenceran (Solihati dan Kume, 2009). Bahan pengencer yang dapat digunakan untuk semen sapi adalah pengencer tris kuning telur (TKT).

TKT merupakan bahan pengencer yang mudah diperoleh secara cepat, mudah, dan murah namun belum mampu mempertahankan kualitas spermatozoa lebih lama. TKT mengandung lesitin dan lipoprotein yang dibutuhkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi pada saat pengenceran dan pembekuan semen. Tris mempunyai sistem penyanggah yang baik, memiliki toksisitas yang rendah, dan kuning telur termasuk bahan krioprotektan ekstraseluler yang dapat mengurangi *cold shock* pada waktu pembekuan (Siahaan, 2009). Namun demikian, TKT masih memiliki kekurangan yaitu belum mampu menangkal radikal bebas yang berdampak pada penurunan kualitas spermatozoa.

Proses pembuatan semen cair maupun semen beku sering kali terjadi penurunan kualitas spermatozoa akibat stress oksidatif yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas. Agarwal *et al.* (2005) menyatakan bahwa radikal bebas dapat membahayakan motilitas spermatozoa atau kemampuan spermatozoa untuk bergerak, sehingga tidak mampu membuahi sel telur. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan yang bertindak sebagai “pemangsa” radikal bebas untuk melindungi spermatozoa. Sumber antioksidan terbanyak terdapat pada makanan bersumber dari buah-buahan dan sayur-sayuran, salah satunya adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia Linn*) (Oguntibeju *et al.*, 2010). Selain kaya akan antioksidan, buah mengkudu juga mengandung karoten, vitamin C, xeronin, dan proxeronin

yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Vitamin C mempunyai kemampuan untuk menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen (Andarwulan, 1992).

Sabile dkk.(2016) menyatakan bahwa dengan penambahan ekstrak buah mengkudu sebanyak 0,02 gr/ ml pada pengencer dapat mempertahankan motilitas individu spermatozoa sampai hari ke-5 ekuilibrasi dengan suhu 5°C. Selain itu, kandungan yang ada dalam buah mengkudu seperti vitamin C mempunyai kemampuan untuk menstabilkan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas semen untuk meningkatkan daya hidup spermatozoa dan menjaga motilitas spermatozoa. Namun demikian sejauh ini belum ada informasi mengenai penambahan dan level ekstrak buah mengkudu dalam pengencer TKT khususnya mengenai level ekstrak buah mengkudu untuk menghasilkan daya hidup spermatozoa yang paling optimal dan tingkat motilitas yang bagus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penambahan ekstrak buah mengkudu pada pengencer TKT ayam ras yang dapat mempengaruhi kualitas semen sapi Bali. Adapun manfaat dari penelitian ini yakni dapat memberikan informasi pemanfaatan buah mengkudu sebagai bahan alternatif alami untuk ditambahkan pada media pengencer sehingga dapat menjaga dan mempertahankan kualitas semen sapi Bali.

TINJAUAN PUSTAKA

Semen dan Kualitas Semen

Sapi Bali merupakan sapi lokal dengan penampilan produksi yang cukup tinggi. Penyebarannya telah meluas di seluruh Indonesia, meskipun masih tetap terkonsentrasi di Pulau Bali. Untuk mempertahankan dan meningkatkan populasinya, dibutuhkan teknologi reproduksi, seperti IB. Program IB mempunyai peranan yang sangat strategis dalam usaha meningkatkan kualitas dan kuantitas bibit. Salah satu faktor penentu kualitas semen adalah pengencer yang berkualitas.

Semen merupakan cairan suspensi sel yang di dalamnya mengandung spermatozoa dan sekresi kelenjar aksesori 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 (Garner dan Hafez, 2000).

Kualitas semen merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan IB yang dipengaruhi oleh proses pengolahan semen mulai dari penampungan, pengenceran, *ekuilibrase*, dan pembekuan semen. Selain itu, metode *thawing* yang digunakan oleh inseminator sangat berperan dalam menentukan kualitas semen yang akan diinseminasikan. Kualitas semen beku setelah *thawing* harus mempunyai motilitas minimal 40% (Rizal dan Herdis, 2020).

Parameter penentuan kualitas dan kuantitas semen dapat dilihat dengan baik secara makroskopis (yakni volume, warna, pH, konsistensi) dan mikroskopis

(yakni motilitas, presentasi hidup, konsentrasi dan gerakan massa). Penentuan kualitas semen bertujuan untuk mengevaluasi semen segar yang telah di tampung dengan mengetahui kadar pengenceran yang dibutuhkan serta untuk menentukan apakah semen tersebut layak atau tidak diproses menjadi semen beku (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Pengencer Semen

Keberhasilan IB sangat bergantung pada kualitas semen dengan daya hidup tinggi, sehingga memerlukan proses pengenceran semen yang efektif, efisien dan murah. Penggunaan semen segar yang diencerkan terbukti menghasilkan fertilitas tinggi dengan biaya lebih murah (Susilawati dkk., 2008).

Pengenceran semen adalah medium yang mengandung bahan nutrisi, sumber energi, bahan pendukung seperti penyanggah dan antibiotik yang sesuai dengan sifat biologis dan fisiologis spermatozoa (Kostama dan Utama, 2006). Selanjutnya Ridwan (2009) menambahkan bahwa pengenceran semen bertujuan untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa, dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa pada kondisi penyimpanan dibawah atau diatas titik beku sehingga dapat mempertahankan fertilitas spermatozoa dan memperpanjang daya hidup spermatozoa.

Syarat bahan pengencer yaitu mempunyai daya preservasi tinggi, tidak bersifat racun, mengandung sumber energi, mengandung buffer, melindungi dari pengaruh pendinginan secara tepat, bersifat isotonis, menghambat pertumbuhan bakteri, meningkatkan volume, dan tetap dapat mempertahankan daya fertilisasi spermatozoa (Susilawati, 2011).

Pengencer yang banyak digunakan untuk pembekuan semen dan telah berhasil baik adalah pengencer yang menggunakan penyanggah tris yang dikombinasikan dengan gula monosakarida. TKT memberikan motilitas spermatozoa pasca *thawing* yang lebih tinggi dibandingkan dengan sitrat kuning telur. Tris selain mempunyai sistem penyanggah yang baik juga memiliki toksisitas yang rendah (Situmorang, 2002).

Kandungan kuning telur juga mengandung glukosa, yang lebih baik digunakan oleh spermatozoa sapi untuk metabolismenya daripada fruktosa yang terdapat di dalam semen, berbagai protein, vitamin-vitamin yang larut dalam air maupun larut dalam minyak, dan memiliki viskositas yang mungkin menguntungkan spermatozoa. Kuning telur juga mengandung asam-asam amino L-tryrosin, L-tryptohan, dan L-phenilalani yang menghasilkan hydrogen peroksida pada deaminasi oksiatif (Susilawati, 2011).

Kuning telur termasuk bahan krioprotektan ekstraseluler yaitu krioprotektan dengan molekul-molekul besar, yang tidak dapat menembus membran sel. Kuning telur mengandung lesitin dan lipoprotein. Lesitin dan lipoprotein merupakan protein berberat molekul tinggi yang akan menyelubungi spermatozoa sehingga dapat mengurangi *cold shock* pada waktu pembekuan. Kuning telur terdiri atas 49% air, protein 16,5%, lemak 32% dan hidrat arang 1%. Lemak kuning telur terdiri atas gliserida 62%, phospolipid 33% dan kolesterol 5%. Phospolipid terdiri atas lechitine 73% dan cephalin 15% (Sudaryani, 2003).

Buah Mengkudu

Buah mengkudu merupakan tanaman yang dapat tumbuh secara liar di hutan-hutan, tegalan, pinggiran sungai, dan pekarangan. Tanaman ini mudah

tumbuh pada berbagai tipe lahan dan iklim pada ketinggian tempat dataran rendah sampai 1.500 m diatas permukaan laut dengan curah hujan 1.500-3.500 mm/tahun, pH tanah 5-7, suhu 22-30°C, dan kelembaban 50-70% (Gusti, 2014). Pada umumnya tanaman ini banyak ditemukan di daerah tropis, termasuk kepulauan Pasifik, Asia Tenggara, India dan Philipina. Pengembangan tanaman mengkudu tidak memerlukan biaya yang besar, hanya memerlukan banyak air, tempat yang lembab dan tanah yang berdrainase baik. Mengkudu memiliki kandungan senyawa *xeronine*, *proxeronine*, *proxeronase*, *serotonin*, *dammacanhtal*, scopoletin, vitamin C, antioksidan, mineral, protein, karbohidrat, enzim, alkaloid, kofaktor tanaman dan *fitonutrient* lainnya yang sangat aktif yang mampu memperbaiki fungsi sel, mempercepat regenerasi sel-sel yang rusak dan dapat menangkal radikal bebas untuk melindungi spermatozoa (Winarti, 2005).

Semen akan mengalami proses metabolisme selama penyimpanan pada suhu ruang maupun dingin. Metabolisme semen menghasilkan salah satunya reaksi peroksidatif lipid jika bereaksi dengan radikal bebas. Radikal bebas yang terdapat pada spermatozoa ditandai dengan meningkatnya *reactive oxygen species* (ROS) (Sikka, 2004). Susilawati dkk. (2008) menjelaskan bahwa produksi ROS yang berlebihan tidak mampu dinetralisir oleh sistem pertahanan, sehingga antioksidan pada spermatozoa atau plasma seminalis dapat menyebabkan kerusakan asam lemak, khususnya asam lemak poli tak jenuh yang disebut lipid peroksidase. Lipid peroksidase merupakan komponen penting dari fosfolipid penyusun membran spermatozoa yang menyebabkan penurunan motilitas dan kematian spermatozoa. Terbentuknya radikal peroksida lipid dapat ditekan oleh antioksidan (Suyadi dkk., 2012).

Asam askorbat yang terdapat dalam buah mengkudu merupakan sumber vitamin C dan antioksidan (Bangun dan Sarwono, 2002). Mengkudu sebagai antioksidan dapat menghambat kerusakan lemak atau bahan pangan berlemak akibat proses oksidasi (Winarno dan Koswara, 2002). Selanjutnya dikemukakan bahwa antioksidan alami (Vitamin E dan Vitamin C) dapat melindungi kerusakan membran sel dan sub seluler lainnya (akibat banyaknya ikatan rangkap yang mudah dioksidasi sehingga akan melindungi lemak dari oksidasi) serta dapat melindungi kerusakan fosfolipid yang terdapat dalam sel. Antioksidan bermanfaat menetralkan radikal bebas, yaitu partikel-partikel berbahaya yang berbentuk sebagai hasil samping metabolisme yang dapat merusak materi genetik. Ini artinya, antioksidan dalam buah mengkudu sangat membantu dalam memelihara keutuhan membran sel dengan cara menjaga dari kerusakan sel makhluk hidup. Asam kaproat, asam kaprilat, dan asam kaprik termasuk golongan asam lemak. Asam kaproat dan asam kaprik inilah yang menyebabkan bau busuk yang tajam pada buah mengkudu (Winarti, 2005).

Ekstrak buah mengkudu dapat mempertahankan motilitas spermatozoa karena banyak mengandung antioksidan yang berfungsi menetralkan radikal bebas penyebab penurunan motilitas spermatozoa selama proses ekuilibrisasi pada suhu 5°C. Murcahyana dkk. (2016) menyatakan bahwa pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu dengan dosis 10% dan 20% di dalam larutan NaCl fisiologis mampu mempertahankan kualitas spermatozoa ayam buras hingga waktu simpan dua jam pada suhu ruang. Sedangkan Hikmayanti (2017) yang menyatakan bahwa pengaruh penambahan ekstrak buah mengkudu pada bubuk pakan tidak mempengaruhi volume 0,14ml; 0,25 ml; 0,22 ml; dan 0,25 ml;

kekentalan, pH 7,41; 7,08; 7,33; dan 7,20; warna, viabilitas sperma 79,50%; 85%; 87,63%; dan 87,50%, serta abnormalitas sperma 21,33%; 8,48%; 8,27%; dan 10,43%. Pemberian ekstrak buah mengkudu dengan level 0,2 g, $6,33 \times 10^9$ cell/ml meningkatkan konsentrasi sperma $9,15 \times 10^9$ cell/ml, $9,59 \times 10^9$ cell/ml, $8,38 \times 10^9$ cell/ml ($P < 0,05$). Peningkatan suplementasi hingga 0,4 g 80,83 meningkatkan motilitas sperma 82,50%, 86,50%, dan 89,33% ($P < 0,05$).

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus-Oktober 2020 dan bertempat di UPT Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Sulawesi Selatan, Desa Pucak, Kecamatan Tompobulu, Kabupaten Maros dan Laboratorium Unit Processing Semen Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah semen segar yang berasal dari satu ekor sapi Bali jantan. Bahan-bahan pendukung antara lain: ekstrak buah mengkudu, aquabidest 80 ml, alkohol 70%, kristal Tris (*Hydroximethyl aminomethane*) 1,422 gr, kuning telur ayam ras 20 ml, pewarna eosin 0,2%, etanol 96%, *streptomycin* 0,100 gr, kristal laktosa 1,500 gr, *penicillin* 0,100 gr, asam sitrat 0,677v gr, *vaseline*, straw, tissue, kertas saring, kertas label, air bersih, dan kertas pH.

Alat yang digunakan antara lain: vagina buatan, mikroskop, thermometer, aluminium foil, *waterbath*, *object glass*, *cover glass*, alat penghitung konsentrasi otomatis (*Photometer SDM 6*), kulkas, kompor listrik, tabung reaksi, tabung ukur, gelas ukur 10 ml, rak straw, rak tabung, spoit, bunsen, korek api, mikro dan makro pipet, *cuffettes*, pinset, pulpen, timbangan analitik, gunting, oven, blender, *beacker glass*, *sentrifuge*, sendok, labu ukur, pisau, baskom dan saringan.

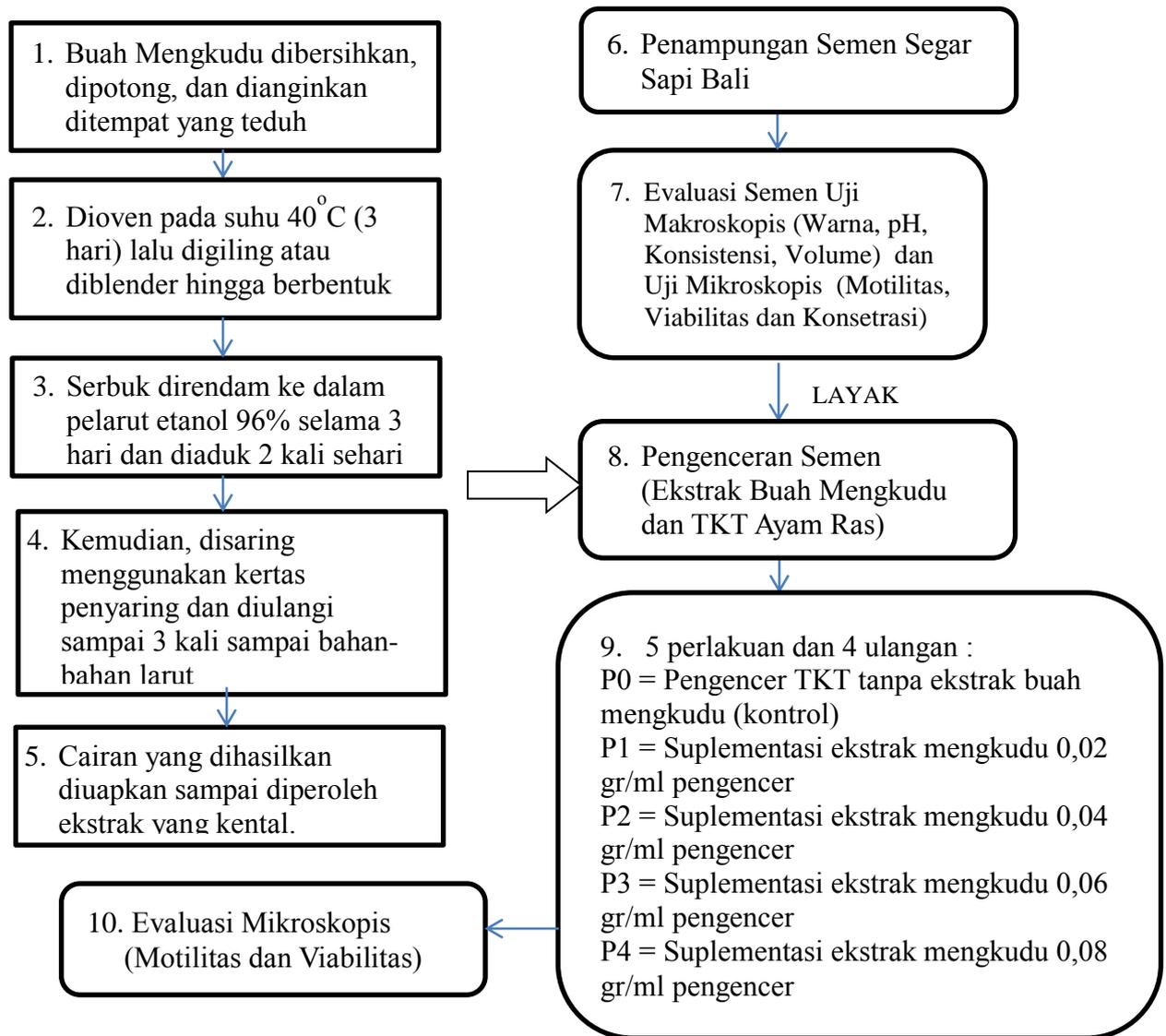
Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode penampungan semen dan percobaan yang dilakukan di laboratorium. Penelitian ini dilakukan dengan

menggunakan semen sapi Bali dengan jenis pengencer TKT ayam ras dan penambahan ekstrak buah mengkudu. Semen ditampung sebanyak 4 kali, kemudian diberi perlakuan yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan.

Prosedur Penelitian

Menurut Sabile dkk. (2016) proses pembuatan ekstrak buah mengkudu (diagram No. 1-5) sedangkan prosedur penelitian (diagram No.6-10) sebagai berikut:



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pengenceran Semen

Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan sekali seminggu pada pagi hari pukul 06.00 WITA sampai selesai. Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan vagina buatan. Temperatur vagina buatan menurut Widiastuti (2001) sebelum digunakan harus berkisar 42-45°C dan tabung semen harus bersuhu 30-37°C untuk mencegah *cold shock* pada spermatozoa. Mardiyah dkk. (2001) menambahkan bahwa vagina buatan yang telah diolesi dengan vaselin dibawa dengan menggunakan tangan kanan dengan sudut kemiringan $\pm 35^\circ$, selanjutnya dibutuhkan petugas lain yang mendekatkan pejantan kepada sapi betina agar libido pejantan tersebut terpancing. Lalu, kolektor bersiaga apabila pejantan mengalami *mounting* (menaiki bull teaser). Pada saat *mounting*, penisnya keluar dan libidonya telah memuncak, maka kolektor memegang bagian prepetium dan mengarahkan penis ke vagina buatan yang sudah disiapkan, setelah pejantan menekan penis ke dalam vagina buatan karena adanya gesekan maka terjadilah (ejakulasi).

Proses Pembuatan Pengencer

Cara pembuatan pengencer TKT adalah sebagai berikut :

1. Menimbang 1,422 gr kristal Tris (*Hydroxymethyl aminomethane*), laktosa 1,500 gr, asam sitrat 0,677, *streptomycin* 0,100 gr dan *penicillin* 0,100 gr;
2. Memasukkan 1,422 gr kristal Tris (*Hydroxymethyl aminomethane*), laktosa 1,500 gr, asam sitrat 0,677, kedalam labu ukur 100 ml, lalu menambahkan aquabidest sampai mencapai 80 ml, kemudian dihomogenkan selama 15 menit;

3. Lalu dipanaskan menggunakan kompor listrik hingga mendidih kemudian dibiarkan dingin pada suhu ruang.
4. Menyiapkan 20 ml kuning telur;
5. Selanjutnya, menambahkan kuning telur 20 ml ke dalam larutan tris yang sudah dingin sampai mencapai 100 ml, kemudian menambahkan *streptomycin* 0,100 gr dan *penicillin* 0,100 gr. Setelah proses ini selesai, *disentrifuge* selama 15 menit hingga larutan menjadi homogen; dan
6. Pengencer TKT ayam ras siap digunakan.

Proses pembuatan ekstrak buah mengkudu :

1. Buah mengkudu dibersihkan lalu diiris tipis. Selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari;
2. Memasukkan kedalam oven pada suhu 40°C selama (3 hari);
3. Setelah kering, buah mengkudu tersebut digiling hingga membentuk serbuk (simplisia);
4. Berikutnya, simplisia direndam ke dalam pelarut etanol 96% sampai terendam seluruhnya selama 3×24 jam;
5. Cairan ini diaduk 2 kali sehari selama 3 hari berturut-turut;
6. Selanjutnya, cairan ini disaring menggunakan kertas saring;
7. Memaserasi residu kembali dengan cara yang sama, sampai tiga kali hingga bahan-bahan larut; dan
8. Cairan yang dihasilkan diuapkan hingga diperoleh ekstrak yang kental

Pengenceran Semen

Pengenceran semen merupakan salah satu tahap yang penting dalam prosedur pengemasan semen beku. Jumlah bahan pengencer yang akan ditambahkan ke masing-masing semen dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Volume pengencer} = \frac{\text{volume.semen} \times \text{konsentrasi sperma} \times \text{motilitas}}{\text{Konsentrasi sperma yang diinginkan/ml}}$$

Pembuatan medium pengencer TKT dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Ekstrak buah mengkudu disiapkan sebanyak 4 gr lalu dilarutkan ke dalam pengencer TKT sebanyak 50 ml.. Selajutnya, menyisihkan 20ml untuk stok 0,08gr/ml.
2. Menuang sisa pengencer TKT+ekstrak mengkudu kedalam wadah stok sebanyak 10ml dan pengencer TKT sebanyak 10ml untuk stok konsentrasi 0,04gr/ml.
3. Kemudian, menuang kembali sisa pengencer TKT+ekstrak mengkudu kedalam wadah sebanyak 5ml dan pengencer TKT sebanyak 15ml untuk stok konsentrasi 0,02gr/ml.
4. Selanjutnya menuang sisa dari pengencer TKT+ekstrak mengkudu yaitu 15ml dan mencampurkan pengencer TKT yaitu 5ml untuk stok konsentrasi 0,06gr/ml.

Setelah diencerkan, dilanjutkan dengan proses pengisian *straw* dan diekuilibrasi pada suhu 5°C mulai dari 3 jam sampai 96 jam (4 hari) dalam lemari pendingin.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan uji *Repeated-Measures* ANOVA atau uji pengulangan yang menggunakan variable waktu dengan 5 faktor dan 4 ulangan. Adapun perlakuan yang dimaksud adalah sebagai berikut:

P0 = Pengencer TKT tanpa ekstrak buah mengkudu (kontrol)

P1 = Suplementasi ekstrak mengkudu 0,02 gr/ml pengencer

P2 = Suplementasi ekstrak mengkudu 0,04 gr/ml pengencer

P3 = Suplementasi ekstrak mengkudu 0,06 gr/ml pengencer

P4 = Suplementasi ekstrak mengkudu 0,08 gr/ml pengencer

Parameter Penelitian

Parameter yang diuji pada penelitian ini terbagi atas dua yaitu makroskopis (warna, pH, konsistensi/kekentalan, volume semen) dan mikroskopis (motilitas dan viabilitas) yaitu

Pengujian Makroskopis

1. Warna semen dapat dipantau dari luar tabung dengan melihat warna semen yang terejakulasikan. Warna semen umumnya adalah putih keruh;
2. pH semen dapat diukur dengan menggunakan pH meter (kertas lakmus);
3. Konsistensi semen (kekentalan) dapat diamati dengan cara memiringkan tabung dan kekentalan semen yang terpantau dari cepat atau lambatnya semen mengalir ke dasar tabung; dan
4. Volume semen dapat diamati dari angka yang ada pada dinding tabung dengan cara meletakkan tabung reaksi berskala dengan posisi tegak lurus. Angka yang terbaca adalah volume dari satu kali ejakulasi;

Pengujian Mikroskopis

1. Motilitas spermatozoa dihitung dengan cara meneteskan setetes semen pada objek glass kemudian ditutup dengan cover glass lalu diamati dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 4×10 .

$$\text{Motilitas (\%)} = \frac{\sum \text{spermatozoa motil progresif}}{\sum \text{spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

2. Viabilitas (persentase hidup) spermatozoa dilakukan dengan cara metode pewarnaan diferensial, yaitu menghitung spermatozoa yang hidup (spermatozoa yang tidak berwarna) dan menghitung spermatozoa yang mati (spermatozoa yang berwarna merah).

$$\text{Persentase spermatozoa hidup} = \frac{\sum \text{spermatozoa motil progresif}}{\sum \text{spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Analisa Data

Analisis ragam tersebut didasarkan pada model matematika rancangan yang digunakan, sebagai berikut :

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \delta_{ijk} + W_l + \gamma_{kl} + AW_{il} + BW_{jl} + ABW_{ijl}$$

Keterangan :

- y_{ijkl} = respon dari faktor A ke-I, faktor B ke-j, ulangan ke-k, serta waktu ke-l
 μ = rata-rata umum
 A_i = pengaruh faktor A ke-I (dosis ekstrak buah mengkudu)
 B_j = pengaruh faktor B ke-j (waktu ekuilibrisasi)
 AB_{ij} = pengaruh interaksi faktor A ke-I dan faktor B ke-j
 δ_{ijk} = pengaruh acak dari perlakuan
 W_l = pengaruh waktu ke-l
 γ_{kl} = pengaruh acak dari waktu
 AW_{il} = pengaruh interaksi faktor A ke-i dan waktu ke-l
 BW_{jl} = pengaruh interaksi faktor B ke-j dan waktu ke-l
 ABW_{ijl} = pengaruh interaksi faktor A ke-I, faktor B ke-j, serta waktu ke-l
 ε_{ijkl} = pengaruh acak dari interaksi waktu dengan perlakuan