

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BUNGA KASUMBA
TURATE (*Carthamus Tinctorius Linn*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DALAM PENGECER TRIS KUNING
TELUR (TKT) TERHADAP VIABILITAS DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI**

SKRIPSI

**RESKI ARMENIA
I011 20 1128**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BUNGA KASUMBA
TURATE (*Carthamus Tinctorius Linn*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DALAM PENGECER TRIS KUNING
TELUR (TKT) TERHADAP VIABILITAS DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI**

SKRIPSI

**RESKI ARMENIA
I011 20 1128**

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

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Reski Armenia

NIM : I011 20 1128

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **Pengaruh Penambahan Ekstrak Bunga Kasumba Turate (Carthamus Tinctorius Linn) Sebagai Antioksidan dalam Pengencer Tris Kuning Telur (TKT) Terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali** adalah asli.

Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak asli atau plagiasi maka saya bersedia dikenakan sanksi akademik sesuai peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, Agustus 2024

Peneliti



HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Pengaruh penambahan ekstrak bunga kasumba turate (*Carthamus Tinctorius Linn*) sebagai antioksidan dalam pengencer Tris Kuning Telur (TKT) terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

Nama : Reski Armenia

Nim : I011201128

Skripsi Telah Diperiksa dan Disetujui oleh:



Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Toleng, M.Sc.
Pembimbing Utama



Masuri, S.Pt., M.Si
Pembimbing Anggota



Dr. Agr. Ir. Renny Fatmyah Utamy, S.Pt., M.Agr., IPM
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus: 19 Agustus 2024

RINGKASAN

Reski Armenia I011201128. Pengaruh penambahan ekstrak bunga kasumba turate (*Carthamus Tinctorius Linn*) sebagai antioksidan dalam pengencer Tris Kuning Telur (TKT) terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali. Pembimbing Utama: **Abd. Latief Toleng** dan Pembimbing Anggota: **Masturi**

Bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius L.*) atau disebut juga dengan nama *Safflower*. Kandungan flavonoid bunga kasumba turate merupakan senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kasumba Turate sebagai bahan antioksidan yang berperan terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali. Penelitian ini akan dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan sampel semen segar sapi Bali. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Repeated Measure* Anova dengan 5 ulangan (frekuensi penampungan semen) dan 5 perlakuan, terdiri atas: PA = Andromed, P0 = TKT tanpa penambahan ekstrak kasumba turate, P1 = TKT + Pemberian ekstrak kasumba turate 0,5%, P2 = TKT + Pemberian ekstrak kasumba turate 1% dan P3 = TKT + Pemberian ekstrak kasumba turate 1,5% . Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa presentase viabilitas tertinggi terdapat pada PA dan P3 sedangkan presentase abnormalitas terendah dengan lama simpan hari keempat terdapat pada PA dan P0. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasumba turate dalam pengencer tris kuning telur tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali. Sedangkan lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

Kata kunci: Bunga Kasumba Turate, Viabilitas, Abnormalitas, Sapi Bali, Antioksidan

SUMMARY

Reski Armenia I011201128. Effect of the addition of kasumba turate flower extract (*Carthamus tinctorius* Linn) as an antioxidant in the diluent of Tris Egg Yolk (TKT) on the viability and abnormality of spermatozoa of Balinese cattle. Main Supervisor: **Abd. Latief Toleng** Co- Supervisor: **Masturi**.

Kasumba turate flower (*Carthamus tinctorius* L.) or also known as Safflower. The flavonoid content of kasumba turate flowers is a secondary metabolite compound that is efficacious as an antioxidant. Antioxidants are compounds that can protect cells from damage caused by free radicals. The purpose of this study is to determine the effect of giving Turate kasumba flower extract as an antioxidant that plays a role in the viability and abnormality of Balinese cattle spermatozoa. This research will be carried out experimentally using fresh semen samples of Balinese cattle. The design used in this study was Repeated Measure Anova with 5 replicates (semen storage frequency) and 5 treatments, consisting of: PA = Andromed, P0 = TKT without the addition of kasumba turate extract, P1 = TKT + Kasumba turate extract 0.5%, P2 = TKT + Kasumba turate extract 1% and P3 = TKT + Kasumba turate extract 1.5%. Based on the results of the study, it was obtained that the highest percentage of viability was found in PA and P3 while the lowest percentage of abnormality with a shelf life of the fourth day was found in PA and P0. Based on the study, it can be concluded that the administration of kasumba turate extract in egg yolk thinner has no real effect on the viability and abnormality of spermatozoa of Balinese cattle. Meanwhile, the storage time has a real effect on the viability and abnormality of Balinese cattle spermatozoa.

Keywords: Turate Kasumba Flower, Viability, Abnormality, Balinese Cow, Antioxidant

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

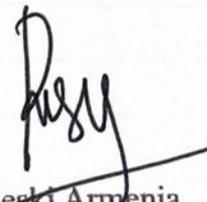
Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga Penulis dapat menyelesaikan makalah usulan penelitian ini dengan segala keterbatasan. Berbagai kesulitan yang dihadapi Penulis dalam penyusunan makalah ini, namun berkat dukungan dan doa dari berbagai pihak sehingga kesulitan yang dihadapi Penulis dapat dilewati dengan mudah. Terima kasih terucap bagi segenap pihak yang telah meluangkan waktu, pemikiran dan tenaganya sehingga penyusunan makalah usulan penelitian ini selesai. Oleh sebab itu, Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. **M.Syafruddin S.Pi dan Ir.Hj.Fadriani M.Si** sebagai orang tua penulis dan **Rifdah Amelia** sebagai saudari penulis yang selalu mendukung untuk terus melanjutkan kuliahnya dan belajar dengan benar untuk mencapai masa depan yang indah.
2. Bapak **Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Toleng, M.Sc.** selaku pembimbing utama dan **Ibu Masturi M, S.Pt.,M.Si.** selaku pembimbing anggota, yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun makalah ini.
3. Bapak **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU.** dan Bapak **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si.** selaku dosen pembahas yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk memberikan masukan dalam makalah ini.

4. **Team KT Kak A.Nirmala, Kak Rajamuddin, Muh. Yassir Anas, dan A. Raihana Jedi** yang telah banyak membantu dan membimbing penulis dan tidak bosan-bosan membantu sehingga dapat menyelesaikan makalah ini.
5. Teman seperjuangan **Miftahul Jannah** terima kasih telah banyak membantu dan membimbing penulis sehingga dapat menyelesaikan makalah ini.
6. Teman seperjuangan **Crown20** terima kasih atas segala bantuannya dalam penyelesaian makalah ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan makalah usulan penelitian ini tidak lepas dari kekurangan dan kesempurnaan, untuk itu Penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut. Semoga makalah ini bermanfaat bagi pembaca.

Makassar, 20 Agustus 2024



Reski Armenia

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pengenceran Semen (Tris Kuning Telur).....	4
2.2 Efek Reactive Oxygen Species (ROS) terhadap Spermatozoa	5
2.3 Kasumba Turate Sebagai Anti Oksidan	7
2.5 Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali	8
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	10
3.2 Rancangan Penelitian	10
3.3 Materi Penelitian	11
3.4 Metode Pelaksanaan.....	11
3.6 Parameter yang Diamati	14
BAB IV	19
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Kualitas Semen Segar Sapi Bali.....	19
4.2 Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali.....	23
4.3 Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali	26
BAB V	29
KESIMPULAN DAN SARAN.....	29
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran.....	29
LAMPIRAN	
BODATA PENELITI	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bunga Kasumba Turate.....	8
Gambar 2. Diagramalir pembuatan Ekstrak Bunga Kasumba Turate.....	14
Gambar 3. Diagram Alir penggunaan Ekstrak Kasumba + TKT.....	16
Gambar 4. Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali.....	23
Gambar 5 Grafik Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali.....	24
Gambar 6. Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali.....	26
Gambar 7. Grafik Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali.....	27

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi Bali merupakan sapi potong lokal hasil domestika banteng (Bibos banteng), sapi Bali memiliki ciri genetik khas dan keunggulan yang tidak kalah jika dibandingkan dengan bangsa sapi lainnya. Dalam memenuhi kebutuhan daging sapi di Indonesia diperlukan pengembangan ternak sapi khususnya sapi potong lokal (Muzakkir dkk., 2017). Perkembangan teknologi reproduksi pada ternak saat ini telah berkembang. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas sapi potong dan mutu genetik ternak dengan menerapkan Inseminasi Buatan (IB) (Sabran, 2015). Teknologi IB adalah cara untuk meningkatkan efisiensi reproduksi dan produksi, IB telah terbukti menjadi teknologi reproduksi yang sangat efektif dan selektif dalam meningkatkan keuntungan genetik (Heise, 2012). IB dikatakan berhasil bila ternak induk yang diinseminasi menjadi bunting.

IB mempunyai peran yang sangat strategis dalam usaha meningkatkan kualitas dan kuantitas bibit. Melalui teknologi IB diharapkan secara ekonomi dapat memberikan nilai tambah dalam pengembangan usaha peternakan (Merthajiwa, 2011). Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan inseminasi buatan adalah kualitas semen baku yang akan digunakan. Biasanya semen segar yang telah di tampung akan diperiksa terlebih dahulu untuk mengetahui semen yang mempunyai kualitas bagus, selanjutnya akan diencerkan menggunakan pengencer tertentu. Untuk mempertahankan kualitas semen selama

penyimpanan maka diperlukan penggunaan pengenceran yang tepat (Saldi dkk., 2023).

Pengenceran semen merupakan suatu upaya untuk menambah volume semen, sehingga dalam satu ejakulat memungkinkan untuk melakukan IB dalam jumlah yang lebih banyak. Kualitas semen dapat mengalami penurunan oleh cekaman dingin, karena penanganan di luar tubuh atau pada saat mengevaluasinya sebagai akibat perubahan suhu. Salah satu pengencer yang banyak digunakan adalah larutan Tris yang ditambahkan bahan lain yaitu kuning telur. Tris merupakan salah satu bahan pengencer yang umum digunakan karena memiliki toksisitas yang rendah dan merupakan penyanggah paling baik sehingga dapat mempertahankan pH semen (Purwasih, dkk., 2013). Kematian spermatozoa yang tinggi mengakibatkan rendahnya presentasi viabilitas dan tingginya tingkat abnormalitas pada spermatozoa, lalu pada proses pengolahan semen disebabkan oleh rusaknya membran plasma spermatozoa akibat peroksida lipid.

Reaksi peroksida lipid yang dapat merusak spermatozoa dalam proses pengolahan semen terjadi karena kontak antara semen dan oksigen (O_2). Proses tersebut dapat menghasilkan radikal bebas (Herdis, 2010). Salah satu senyawa yang dapat menstabilkan radikal bebas yaitu antioksidan dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan terjadinya kerusakan sel. Antioksidan alami dapat ditemukan pada sayur-sayuran yang mengandung fitokimia, seperti flavonoid, isoflavin, flavon, vitamin C dan antosianin (Yuliyantika dkk., 2019).

Salah satu antioksidan yang dapat digunakan adalah bunga Kasumba turate (*Carthamus tinctorius Linn.*). Kasumba turate mengandung senyawa fenolik flavonoid dan karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker (Rukmana, 2014). Tanaman ini juga mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, tannin dan antrakuinon (Hamsidi et al., 2018). Flavonoid keluar lebih banyak ketika diseduh, kandungan antioksidan yang paling banyak dalam bunga kasumba turate adalah kandungan flavonoidnya. Hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian terkait pengaruh penambahan ekstrak bunga kasumba turate sebagai antioksidan dalam pengencer Tris Kuning Telur (TKT) terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kasumba Turate sebagai bahan antioksidan yang berperan terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

Kegunaan penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber informasi ilmiah bagi calon peneliti untuk mendapatkan pengaruh dan konsentrasi pemberian ekstrak bunga kasumba turate dengan pengencer Tris Kuning Telur (TKT) pada parameter viabilitas dan abnormalitas pada spermatozoa sapi Bali, sehingga mampu mendukung teknologi IB.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengenceran Semen (Tris Kuning Telur)

Tris Aminomethane kuning telur merupakan pengencer yang dapat digunakan dalam mempertahankan kualitas semen selama proses preservasi. Munawaroh dkk., (2015) menyatakan bahwa pengencer Tris Aminomethane kuning telur mengandung asam sitrat yang berfungsi sebagai buffer, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Penambahan kuning telur dalam pengencer Tris Aminomethane berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa serta sebagai pelindung spermatozoa dari cold sock selama preservasi. Pengencer yang digunakan dalam pengenceran semen harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun bagi spermatozoa, menjadi penyangga bagi spermatozoa, dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (cold shock) baik untuk semen beku maupun semen yang tidak dibekukan (semen cair) (Kusumawati dan Henny, 2011).

Penggunaan kuning telur dari berbagai macam jenis unggas dapat digunakan dalam pengencer, namun pada kandungan masing-masing jenis kuning telur yaitu ayam ras, ayam kampung dan itik memiliki perbedaan. Kuning telur umumnya ditambahkan ke dalam pengencer semen sebagai sumber energi, agen protektif dan dapat memberikan efek sebagai penyangga terhadap sperma. Kuning telur mempunyai komponen berupa lipoprotein dan lesitin yang dapat mempertahankan dan melindungi spermatozoa dari cekaman dingin. Kuning telur

juga mengandung glukosa, vitamin yang larut dalam air dan larut dalam lemak sehingga menguntungkan spermatozoa. fungsi kuning telur ayam terletak pada kandungan lipoprotein dan lecithinnya yang dapat bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel sperma terutama selama proses pembekuan dan pencairan kembali. Lipoprotein akan melindungi sperma dari luar sel yaitu dengan jalan meletakkan diri pada membrane plasma sperma sehingga sperma terbungkus oleh lipoprotein. lipoprotein adalah komponen utama di dalam kuning telur yang mempunyai daya tarik menarik dengan membrane plasma sperma (Permatasari dkk., 2013).

Pengencer yang umum digunakan yaitu tris kuning telur kuning telur karena telah memenuhi syarat pengenceran. Pengencer kuning telur mengandung lipoprotein dan fosfolipid yang mempertahankan serta mencegah kerusakan membran spermatozoa pada proses pembekuan (Allai dkk., 2015). Bahan pengencer tris kuning telur memiliki kandungan yang sesuai dengan syarat bahan pengencer. Syarat bahan pengencer diantaranya memiliki antibiotik, bahan anti cold shock, bersifat buffer dan mengandung sumber nutrisi. Pengencer tris kuning telur mengandung tris amino methane, asam sitrat, laktosa, raffinosa, kuning telur, antibiotik penicilyn dan streptomycin serta aquades (Hardijanto dkk., 2010).

2.2 Efek Reactive Oxygen Species (ROS) terhadap Spermatozoa

Reactive Oxygen Species (ROS) yang dikenal juga sebagai radikal bebas, adalah molekul yang pada lapisan elektron terluarnya tidak mempunyai elektron berpasangan sehingga akan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau senyawa lain di sekitarnya. ROS bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal misalnya ion superoksida (O_2^-), ion hidroksil (OH^-), dan peroksil (RO_2^-),

dan kelompok non radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) dan *organic peroxides*. Pembentukan ROS dalam spermatozoa dapat terjadi melalui dua metode, yaitu sistem oksidasi nikotinamida adenin dinukleotida fosfat pada tingkat membran plasma sperma dan/atau reaksi reduksi nikotinamida adenin dinukleotida pada tingkat mitokondria (Frenky dkk., 2021). Salah satu senyawa yang dapat menstabilkan radikal bebas yaitu antioksidan dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan terjadinya kerusakan sel (Yuliyantika dkk., 2019).

Penurunan kualitas spermatozoa diakibatkan oleh peningkatan kadar *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan penurunan antioksidan pada sperma. Radikal bebas menyebabkan kerusakan pada *deoxyribonucleic acid (DNA)* dan *apoptosis* sel spermatozoa. *Apoptosis* sel spermatozoa memberikan dampak negatif pada kualitas spermatozoa seperti penurunan jumlah spermatozoa, perubahan motilitas spermatozoa, dan perubahan morfologi spermatozoa. Oleh karena itu dibutuhkan sistem pembersih berupa antioksidan yang dapat menetralkan efek dari *ROS* (Putri, 2015).

Kelebihan produksi radikal bebas atau oksigen yang reaktif *Reactive Oxygen Species (ROS)* dapat merusak sperma, dan ROS telah diketahui sebagai salah satu penyebab infertilitas. Diketahui juga bahwa anion superoksida, radikal hidroksil dan hidrogen peroksida merupakan beberapa ROS utama yang terdapat pada plasma semen. Selain merusak struktur spermatozoa, radikal bebas juga dapat menyebabkan menurunnya produksi hormon LH dan FSH yang merangsang

terbentuknya hormon testosteron. Hal ini mengakibatkan jumlah testosteron menurun dan akhirnya spermatogenesis pun ikut terhambat (Sari, 2014).

2.3 Kasumba Turate Sebagai Anti Oksidan



Gambar 1. Bunga Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* Linn).
Sumber : Lee dkk, 2020.

Bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) atau disebut juga dengan nama *Safflower*. Tanaman kasumba turate yang disebut sebagai ralle oleh masyarakat Sulawesi Selatan ditemukan di ladang kering setelah panen padi atau jagung, bunganya dikumpulkan pada pagi hari dan dikeringkan di tempat yang teduh kasumba turate biasanya dimanfaatkan sebagai pewarna dan untuk pengobatan. Lebih dari 100 senyawa telah diisolasi dan diidentifikasi dari tanaman kasumba turate. Tanaman kasumba turate memiliki sebanyak 21 jenis senyawa aktif dan 113 protein utama yang disaring sebagai zat aktif dalam pengobatan (Yu dkk., 2019).

Kasumba turate mengandung senyawa terpenoid dan dapat digunakan sebagai obat cacar air bagi suku Bugis Makassar (Imran. 2014). Tanaman ini juga mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, tannin dan antrakuinon (Hamsidi dkk., 2018), serta quinokalkon, glikosida, hidroksi safflower yellow A,N-(P Kumaroil) dan serotonin yang memiliki aktivitas antioksidan (Zhang dkk.,

2016). Senyawa antioksidan berperan penting dalam menangkal radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas yang baru melalui reaksi berantai yang akhirnya jumlahnya terus bertambah (Khlifi dkk., 2005).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Antioksidan akan berinteraksi radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan yang di akibatkan oleh radikal bebas. Antioksidan alami berupa senyawa flavonoid yang merupakan kelompok senyawa polifenol yang berasal dari tanaman seperti teh, buah -buahan dan sayuran. Senyawa flavonoid dapat bekerja langsung untuk meredam radikal bebas oksigen seperti superoksida yang dihasilkan dari reaksi enzim xantin oksidase (Jannah dkk., 2022).

2.5 Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen karena berhubungan dengan daya hidup spermatozoa (Setiadi dkk., 2000). Perhitungan spermatozoa yang hidup dan yang mati dengan menggunakan zat warna tertentu. Spermatozoa yang mati, permeabilitas membrannya meningkat atau menyerap warna, sedangkan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna. Sel spermatozoa yang tidak menyerap warna akan berwarna jernih sedangkan sel spermatozoa yang menyerap warna akan berwarna seperti diserap (Tambing et al., 2001). Eosin dapat dibuat dari serbuk eosin yang dilarutkan dalam aquadest dengan konsentrasi 1: 9, kemudian sperma ditetesi dengan larutan eosin dan diratakan, kemudian di angin-anginkan atau di fiksasi dengan menggunakan spiritus, setelah itu dilihat di bawah mikroskop (Mulyono, 1998).

Abnormalitas spermatozoa adalah tingkat kelainan atau kerusakan fisik spermatozoa yang terjadi pada saat pembentukan spermatozoa di dalam tubuli seminiferi maupun karena proses transportasi spermatozoa melalui saluran-saluran organ kelamin ternak jantan. Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena apabila persentase abnormalitasnya di atas 20% maka tingkat fertilitasnya rendah sehingga berpengaruh pada tidak terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi (Bretzlaff, 1995).

Abnormalitas pada spermatozoa dapat dibagi menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer merupakan ketidaknormalan morfologi spermatozoa yang terjadi ketika spermatozoa masih di dalam tubuli seminiferi (spermatogenesis). Kelompok abnormalitas ini lebih berbahaya karena sebagian bersifat genetik sebagai contoh *knobbed acrosome defect* yang dapat menurunkan fertilitas sehingga memengaruhi keberhasilan inseminasi buatan. Semen dengan persentase abnormalitas cukup tinggi cenderung memiliki fertilitas yang rendah. Abnormalitas sekunder merupakan morfologi spermatozoa tidak normal yang terjadi selama spermatozoa melewati saluran reproduksi (Ariantie dkk., 2014).