

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DALAM PENGENCER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI *POLLED*



MUHAMMAD RUM AKBAR
I011 20 1116



PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024

Optimized using
trial version
www.balesio.com

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DALAM PENGENCER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI *POLLED*

**MUHAMMAD RUM AKBAR
I011 20 1116**



**PROGAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

**THE EFFECT OF SUPPLEMENTATION OF KATUK LEAF EXTRACT
(*Sauropus androgynus*) IN ANDROMED DILUENT ON THE QUALITY OF
FROZEN SEMEN OF *POLLED* BALI BULLS.**

**MUHAMMAD RUM AKBAR
I011 20 1116**



**STUDY PROGRAM ANIMAL SCIENCE
FACULTY OF ANIMAL SCIENCE
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR, INDONESIA
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DALAM PENGENCER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI *POLLED*

MUHAMMAD RUM AKBAR
I011 20 1116

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Peternakan

pada



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
DEPARTEMEN PRODUKSI TERNAK
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) DALAM PENGECER ANDROMED TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI POLLED

MUHAMMAD RUM AKBAR
I011 20 1116

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 06 November 2024
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
Pada

Program Studi Peternakan
Departemen Produksi Ternak
Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan :

Pembimbing Utama Tugas Akhir

Pembimbing Pendamping Tugas Akhir



L. M. Si
2 200501 1 001

Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES
NIP. 19570129 198003 1 001



Mengetahui
Ketua Program Studi,

Dr. Agr. I. Renny Fatmyah Utamy, S.Pt., M. Agr., IPM
NIP. 19720120 199803 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "**Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Dalam Pengencer AndroMed Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali *Polled***" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Hasbi, S.Pt., M. Si sebagai Pembimbing Utama dan Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 13 Oktober 2024



Muhammad Rum Akbar
NIM I011 20 1116



UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kehadiran Allah *Subhanahu Wata'ala* yang telah melimpahkan seluruh rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan makalah Usulan Penelitian dengan tepat waktu. berjudul "**Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus*) Dalam Pengencer AndroMed Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi *Polled***". Shalawat serta salam juga tak lupa kami junjungkan kepada Nabi Muhammad *Shallallahu Alaihi Wasallam* sebagai suri tauladan bagi umatnya. Semoga makalah tertulis ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi penulis pada khususnya.

Terimakasih terucap bagi segenap pihak yang telah meluangkan waktu, pemikiran dan tenaganya sehingga penyusunan Makalah Usulan Penelitian ini selesai. Oleh sebab itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada : Ibu **Nirmala** sebagai orang tua penulis yang selalu mendukung anaknya untuk terus melanjutkan kuliahnya dan belajar dengan benar agar mencapai masa depan yang ingin dicapai. Bapak **(Alm.) Mustakim Mattau** sebagai orang tua penulis yang telah memberikan motivasi selama hidup dan telah menjadi panutan hidup bagi penulis. Bapak **Dr. Ir. Hasbi, S.Pt., M.Si** selaku pembimbing utama dan **Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA., DES** selaku pembimbing pendamping penulisan skripsi ini yang telah meluangkan banyak waktu, tenaga, pikiran dan perhatiannya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun makalah skripsi ini dari awal hingga selesainya makalah ini, serta turut ikut membantu dalam proses penelitian. Bapak **Ir. Saahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM., ASEAN Eng.** dan ibu **Masturi M., S.Pt., M.Si** selaku dosen pembahas yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk memberikan masukan dalam makalah ini. Ibu **Dr. Sri Gustina, S.Pt., M.Si** yang telah membantu memberi masukan kepada penulis dan meluangkan tenaga dan pikiran, serta turut menemani dalam proses penelitian penulis. Terima kasih kepada kakak-kakak saya **Dhian Ramadhanty, Nurul Rizka dan Ahmad Aditya** atas membantu penulis dalam hal apapun dan telah mensupport penulis. Terima Kasih kepada partner saya **Yulianti** yang telah membantu, menemani, menjadi pengingat dan memberikan support kepada penulis dari awal hingga selesainya skripsi ini.

Terima Kasih kepada **Tim Penelitian Ainun, Ambar, Afiqa, Uswa dan Hafizh** yang telah banyak membantu dalam segala hal, membimbing penulis dan membantu sehingga dapat menyelesaikan makalah ini. Terima teman **Sobat AB5 Winda, Izzah, Fatwa, Zammil, Fikri, Kifli, Yoshi, Sulvi, Zulfa, Lisa** atas segala bantuannya dalam hal ini dan support serta masukan dalam penyelesaian ini. Terima Kasih kepada kak **Husnul Qhatimah** dan kak **Siti** yang telah membantu penulis dalam proses penelitian serta dalam hal ini. Bapak **Abidin dan keluarga** yang telah bersedia



mengizinkan penulis melakukan penelitian di peternakannya. Terima Kasih Kepada ibu **Ir. Sitti Farida, S. Pt, IPM** yang telah membantu dalam proses penelitian. Terima kasih kepada semua pihak atas dukungan, bantuan, serta kerjasamanya hingga terselesaikannya makalah ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Makalah Seminar Hasil Penelitian ini tidak lepas dari kekurangan dan kesempurnaan, untuk itu penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut. Maka dari itu, penulis berharap masukan dari semua pihak dan semoga makalah ini bermanfaat bagi pembaca.

Makassar, 6 November 2024



Muhammad Rum Akbar



ABSTRAK

Muhammad Rum Akbar. **Pengaruh penambahan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer AndroMed terhadap kualitas semen beku sapi bali *polled*.** (Pembimbing Utama: Hasbi dan Herry Sonjaya).

Latar Belakang Faktor penentu keberhasilan Inseminasi Buatan pada sapi yaitu kualitas semen beku. Masalah yang sering terjadi dalam pembekuan semen yaitu penurunan kualitas semen. Daun Katuk mengandung antioksidan yang membantu melindungi dari radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan sel. **Tujuan.** Penelitian ini untuk mengetahui Pengaruh penambahan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer AndroMed terhadap kualitas semen beku sapi Bali *Polled*. **Metode.** Penelitian ini akan dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan sampel semen beku sapi bali *polled*. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dengan 5 ulangan P0 = AndroMed tanpa penambahan ekstrak daun katuk; P1 = AndroMed + pemberian ekstrak daun Katuk 0,05%; P2 = AndroMed + pemberian ekstrak daun katuk 0,1%; P3 = AndroMed + pemberian ekstrak daun katuk 0,15%. Parameter yang diukur dalam penelitian ini, yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas, membran plasma utuh (MPU), tudung akrosom utuh (TAU) dan fragmentasi DNA. **Hasil.** Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan Ekstrak daun katuk berbeda nyata ($P < 0,05$) dalam hal abnormalitas dan fragmentasi DNA, sedangkan motilitas, viabilitas, tudung akrosom utuh dan membran plasma utuh tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). **Kesimpulan.** Penambahan Ekstrak Daun Katuk dalam AndroMed tidak mempengaruhi viabilitas dan tudung akrosom utuh. Namun, dapat mempertahankan motilitas dan membran plasma utuh serta dapat menurunkan Tingkat abnormalitas dan fragmentasi DNA.

Kata Kunci : AndroMed, Ekstrak Daun Katuk, Sapi Bali *Polled*, Semen Beku



ABSTRACT

Muhammad Rum Akbar. **The effect of supplementation of katuk leaf extract (*Sauropus androgynus*) In AndroMed diluent on the quality of frozen semen of *polled* bali bulls.** (Supervised by Hasbi dan Herry Sonjaya).

Background. The determining factor for the success of Artificial Insemination in cattle is the quality of frozen semen. A common problem in freezing semen is a decreasing in semen quality. Katuk leaves contain antioxidants that can help to against free radicals that cause lipid peroxidation and cell damage. One source of natural antioxidants that can be used is katuk leaf extract. **Objective.** This study was to determine the effect of supplementation of katuk leaf extract (*Sauropus androgynus*) in AndroMed diluent on the quality of frozen semen of *polled* bali bulls. **Method.** This study was conducted experimentally using frozen semen samples of Bali *Polled* Cattle. The design used in this study was a completely randomized design (CRD) with 4 treatments P0 = AndroMed without the addition of katuk leaf extract; P1 = AndroMed + administration of 0.05% katuk leaf extract; P2 = AndroMed + administration of 0.1% katuk leaf extract; P3 = AndroMed + administration of 0.15% katuk leaf extract including 5 replications. The parameters measured in this study were motility, viability, abnormality, Membrane Integrity, Acrosomal integrity and DNA integrity. **Results.** The results of this study indicated that the addition of katuk leaf extract was significantly different ($P < 0.05$) in terms of DNA abnormality and fragmentation, while motility, viability, Acrosomal integrity and Membrane Integrity were not significantly different ($P > 0.05$). **Conclusion.** The addition of Katuk Leaf Extract in AndroMed does not affect viability and Acrosomal integrity. However, it can maintain motility and Membrane Integrity and can reduce the level of abnormality and DNA fragmentation.

Keywords: AndroMed, Katuk Leaf Extract, Bali *Polled* Cattle, Frozen Semen



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not de
UCAPAN TERIMA KASIH	
ABSTRAK	
ABSTRACT	
DAFTAR ISI	
DAFTAR TABEL	
DAFTAR GAMBAR	
DAFTAR LAMPIRAN	
BAB I.....	
PENDAHULUAN.....	
1.1 Latar Belakang	
1.2 Teori.....	
1.3 Rumusan Masalah	
1.4 Tujuan dan Kegunaan	
BAB II.....	
METODE PENELITIAN.....	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	
3.2 Materi Penelitian.....	
3.3 Rancangan Penelitian	
3.4 Prosedur Penelitian	
3.5 Penampungan Semen.....	
3.6 Alur Penelitian	
3.7 Parameter yang Diamati.....	
3.8 Analisis Data.....	
BAB III.....	
HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil	
4.2 Pembahasan	
BAB V	
KESIMPULAN DAN SARAN.....	
5.1 Kesimpulan.....	
5.2 Saran.....	
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1. Evaluasi Semen Sapi Bali <i>Polled</i>	15
2. Kualitas Semen Beku Sapi Bali <i>Polled</i>	16



DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Sapi Bali <i>Polled</i>	2
2. Daun Katuk.....	4
2. Diagram Alir Penelitian.....	11
3. Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali <i>Polled</i>	16
4. Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali <i>Polled</i>	17
5. Pengamatan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali <i>Polled</i>	18
6. Pengamatan Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali <i>Polled</i>	18
7. Pengamatan Fragmentasi DNA Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali <i>Polled</i>	19



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Hasil Uji Statistik <i>one-way</i> ANOVA	32
2. Post Hoc Test (Duncan)	32
3. Dokumentasi Penelitian	34



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu jenis sapi Bali yang tidak bertanduk atau dikenal dengan sapi Bali *Polled* merupakan sapi Bali yang tanduknya tidak bertumbuh secara alami terjadi pada sapi bali jantan dan betina. Terdapat beberapa keuntungan pada sapi Bali *Polled*, seperti mengurangi resiko terluka yang sering terjadi pada peternak yang disebabkan oleh tanduk, dapat mencegah memar pada karkas dan kerusakan pada kulit (Baco et al., 2022). Sapi Bali *Polled* memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai pejantan untuk digunakan dalam teknologi inseminasi buatan karena mempunyai potensi genetik dan nilai ekonomis yang cukup baik untuk dikembangkan sebagai ternak potong (Hoesni, 2014).

Salah satu cara untuk mempercepat peningkatan populasi sapi pedaging dengan mengoptimalkan teknologi inseminasi buatan. Inseminasi buatan (IB) merupakan suatu rangkaian proses terencana dan terprogram karena menyangkut kualitas genetik ternak di masa yang akan datang. Salah satu penunjang keberhasilan IB yaitu kualitas semen, agar semen tetap memiliki kualitas yang baik maka diperlukan bahan pengencer dapat menyediakan sumber energi bagi semen. Syarat penting bahan pengencer adalah mampu menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi (Fania et al., 2020). Pengencer yang baik akan mampu mempertahankan fertilitas spermatozoa, tidak mengandung zat-zat yang bersifat racun dan mampu menyediakan nutrisi sebagai sumber energi yang cukup untuk mempertahankan hidup sperma dari proses pembekuan sampai sperma tersebut siap digunakan untuk keperluan IB (Suharyati dan Hartono, 2011). Salah satu pengencer komersil yang dapat digunakan adalah AndroMed. AndroMed merupakan salah satu pengencer komersial yang paling sering digunakan untuk pengencer semen beku sapi. (Mukminat dan Suharyati, 2014).

Kualitas semen merupakan salah satu evaluasi penting untuk mengoptimalkan teknologi Inseminasi Buatan. Menurut hasil penelitian Hasbi et al. (2023) hasil evaluasi kualitas semen beku sapi Bali *Polled* lebih baik dibandingkan dengan sapi Bali bertanduk dalam hal Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas, Tudung Akrosom Utuh, Membran Plasma Utuh dan Fragmentasi DNA yang diencerkan dengan menggunakan AndroMed. Namun, menurut Saputra et al. (2015) menyatakan bahwa spermatozoa yang diencerkan dengan AndroMed, radikal (*Reactive Oxygen Species*) masih berkembang, hal ini dapatnya antioksidan dalam pengencer AndroMed. Oleh karena itu penambahan bahan alami untuk mempertahankan kualitas semen mengandung antioksidan. Salah satu sumber antioksidan alami yang dapat digunakan adalah ekstrak daun katuk. Daun katuk memiliki kemampuan (Agestin, 2017).



Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penambahan bahan alami dalam pengencer untuk mempertahankan kualitas semen beku dan mengandung antioksidan. Salah satu sumber antioksidan alami yang dapat digunakan adalah ekstrak daun katuk. Dan juga karena belum ditemukannya data mengenai pengaruh penambahan bahan alami yaitu daun katuk sebagai Antioksidan didalam AndroMed terhadap kualitas semen sapi Bali *Polled*.

1.2 Teori

1.2.1 Sapi Bali *Polled*

Sapi Bali sebagai salah satu sapi asli Indonesia pada dasarnya memiliki tanduk, baik jantan maupun betina. Namun, dalam perkembangannya, telah ditemukan sapi Bali tanpa tanduk dan dikenal dengan istilah *Polled* atau sapi Bali yang secara alami tanduknya tidak bertumbuh (Hasbi et al., 2023). Sapi Bali *Polled* pertama kali ditemukan pada awal tahun 1990 di sidenreng-rappang (Sidrap), Sulawesi Selatan, yang merupakan hasil persilangan sapi Bali dan sapi Brahman Cross (Baco et al., 2020).



Gambar 1. Sapi Bali *Polled* (Sumber : Koleksi Pribadi)

Ciri-ciri dari sapi Bali *Polled* dapat dilihat pada gambar 1. Memiliki ciri seperti sapi Bali pada umumnya yang membedakan hanya pada bagian tanduk pada sapi bali *Polled* tidak memiliki tanduk. Keberadaan atau ketiadaan tanduk ini merupakan karakteristik penting yang dapat mempengaruhi berbagai aspek produksi ternak, seperti kemudahan dalam pemeliharaan yang berdampak pada yang dihasilkan. Selain itu, sapi Bali *Polled* juga dapat ka pada peternak yang disebabkan oleh tanduk, mencegah daging, serta mengurangi kerusakan pada kulit sapi (Hasbi et



sapi Bali *Polled* memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan tanduk, hal ini sesuai dengan Hasbi et al. (2023) menyatakan

bahwa persentase motilitas, viabilitas, tudung akrosom utuh dan membran plasma utuh spermatozoa sapi Bali *Polled* dan bertanduk setelah pengenceran tidak berbeda nyata. Namun, dalam hal abnormalitas dan juga fragmentasi DNA persentase Hal ini menunjukkan masih memenuhi standar dan layak untuk diproses lebih lanjut. Berdasarkan hasil penelitian Hasbi et al (2023) menyebutkan Evaluasi semen beku sapi Bali *Polled* menunjukkan bahwa sapi Bali *Polled* memiliki motilitas ($52.79 \pm 6.53\%$), viabilitas ($56.05 \pm 4.58\%$), Abnormalitas ($8.85 \pm 2.87\%$), Membran Plasma Utuh ($54.79 \pm 3.73\%$), Tudung Akrosom Utuh ($92,98 \pm 5.18\%$) dan Fragmentasi DNA ($99,35 \pm 0,51\%$).

1.2.2 Semen Beku

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan dan selanjutnya dibekukan jauh di bawah titik beku air yang bertujuan untuk penghentian sementara kegiatan hidup dari sel tanpa mematikan fungsi sel (Aprilina et al., 2014). Kerugian dari semen beku adalah terdapat 10-20 % sapi jantan menghasilkan semen yang tidak tahan terhadap pembekuan yang menyebabkan kerusakan/kematian spermatozoa atau sering disebut *cold shock*. Selama proses pembekuan terjadi 20 sampai 80% dengan rata-rata 50% spermatozoa akan mati. (Sagita, 2023).

Pembekuan semen yang mengakibatkan terdegradasinya beberapa molekul protein spermatozoa berkorelasi terhadap penurunan kualitas spermatozoa, seperti penurunan motilitas sebesar 40% (Tanaka et al., 2002), peningkatan abnormalitas, penurunan viabilitas sebesar 20-30% (Dhanju et al., 2001) dan penurunan kemampuan kapasitas saat fertilisasi (Nandre et al., 2013).

Kualitas semen beku yang didistribusikan oleh Balai Inseminasi Buatan (BIB) harus sesuai menurut standar SNI 01- 4869.2-1988, yaitu semen beku yang memiliki konsentrasi sperma 25 juta/straw, dengan persentase sel sperma *post thawing motility* (PTM) minimal 40% dan persentase sperma abnormal maksimal 10%. Semen beku yang dihasilkan harus memiliki kualitas yang bagus sehingga dibutuhkan nutrisi tambahan yang dapat ditambahkan ke dalam pengencer semen yang bertujuan untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh radikal bebas yang timbul selama proses pembekuan, penyimpanan dan *thawing* (Sari, 2023).

1.2.3 Pengencer AndroMed

Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk menyediakan sumber energi bagi sperma sehingga menjamin kelangsungan hidup sperma selama vasi) atau pembekuan (kriopreservasi). Syarat penting bahan adalah mampu menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber terjadinya *cold shock* sewaktu preservasi dan kriopreservasi, anan osmotik yang sama dengan sperma (Munazaroh et al., pengencer AndroMed dilakukan dengan pencampuran antara



AndroMed dan aquabidest dengan perbandingan 1 : 4 (20ml : 80ml) (Hardyastuti et al., 2023).

Salah satu pengencer semen komersial yang tidak mengandung kuning telur adalah AndroMed. Menurut hasil penelitian Suharyati dan Hartono (2011) yang menyatakan bahwa Pengencer AndroMed memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas spermatozoa sapi dibanding triskuning telur dan susu skim.

Komposisi AndroMed sendiri terdiri dari *Tris hydroxy-aminomethane* sebagai *buffer*, gula sebagai sumber energi, gliserol sebagai krioprotektan dan AndroMed sebagai pengencer, mengandung lesitin. AndroMed juga mengandung protein, karbohidrat, mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, fosfor, dan mangan), asam sitrat, gliserol, lemak, lesitin, dan *glyceryl phosphoryl choline* (GPC) (Susilawati, 2011).

1.2.4 Daun Katuk (*Sauropus androgynus*)

Daun katuk mengandung antioksidan yaitu senyawa golongan flavonoid (Zuhra, 2008). Berdasarkan analisis fitokimia Menurut Ningrum et al (2022) Kandungan flavonoid di dalam daun katuk memiliki fungsi sebagai antioksidan alami. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan, yaitu dapat merubah atau mereduksi radikal bebas sehingga dapat disebut sebagai anti radikal bebas. Kandungan nutrisi per 100 gram katuk mengandung kalori 59 kal., protein 4.8 g, lemak 1 g, karbohidrat 11 g, kalsium 204 mg, fosfor 83 mg, besi 2.7 mg, vitamin A 10370 SI, vitamin B1 0.1 mg, vitamin C 239 mg, air 81 g (Wiradimadja et al., 2010). Menurut Agestin (2017) bahwa fitokimia dari Daun Katuk mengandung senyawa flavonoid dan Vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan.



Gambar 2. Daun Katuk (Koleksi Pribadi)



ntai pada radikal bebas dapat diputus oleh antioksidan. berantai ini dapat terjadi, hal ini dikarenakan antioksidan elektron bebasnya ke dalam ikatan radikal bebas. Sehingga radikal bebas dapat berubah. Radikal bebas akan mengakibatkan

terjadinya proses peroksidasi lipid (Saputra et al., 2015). Salah satu tumbuhan yang mengandung antioksidan adalah daun katuk. Menurut Feradis (2009) Antioksidan merupakan senyawa yang bersifat *nucleophilic*, dimana mereka memadamkan atau menekan reaksi, radikal bebas dan mereka mampu untuk mengakhiri siklus reaksi.

Daun katuk memiliki kandungan Flavonoid dan Vitamin C sebagai antioksidan sehingga berpotensi digunakan dalam pengenceran semen. Menurut (Agestin, 2017) dalam penelitiannya menggunakan filtrat daun katuk dalam pengencer susu skim kuning telur mendapatkan hasil bahwa penambahan filtrat daun katuk kedalam pengencer susu skim kuning telur dapat mempertahankan motilitas spermatozoa. Sedangkan Menurut Mustikasari et al. (2013) dalam penelitiannya menggunakan filtrat daun katuk yang di berikan ke mencit jantan, mendapatkan hasil bahwa pemberian filtrat daun katuk dapat meningkatkan konsentrasi dan motilitas spermatozoa serta menurunkan kadar MDA dalam darah mencit jantan (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok. Namun, Penggunaan Ekstrak daun katuk sebagai pengencer semen belum pernah ada penelitian sebelumnya.

1.2.5 Kualitas Semen

Kualitas semen sangat diperlukan untuk mengetahui kualitas spermatozoa yang dihasilkan oleh setiap individu ternak. Semen segar yang telah memenuhi persyaratan dapat diencerkan dan diproses menjadi semen beku yang layak untuk diinseminasikan. Kualitas semen segar dan beku terbagi atas aspek makroskopis dan mikroskopis. Aspek makroskopis meliputi volume semen, warna semen, pH semen, dan konsistensi semen, sedangkan aspek mikroskopis yaitu gerakan massa spermatozoa, motilitas spermatozoa, dan konsentrasi spermatozoa (Arifiantini et al., 2020).

Kualitas semen segar dan beku secara mikroskopis meliputi Motilitas, Abnormalitas, Viabilitas, Membran Plasma Utuh (MPU), Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Fragmentasi DNA.

1. Motilitas (Daya Gerak)

Motilitas merupakan salah satu kriteria penentu kualitas semen yang dilihat dari banyaknya spermatozoa yang motil progresif dibandingkan dengan seluruh spermatozoa yang ada dalam satu pandang mikroskop. (Kusumawati et al., 2016).



sional Indonesia (2017) syarat motilitas semen segar untuk dan untuk pejantan tertentu dapat digunakan nilai *recovery* n 50 % dan untuk Semen beku sesudah dicairkan kembali jm 40%.

dup)

Viabilitas spermatozoa merupakan salah satu faktor yang penting dalam kualitas semen. Viabilitas merupakan presentase hidup sel spermatozoa yang ditandai dengan sedikit sekali bahkan tidak menyerap warna Eosin 2% sedangkan sel sperma yang sudah mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding meningkat sewaktu mati (Malinda et al., 2021). Menurut Muhammad et al. (2016) menyebutkan bahwa semen segar yang digunakan harus memenuhi persyaratan viabilitas $\geq 70\%$.

3. Abnormalitas

Abnormalitas merupakan keadaan dimana spermatozoa mengalami kecacatan pada salah satu atau seluruh bagian tubuh spermatozoa. Peningkatan abnormalitas spermatozoa setelah proses pendinginan dan pembekuan bisa disebabkan oleh pengaruh fisik spermatozoa yang menyebabkan spermatozoa abnormal. (Munazaroh et al., 2013). 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 (Manehat et al., 2021).

4. Membran Plasma Utuh (MPU)

Membran plasma utuh merupakan hal yang wajib dimiliki spermatozoa yang baik karena berfungsi sebagai perlindungan organel-organel sel yang berhubungan dengan metabolisme sel, organel ini berpengaruh terhadap proses transportasi zat nutrisi yang akan membentuk energi gerak. Membran plasma utuh juga berperan dalam mengatur lalu lintas substrat dan elektrolit ke dalam dan keluar sel sehingga sangat mempengaruhi hidup dan matinya spermatozoa (Jamil, 2022). Salah satu penyebab kerusakan membran saat proses pendinginan adalah ketidakmampuan pengencer dalam menjaga integritas membran karena tidak mengandung antioksidan (Cahya et al., 2017). Menurut Khaeruddin (2023) Semen yang normal memiliki minimal 60% spermatozoa dengan membran plasma utuh spermatozoa.

5. Tudung Akrosom Utuh (TAU)

Tudung akrosom merupakan bagian terpenting dari spermatozoa dan berperan dalam proses pembuahan, pada tudung akrosom terdapat enzim – enzim hialuronidase, akrosin dan enzim lainnya yang akan melisis lapisan pelindung



akrosom yang utuh sangat penting karena di dalamnya terdapat akrosin dan zona lisin) yang dikeluarkan saat reaksi akrosom. Tudung akrosom memiliki fungsi yang cukup penting untuk sperma saat perkawinan (Cahya et al., 2017). Menurut Syafi'i dan kawan-kawan (2017) menyebutkan Persentase minimal tudung akrosom utuh untuk sperma adalah 30%.

6. Fragmentasi DNA

Kerusakan *kromatin deoxyribose nucleic acid* (DNA) spermatozoa merupakan faktor penting penyebab terjadinya infertilitas. Pada area kepala spermatozoa terdapat inti yang mengandung DNA yang merupakan komponen penting dalam proses fertilisasi. Semua informasi genetik yang akan diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya terdapat pada untaian DNA di dalam inti spermatozoa. Pemeriksaan kerusakan DNA spermatozoa merupakan parameter penting dalam diagnosis fertilitas pejalan termasuk spermatozoa yang berasal dari semen beku. kerusakan atau penurunan DNA terjadi apabila telah terjadi kerusakan pada membran plasma dan tudung akrosom yang mempengaruhi integritas DNA spermatozoa. (Ardhani et al., 2020).

1.3 Rumusan Masalah

Ketidakkampuan pengencer AndroMed untuk mencegah kerusakan pada spermatozoa yang disebabkan oleh radikal bebas yang mengakibatkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid. Reaksi peroksidatif lipid yang ada pada *processing* dan penyimpanan semen dapat menurunkan kualitas spermatozoa sehingga dibutuhkan antioksidan, salah satu sumber antioksidan yang dapat digunakan dari bahan alami yakni daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan juga belum ditemukannya data mengenai penambahan ekstrak daun katuk sebagai antioksidan di dalam pengencer AndroMed, sehingga perlunya kajian mengenai pengaruh ekstrak daun katuk pada pengencer AndroMed.

1.4 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui Pengaruh penambahan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer AndroMed terhadap kualitas semen beku sapi Bali *Polled*.

Kegunaan penelitian ini diharapkan mampu menjadi tambahan ilmu pengetahuan dan literatur untuk mengembangkan penelitian ilmu reproduksi selanjutnya serta memberikan informasi ilmiah mengenai Pengaruh penambahan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer AndroMed terhadap kualitas semen beku sapi Bali *Polled*.



BAB II METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus di kelompok Ternak Lempang B mitra *Maiwa Breeding Center* (MBC) di Kecamatan Tanete Riaja, Kabupaten Barru, Provinsi Sulawesi Selatan dan Laboratorium Produksi Embrio in Vitro, Universitas Hasanuddin, Kota Makassar.

3.2 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu semen sapi Bali *Polled* yang di proses menjadi semen beku sebanyak 3 ekor dengan umur 3-5 tahun. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu AndroMed, ekstrak daun katuk, tissue, Semen beku sapi *polled*, *aquabidest*, parafilm, *Vaseline*, pewarna *eosin-negrosin*, larutan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOSTest), pewarna *acridine orange* (AO), NaCl fisiologis 0,9%, larutan carnoy, N₂ Cair, etanol 70% dan alkohol 70%.

Alat yang digunakan antara lain vagina buatan, tabung skala, alat tulis (pulpen, label), tabung reaksi, tabung ukur, gelas ukur, minitube, *rotary evaporator*, *photometer SDM 6*, kuvet, *centrifuge*, dan mikroskop *fluorescence zeiss AX10 Imager A2* yang dilengkapi dengan kamera zeiss AxioCam HRc untuk pengamatan, mikropipet, pinset, cawan petri, pH skala, *objek glass*, ember, mikroskop trinokuler olympus CX33 yang dilengkapi dengan kamera olympus EP50, thermometer, rak tabung reaksi, timbangan analitik, gunting, kertas saring, bunsen, filter, pinset, *waterbath*, kontainer N₂ cair, *aluminium foil*, *cover glass*, *refrigerator*, termos, *hand tally counter*

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan sampel semen beku Sapi Bali *Polled*. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dengan 5 ulangan, terdiri atas:

P0 = AndroMed tanpa penambahan ekstrak daun Katuk
 P1 = pemberian ekstrak daun Katuk 0,05%
 P2 = pemberian ekstrak daun Katuk 0,1%
 P3 = pemberian ekstrak daun Katuk 0,15%



3.4 Prosedur Penelitian

Ekstrak Daun Katuk (EDK)

Menimbang simplisia daun katuk sebanyak 500 gram lalu memasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Simplisia daun katuk (*Souropus androgynus*) dimaserasi dalam etanol 70% selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar. Kemudian larutan etanol yang dihasilkan disaring menggunakan glass wool kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak murni 100% daun katuk (*Sauropus androgynus*) sebanyak 50 ml.

Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan sekali seminggu, di Desa Lempang Kecamatan Tanete Riaja, Kabupaten Barru, Provinsi Sulawesi Selatan sebanyak 3 ekor sapi bali *polled*. Penampungan semen menggunakan vagina buatan yang diisi dengan air panas dengan suhu antar 42-45° C agar kondisi vagina buatan pada saat penampungan menyerupai kondisi vagina sapi yang birahi. Setelah semen tertampung dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

Pembuatan Pengencer Semen

Semen segar yang telah memenuhi syarat pada uji makroskopis dilanjutkan dengan pembuatan pengencer semen. Pemberian pengencer berbeda pada tiap perlakuan yakni (P0) AndroMed tanpa pemberian Ekstrak daun katuk dan pada (P1) AndroMed yang digunakan sebanyak 99,95% dengan penambahan ekstrak daun katuk 0,05%, (P2) AndroMed yang digunakan sebanyak 99,90% dengan penambahan ekstrak daun katuk sebanyak 0,10% dan pada (P3) penggunaan AndroMed sebanyak 99,85% dengan penambahan ekstrak daun katuk sebanyak 0,15%.

Filling and Sealing

Setelah semen diencerkan, dilanjutkan dengan tahap *filling and sealing*. Pembuatan *straw* dilakukan dengan cara filling yaitu semen dimasukan ke dalam *straw* menggunakan spoit kemudian dilakukan *sealing* yaitu ujung straw dijepit menggunakan pinset yang telah dipanaskan di atas bunsen pada suhu ruang. Kemudian, dilakukan ekuilibrasasi.

Equilibrasasi



merupakan proses penurunan suhu sekaligus proses airan semen agar dapat beradaptasi dengan penambahan kuilibrasasi dilakukan pada suhu 5°C selama 3 jam di lemari juan untuk mengurangi kematian spermatozoa yang berlebihan.

Pre freezing dan Freezing.

Straw yang telah melalui masa ekuilibrasi, selanjutnya dilakukan pre freezing yaitu *straw* dimasukkan ke dalam stereoform yang berisi N₂ cair dan diletakkan pada uap N₂ cair dengan jarak 8-10 cm selama 10 menit. Setelah itu, *straw* dimasukkan ke dalam N₂ cair dengan suhu -196°C dan disimpan selama empat hari lalu dilakukan uji mikroskopis.

Thawing

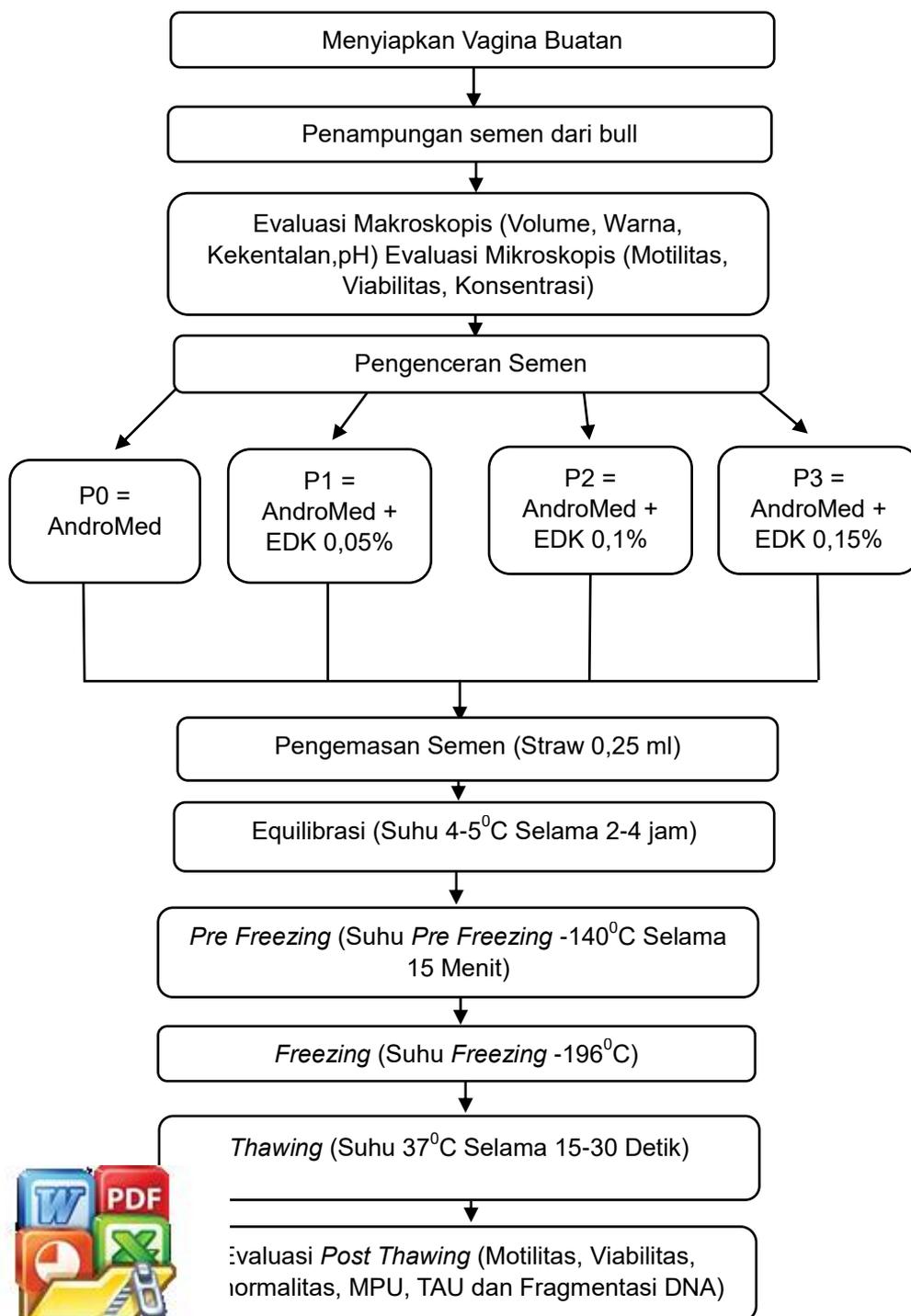
Thawing semen adalah proses pencairan kembali semen beku sebelum digunakan dalam inseminasi buatan (IB). Suhu thawing yang baik adalah 37°C dengan lama *thawing* berkisar dari 15-30 detik.

Post Thawing

Post thawing adalah kondisi semen setelah proses thawing, yaitu pencairan kembali semen yang telah dibekukan. Suhu dan lama thawing dapat memengaruhi kualitas spermatozoa, terutama keutuhannya. Pada *post thawing* ini dilakukan evaluasi mikroskopis semen beku yang terdiri dari motilitas, viabilitas, abnormalitas, MPU, TAU, dan Fragmentasi DNA.



3.6 Alur Penelitian



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian



3.7 Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah kualitas semen beku secara mikroskopis yang terdiri atas:

1. Motilitas

Semen ditetaskan ke atas gelas objek dan ditutup dengan *cover glass*. Motilitas progresif dihitung menggunakan mikroskop trinokuler olympus CX33 dilengkapi dengan kamera olympus EP50 berdasarkan pada analisis gambar spermatozoa yang bergerak maju (progresif) ke depan yang terkoneksi dengan mikroskop pembesaran 100-200 kali. Pengujian dilakukan pada empat lapang pandang secara otomatis (Michos et al., 2013).

2. Abnormalitas

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa menggunakan pewarnaan *eosin nigrosine*. Sampel semen ditetaskan diatas gelas objek, selanjutnya ditambahkan 20 µl larutan *eosin nigrosine*. Campuran dihomogenkan dan dibuat preparat ulas pada gelas objek yang berbeda,. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100-400x, untuk memudahkan perhitungan spermatozoa maka mikroskop dihubungkan dengan monitor. Total spermatozoa yang dihitung sebanyak 200 sel atau 10 lapang pandang dan disajikan dalam bentuk persentase (Handayani et al., 2021). Persentase abnormalitas spermatozoa di peroleh dengan rumus :

$$\text{Abnormalitas spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa abnormal}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3. Viabilitas

Pengukurannya dilakukan dengan membuat preparat ulas memakai pewarnaan *eosin nigrosine*. Satu tetes semen dan satu tetes larutan *eosin-nigrosin* 50µL di atas *object glass* kemudian dihomogenkan dan dibuat preparat ulas. Eosin berwarna merah sebagai pewarna spermatozoa, sedangkan nigrosin berwarna biru sebagai *background*. Hasil di amati di bawah mikroskop dan dihitung dalam bentuk persentase antara spermatozoa yang hidup dan mati (Kusumawati et al., 2020).

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Spermatozoa Hidup}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$



Jtuh (MPU)

n menggunakan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST). dengan menggunakan teknik *Hypoosmotic Swelling Test* arutan hipoosmotik terdiri : 0,9 g fruktosa + 0,49 g natrium

sitrat yang dilarutkan dengan *aquabides* hingga mencapai volume 100 ml. Sebanyak 20 ml larutan hiposmotik ditambahkan dengan 0,2 ml semen dan dicampur hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 45 menit. Preparat ulas tipis dibuat pada gelas objek kemudian dievaluasi berdasarkan pengamatan dengan mikroskop cahaya pembesaran 100-400x terhadap minimum 200 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus. Penilaian MPU dilakukan dalam persentase (Lestari et al., 2023).

$$\text{MPU (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang bereaksi}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

5. Tudung Akrosom Utuh (TAU)

Pemeriksaan keutuhan tudung akrosom dilakukan dengan pembuatan larutan NaCl fisiologis yaitu NaCl 0,9%. Satu ml formalin ditambahkan ke dalam 99 ml larutan NaCl fisiologis dan dikocok sampai homogen. Satu bagian spermatozoa dicampur dengan tiga bagian larutan di atas sampai homogen, didiamkan sekitar 3 menit. Selanjutnya preparat dibuat dengan cara meneteskan satu tetes larutan di atas pada objek gelas dan tutup dengan gelas penutup. Preparat ditekan pelan dengan menggunakan kertas tisu, kelebihan cairan dikeringkan. Seratus spermatozoa dievaluasi di bawah mikroskop fase kontras dengan pembesaran 1000x menggunakan minyak emersi. Penilaian dilakukan dengan cara menghitung proporsi spermatozoa dengan tudung akrosom utuh dalam 100 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh ditandai oleh keberadaan tudung akrosom yang berwarna hitam (Susilowati, 2007).

$$\text{TAU (\%)} = \frac{\text{Spermatozoa bertudung akrosom utuh}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

6. Fragmentasi DNA

Pengujian fragmentasi DNA menggunakan pewarnaan *acridine orange* (AO) dan diamati dengan menggunakan mikroskop *fluorescence*. Semen dibuat preparat ulas dan dikeringkan. Preparat direndam selama 2 jam dengan menggunakan larutan carnoy yang terdiri dari campuran asam asetat dan methanol dengan komposisi satu berbanding tiga (1 : 3). Selanjutnya preparat dikeringkan dan dimasukkan ke dalam larutan acridin orange 1% dan diinkubasi pada suhu 37° C dalam kondisi gelap. Setelah itu preparat dicuci dengan air mengalir, preparat harus tetap berada dalam kondisi gelap. Pengamatan di bawah mikroskop *fluorescence* panjang gelombang 450 – 490 nm dengan pembesaran 1000x, dengan menghitung 200 sel spermatozoa atau 10 lapangan pandang. Spermatozoa yang terfragmentasi akan memancarkan warna *orange*,



sedangkan spermatozoa yang tidak terfragmentasi akan menghasilkan warna hijau (Handayani et al., 2021).

$$\text{Fragmentasi DNA} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa terfragmentasi}}{\text{Jumlah Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa semen beku dianalisis menggunakan uji analisis varian *one-way* ANOVA. Metode ini menjelaskan mengenai Pengaruh penambahan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer AndroMed terhadap kualitas semen beku sapi Bali *Polled*. Jika terdapat perbedaan nyata dilanjut dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan: $i = 1, 2, \dots, t$ dan $j = 1, 2, \dots, r$

Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

μ = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke- i

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

