

**PENGARUH PENAMBAHAN FILTRAT DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynus*) DALAM PENGECER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN CAIR SAPI SELAMA PENYIMPANAN  
SUHU REFRIGERATOR (3-5°C)**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Anjar Agestin**

**NIM. 135050100111103**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2017**



**PENGARUH PENAMBAHAN FILTRAT DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynus*) DALAM PENGECER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN CAIR SAPI SELAMA PENYIMPANAN  
SUHU REFRIGERATOR (3-5<sup>0</sup>C)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Anjar Agestin**

**NIM. 135050100111103**

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk  
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas  
Peternakan Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**



## RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Blitar pada tanggal 17 Agustus 1994 sebagai putri kedua dari Ibu Sumarmi dan Bapak Harianto. Pendidikan formal yang pernah ditempuh adalah SDN Ploso 03 pada tahun 2001-2007, melanjutkan SMP di SMPN 1 Wlingi pada tahun 2007-2010 dan melanjutkan di SMAN 1 Garum pada tahun 2010-2013. Tahun 2013 penulis diterima di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang melalui seleksi jalur SBMPTN.

Penulis aktif diberbagai kegiatan akademik yaitu menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar Teknologi Hasil Ternak tahun 2015, mata kuliah Penanganan Hasil Ternak tahun 2015, mata kuliah Teknologi Hasil Ternak tahun 2016, dan mata kuliah Pengendalian Mutu tahun 2016. Penulis aktif dalam organisasi kemahasiswaan kampus, dan bergabung menjadi anggota UKM Barisan Orang Sukses (BOS) divisi RPAC (*Rabbit Potential Animal Club*) pada tahun 2013. Pada tahun 2015-2016 penulis menjadi pengurus harian BOS dengan jabatan Staff Manager divisi RPAC. Penulis mengikuti kegiatan magang yang diadakan oleh Barisan Orang Sukses (BOS) diantaranya magang di peternakan *Feedlot* Sapi Potong di Pati, Jawa Tengah tahun 2014, peternakan sapi perah Galur Murni Jember tahun 2014 dan peternakan ayam petelur Bintang Borneo Bocek tahun 2015. Penulis melaksanakan Praktek Kerja Lapang (PKL) dibidang penggemukan sapi (*feedlot*) di PT. Pasir Tengah Cianjur pada tahun 2016.

Penulis pernah mengikuti beberapa kepanitian antara lain pada tahun 2014: Festival Kewirausahaan Mahasiswa Baru (FKMB) II sebagai anggota divisi dana usaha dan penerimaan anggota baru atau Diklat IV BOS sebagai

pendamping kelompok. Tahun 2015 mengikuti kepanitiaan Festival Kewirausahaan Mahasiswa Baru (FKMB) III sebagai mentor, Festival Ternak Potensi (FESTERSI) divisi acara, Milky Wiki (Hari susu) sebagai koordinator kesekretariatan, Raja Brawijaya (penerimaan mahasiswa baru Universitas Brawijaya) divisi perlengkapan, dan Pendidikan Budi Pekerti (PBP) Universitas Brawijaya divisi perlengkapan.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Penambahan Filtrat Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Sapi selama Penyimpanan Suhu Refrigerator (3-5<sup>0</sup>C)”. Penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat :**

1. Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M.Si., selaku Pembimbing Utama dan Prof. Dr. Ir. M. Nur Ihsan, MS., selaku Pembimbing Pendamping atas saran dan bimbingannya.
2. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
3. Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua Jurusan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan kelancaran proses studi.
4. Dr. Agus Susilo, S.Pt., MP., selaku Ketua Program Studi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan kelancaran studi.
5. Ir. Nur Cholis, MS., selaku Ketua Minat Bidang Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya dan selaku Dosen Pengujii yang telah memberikan kelancaran proses studi serta koreksi dan saran yang telah diberikan.
6. Dr. Ir. Irfan H. Djunaidi, M.Sc. dan Siti Azizah, S.Pt, M.Sos, M.Commun., selaku Dosen Penguji atas koreksi dan saran yang telah diberikan.



7. Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang yang telah memfasilitasi dan menyediakan materi penelitian.
8. Bapak Harianto, Ibu Sumarmi, Acep Christian dan Agil Triantoko tercinta beserta seluruh keluarga yang telah memberikan do'a, dukungan berupa moral dan materi atas terselesainya skripsi ini.
9. Kepada teman-teman penelitian, teman satu kosan dan seluruh angkatan 2013 yang telah memberikan bantuan atas terselesainya skripsi ini.
10. Kepada pihak-pihak yang telah dengan ikhlas dan suka rela memberikan semangat dan bantuan, penulis sampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya, sehingga pada akhirnya skripsi ini dapat selesai dengan baik.

Akhir kata penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak serta mampu memberikan kontribusi bagi peternakan.

Malang, 5 Juni 2017

Penulis

**The Effect of Additional Katuk Leaves Filtrate (*Sauropus androgynus*) in Skim Milk Diluent on The Quality of Bull's Liquid Semen on Refrigerator Storage Temperature (3-5<sup>0</sup> C)**

Anjar Agestin<sup>1)</sup>, Sri Wahjuningsih<sup>2)</sup> and M. Nur Ihsan<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Student at Animal Production, Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University

<sup>2)</sup> Lecturer at Animal Production, Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University

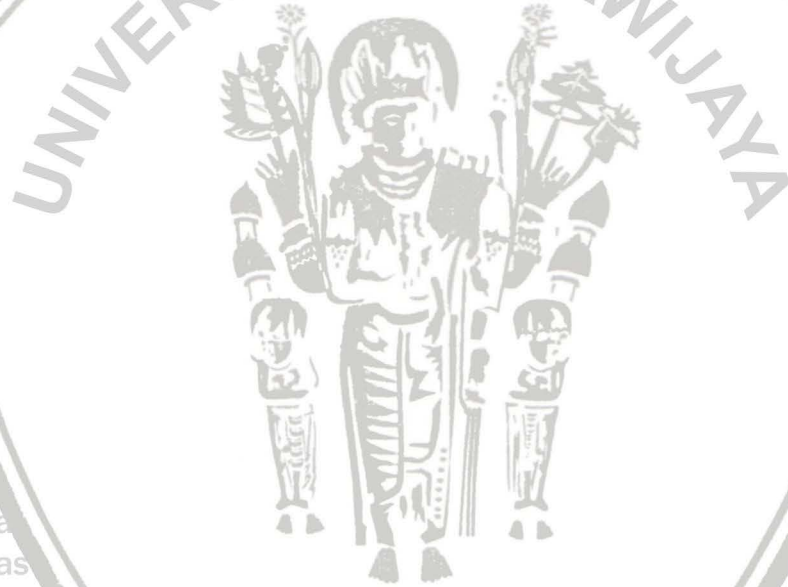
E-mail: [anjaragestin02@gmail.com](mailto:anjaragestin02@gmail.com)

**ABSTRACT**

The purpose of this research was to find of the effect of additional katuk leaves filtrate (*Sauropus androgynus*) in skim milk diluent on the quality of bull's liquid semen on refrigerator temperature storage (3-5<sup>0</sup> C). This research used rejected Limousin bull semen with criteria motility of individual  $\geq 50\%$ . Semen diluted with skim milk egg yolk by the addition on katuk leaves filtrate (*Sauropus androgynus*) with different levels. The method was laboratory experiment used Block Randomized Design (BRD) with 4 treatments (P<sub>0</sub> (100% diluent skim milk egg yolk + 0% katuk leaves filtrate), P<sub>1</sub> (98 % diluent skim milk egg yolk + 2% katuk leaves filtrate), P<sub>2</sub> (96% diluent skim milk egg yolk + 4% katuk leaves filtrate), P<sub>3</sub> (94% diluent skim milk egg yolk + 6% katuk leaves filtrate)) and 11 replications. Data of the research was analyzed using Analysis Of Variance (ANOVA). If there were significant effect then would tested by Duncan's Multiple Range Test Method. The result indicates that addition at various level katuk leaves filtrate in diluent skim milk egg yolk to motility of individual bull's liquid semen after storage,

gave significant difference effect ( $P < 0,05$ ), meanwhile viability and abnormality did not give significant difference effect ( $P > 0,05$ ). It was concluded that the addition of various concentration katuk leaves filtrate in diluent skim milk egg yolk has been able to preserve the motility of individual bull's liquid semen, meanwhile has not been able to preserve the viability and abnormality bull's liquid semen at  $3-5^{\circ}\text{C}$  refrigerator temperature storage.

Keywords : antioxidant, cold shock, motility, viability, abnormality





**PENGARUH PENAMBAHAN FILTRAT DAUN KATUK  
(*Sauropus androgynus*) DALAM PENGECER SUSU  
SKIM KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS  
SEMEN CAIR SAPI SELAMA PENYIMPANAN  
SUHU REFRIGERATOR (3-5<sup>0</sup> C)**

Anjar Agestin<sup>1)</sup>, Sri Wahjuningsih<sup>2)</sup> and M. Nur Ihsan<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Mahasiswa Produksi Ternak, Fakultas Peternakan  
Universitas Brawijaya

<sup>2)</sup> Dosen Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas  
Brawijaya

E-mail: [anjaragestin02@gmail.com](mailto:anjaragestin02@gmail.com)

**RINGKASAN**

Keberhasilan IB dapat dicapai melalui kualitas semen, perlakuan terhadap semen, transportasi dan pelaksanaan inseminasi. Semen mudah mengalami kerusakan pada saat penyimpanan, sehingga dibutuhkan pengencer untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa. Pengencer susu skim kuning telur mengandung zat nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dan dapat melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold shock*). Daun katuk (*Sauropus androgynus*) memiliki kandungan senyawa flavonoid sebagai antioksidan yang memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas. Berdasarkan fakta tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan berbagai konsentrasi filtrat daun katuk dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas semen cair sapi Limousin.

Penelitian dilaksanakan pada 13 Februari sampai 23 Maret 2017 di Laboratorium Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan filtrat daun katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer susu skim terhadap kualitas semen cair sapi selama penyimpanan suhu *refrigerator*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada semua pihak dalam pembuatan penambahan filtrat daun katuk (*Sauropus androgynus*) pada pengencer susu skim, sehingga dapat dijadikan pengencer alternatif dengan harga yang terjangkau.

Materi yang digunakan yaitu semen segar sapi Limousin dengan umur 5-11 tahun yang dipelihara secara intensif di BBIB Singosari Malang. Penampungan semen sebanyak dua kali dalam seminggu dengan menggunakan vagina buatan. Pengambilan semen sapi Limousin dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu menggunakan semen afkir yang memiliki kriteria motilitas individu  $\geq 50\%$ . Semen diencerkan dengan pengencer susu skim kuning telur dengan penambahan filtrat daun katuk dengan level yang berbeda. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah percobaan laboratorium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Analisis data yang digunakan adalah analisis ragam/*analysis of variance* (ANOVA), apabila diantara perlakuan menunjukkan perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata, akan dilakukan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*). Perlakuan penelitian yaitu  $P_0$  (100% pengencer susu skim kuning telur + 0% filtrat daun katuk),  $P_1$  (98% pengencer susu skim kuning telur + 2% filtrat daun katuk),  $P_2$  (96% pengencer susu skim kuning telur + 4% filtrat daun katuk), dan  $P_3$  (94% pengencer susu skim



kuning telur + 6% filtrat daun katuk). Masing-masing perlakuan diamati selama penyimpanan pada suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C), disimpan selama 45 jam dengan pengamatan pada jam ke 0, jam ke 24 dan jam ke 45. Semua perlakuan tersebut diulang sebanyak 11 kali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan berbagai konsentrasi filtrat daun katuk dengan pengencer susu skim kuning telur terhadap motilitas individu semen cair sapi Limousin memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ), sedangkan untuk viabilitas dan abnormalitas tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap semen cair sapi Limousin.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan filtrat daun katuk kedalam pengencer susu skim kuning telur dapat mempertahankan motilitas spermatozoa, akan tetapi tidak dapat mempertahankan viabilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C). Saran dari penelitian ini adalah sebaiknya perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan penambahan konsentrasi filtrat daun katuk yang lebih banyak dan semen yang digunakan untuk penelitian adalah semen yang masih bagus (motilitas  $\geq 70\%$ ).



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**DAFTAR ISI**

**Isi**

**RIWAYAT HIDUP ..... i**

**KATA PENGANTAR ..... iii**

**ABSTRACT ..... v**

**RINGKASAN ..... vii**

**DAFTAR ISI ..... xi**

**DAFTAR TABEL ..... xiii**

**DAFTAR GAMBAR ..... xv**

**DAFTAR LAMPIRAN ..... xvii**

**DAFTAR SINGKATAN ..... xix**

**BAB I PENDAHULUAN**

1.1. Latar Belakang ..... 1

1.2. Rumusan Masalah ..... 2

1.3. Tujuan ..... 3

1.4. Kegunaan ..... 3

1.5. Kerangka Pikir ..... 3

1.6. Hipotesis ..... 6

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1. Daun Katuk ..... 7

2.2. Pengencer Semen ..... 10

2.3. Susu Skim Kuning Telur ..... 11

2.4. Kualitas Semen ..... 14

**BAB III MATERI DAN METODE**

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian ..... 17

3.2. Materi Penelitian ..... 17

3.2.1. Alat dan Bahan ..... 17

3.3. Metode Penelitian ..... 18  
 3.3.1. Tahapan Penelitian di BBIB Singosari ..... 19

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1. Kualitas Semen Segar Sapi Limousin ..... 29  
 4.2. Persentase Motilitas Individu Spermatozoa Selama  
 Penyimpanan Suhu *Refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) ..... 31  
 4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa setelah  
 Penyimpanan Suhu *Refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) ..... 34  
 4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa setelah  
 Penyimpanan Suhu *Refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) ..... 36

**BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan ..... 39  
 5.2. Saran ..... 39

**DAFTAR PUSTAKA ..... 41**

**LAMPIRAN ..... 47**



DAFTAR TABEL

Tabel

1. Nilai Gizi *Tropicana Slim Non Fat Fiber Pro Plain* dalam 500 g .....13

2. Persentase Kualitas Semen Segar Sapi Limousin .....29

3. Persentase Motilitas Individu (%) Spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-50C).....33

4. Persentase viabilitas spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-50C) .....35

5. Persentase Abnormalitas spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-50C) .....36

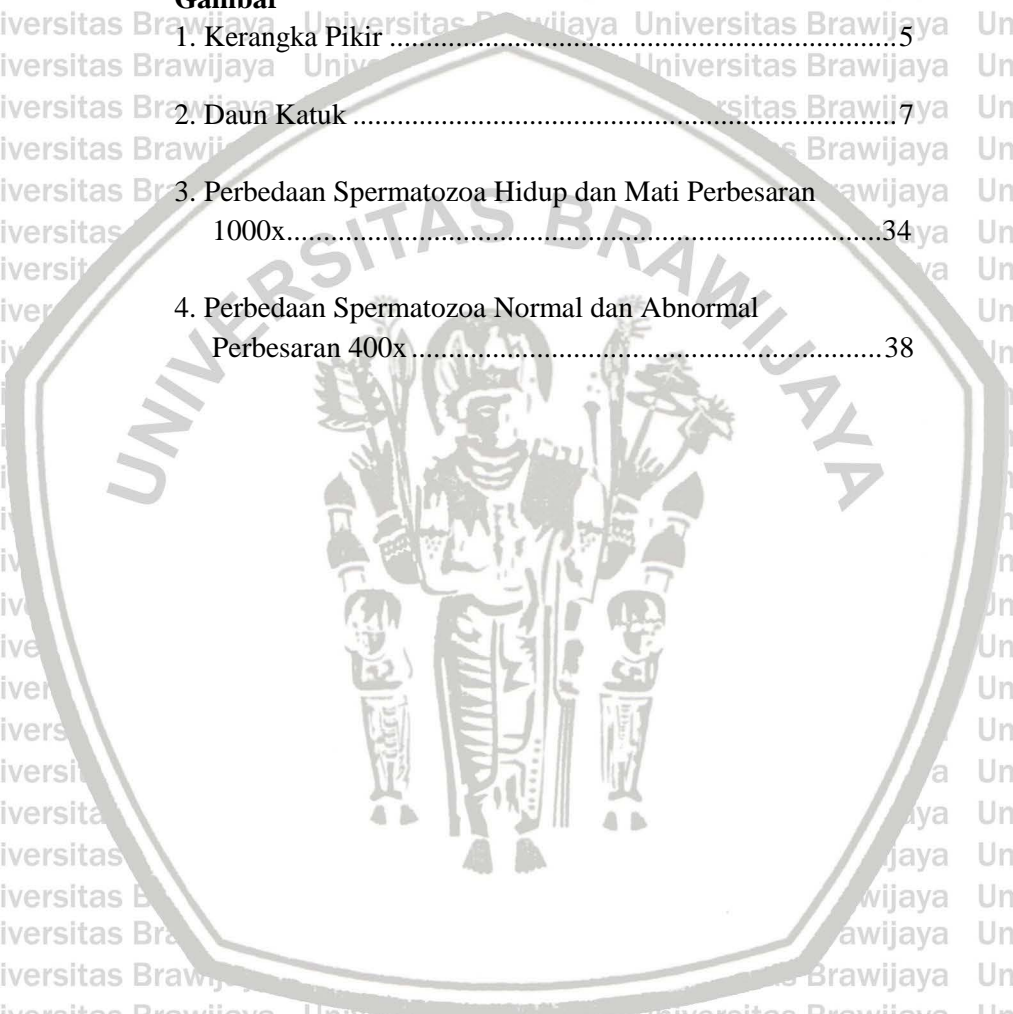




DAFTAR GAMBAR

Gambar

1. Kerangka Pikir .....	5
2. Daun Katuk .....	7
3. Perbedaan Spermatozoa Hidup dan Mati Perbesaran 1000x.....	34
4. Perbedaan Spermatozoa Normal dan Abnormal Perbesaran 400x.....	38





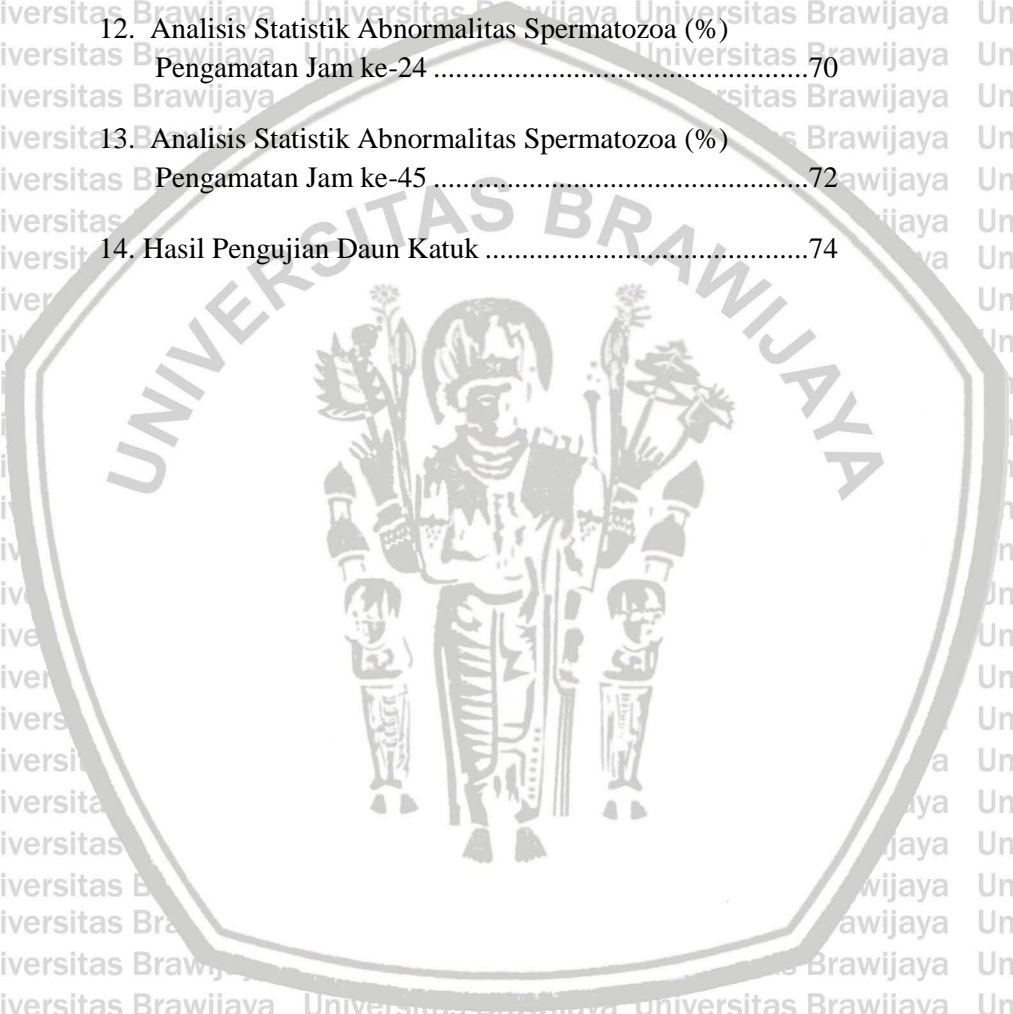
**DAFTAR LAMPIRAN**

**Lampiran**

1. Kualitas Semen Segar Sapi Limousin .....	47
2. Data Persentase Motilitas Spermatozoa (%) .....	49
3. Data Persentase Viabilitas Spermatozoa (%) .....	51
4. Data Abnormalitas Spermatozoa (%).....	53
5. Analisis Statistik Motilitas Individu Spermatozoa (%) Pengamatan Jam ke-0.....	55
6. Analisis Statistik Motilitas Individu Spermatozoa (%) Pengamatan Jam ke-24.....	57
7. Analisis Statistik Motilitas Individu Spermatozoa (%) Pengamatan jam ke-45 .....	60
8. Analisis Statistik Viabilitas Spermatozoa (%) Pengamatan Jam ke-0 .....	62
9. Analisis Statistik Viabilitas Spermatozoa (%) Pengamatan Jam ke-24 .....	64
10. Analisis Statistik Viabilitas Spermatozoa (%) Pengamatan Jam ke-45 .....	66



11. Analisis Statistik Abnormalitas Spermatozoa (%)	
Pengamatan Jam ke-0 .....	68
12. Analisis Statistik Abnormalitas Spermatozoa (%)	
Pengamatan Jam ke-24 .....	70
13. Analisis Statistik Abnormalitas Spermatozoa (%)	
Pengamatan Jam ke-45 .....	72
14. Hasil Pengujian Daun Katuk .....	74



**DAFTAR SINGKATAN**

ATP	: Adenosin Tri Phosphat
BBIB	: Balai Besar Inseminasi Buatan
BSN	: Badan Standarisasi Nasional
FDK	: Filtrat Daun Katuk
g	: gram
IB	: Inseminasi Buatan
kg	: kilo gram
mg	: mili gram
ml	: mili liter
pH	: <i>potential Hydrogen</i>
rpm	: <i>rate per minute</i>
SD	: Standar Deviasi
SOP	: <i>Standard Operating Procedure</i>
SSKT	: Susu Skim Kuning Telur





## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Salah satu upaya dalam perbaikan produktivitas ternak sapi dapat dilakukan dengan metode Inseminasi Buatan (IB).

Keberhasilan IB tergantung pada kualitas semen, perlakuan terhadap semen, transportasi dan pelaksanaan IB. Pengenceran semen dilakukan untuk mengurangi kepadatan dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa, sehingga ketersediaan semen yang dibutuhkan setiap saat dalam keadaan yang masih baik serta layak untuk inseminasi dapat terpenuhi. Bahan pengencer tersebut mengandung zat-zat makanan sebagai sumber energi dan tidak bersifat racun bagi spermatozoa, dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*), menghambat pertumbuhan mikroba serta bersifat sebagai penyangga (Widjaya, 2011).

Susu skim sebagai salah satu bahan pengencer mengandung protein, glukosa, air dan lemak yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Keuntungan lain dari penggunaan susu skim sebagai bahan pengencer adalah susu skim harganya terjangkau, mudah didapat serta mudah dalam pengamatan secara visual dalam pengujian kualitas secara mikroskopik karena tidak ada gangguan oleh butir-butir lemak yang jumlahnya terlalu banyak. Susu skim mengandung zat nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi (Widjaya, 2011). Selain itu, Susu Skim Kuning Telur juga mengandung zat lipoprotein dan lesitin sehingga bisa digunakan dalam pengencer semen untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold shock*).

Pengencer yang baik selain dapat memberikan energi untuk semen harus mengandung bahan yang dapat menghindarkan semen dari mikroba yang dapat merusak semen.

Daun katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan kimia dengan manfaat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik alami. Fungsi lainnya yaitu berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri atau virus dan juga dapat meningkatkan imunitas tubuh (Middleton, Kandaswami dan Theoharides, 2000). Daun katuk memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Antioksidan berfungsi untuk mengatur kadar radikal bebas agar tidak terjadi kerusakan sel dalam tubuh dan tercipta sistem perbaikan untuk kelangsungan hidup sel. Hasil penelitian Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia menunjukkan bahwa tanaman katuk mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain alkaloid papaverin, protein, lemak, vitamin, mineral, saponin, flavonid dan tanin. Flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra, Tarigan dan Sihotang, 2008). Berdasarkan fakta tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan berbagai konsentrasi Filtrat Daun Katuk dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur terhadap kualitas semen cair sapi.

### 1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penambahan Filtrat Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer susu skim terhadap





kualitas semen cair sapi selama penyimpanan suhu refrigerator ?

### 1.3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan Filtrat Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dalam pengencer susu skim terhadap kualitas semen cair sapi selama penyimpanan suhu refrigerator.

### 1.4. Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada semua pihak tentang penambahan daun katuk (*Sauropus androgynus*) pada pengencer susu skim, sehingga dapat dijadikan pengencer alternatif dengan harga yang terjangkau.

### 1.5. Kerangka Pikir

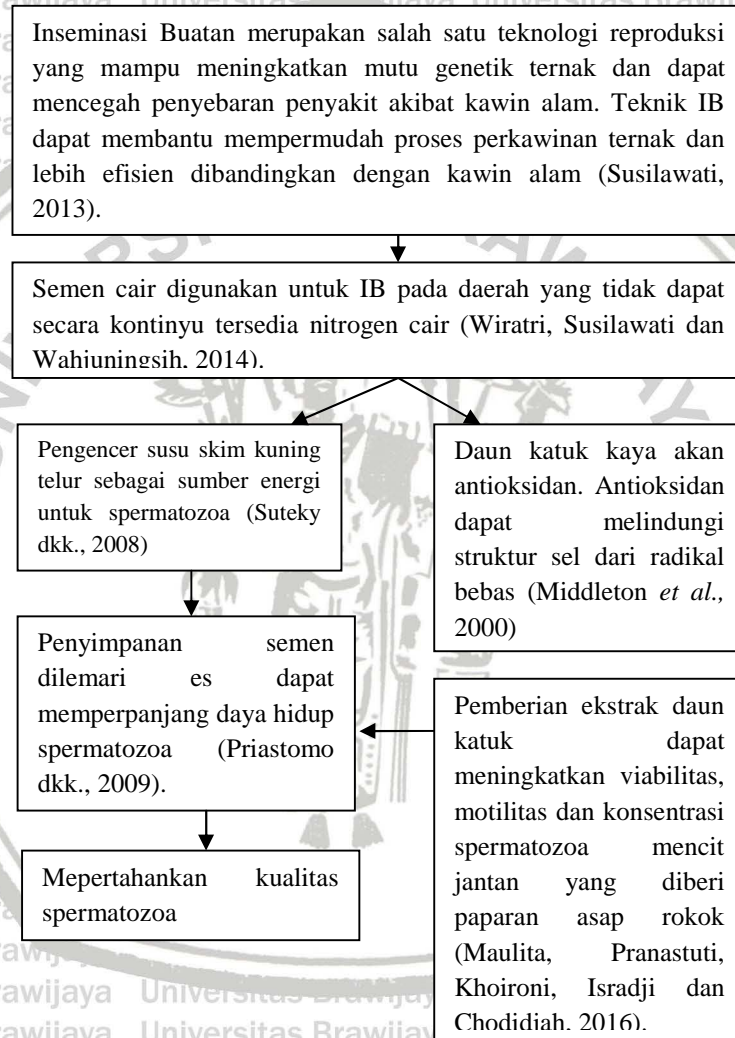
Inseminasi Buatan merupakan salah satu teknologi reproduksi yang mampu meningkatkan mutu genetik ternak dan dapat mencegah penyebaran penyakit akibat kawin alam. Teknik IB dapat membantu mempermudah proses perkawinan ternak dan lebih efisien dibandingkan dengan kawin alam (Susilawati, 2013). Kesuksesan suatu program IB pada dasarnya tergantung pada kualitas semen yang digunakan, ketepatan penempatan semen pada lokasi yang tepat di saluran reproduksi betina dan pada waktu yang tepat pula, sehingga semen yang berkualitas baik dapat bertemu dengan sel telur untuk terjadinya pembuahan (Inounu, 2014). Kualitas semen yang baik tergantung pengencer dan penyimpanan yang baik dan benar, sehingga kehidupan spermatozoa dapat dipertahankan. Semen cair digunakan untuk IB pada daerah

yang tidak dapat secara kontinyu tersedia nitrogen cair (Wiratri, Susilawati dan Wahjuningsih, 2014).

Penyimpanan semen di lemari es merupakan salah satu alternatif guna memperpanjang daya hidup spermatozoa. Semen cair yang disimpan pada suhu 5°C mampu bertahan selama 3-4 hari (Priastomo, Antanto, Khoirinaya, dan Wardani, 2009). Pengencer semen dapat diperoleh dari bahan-bahan yang berasal dari sari buah-buahan, susu, kuning telur, maupun dari bahan-bahan kimia. Susu skim sebagai salah satu bahan pengencer yang mengandung protein, glukosa, air dan lemak yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Suteky, Siwitri dan Yuli, 2008). Utomo dan Sumaryati (2000) menyatakan bahwa susu skim hanya menyediakan zat-zat energi bagi spermatozoa, sehingga perlu ditambahkan dengan bahan lain sebagai penyangga (*buffer*) dan mencegah terjadinya *cold shock*. Selain itu perlu adanya penambahan bahan yang mengandung antioksidan sehingga tidak merusak sel pada spermatozoa.

Hasil penelitian Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia menunjukkan bahwa tanaman katuk mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain alkaloid papaverin, protein, lemak, vitamin, mineral, saponin, flavonoid dan tanin. Flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra *et al.*, 2008). Daun katuk (*Sauropus androgynus*) berkhasiat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik alami (Middleton *et al.*, 2000). Menurut penelitian Maulita, Pranastuti, Khoironi, Isradji dan Chodidjah (2016) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun katuk dapat meningkatkan viabilitas,

motilitas dan konsentrasi spermatozoa mencit jantan yang diberi paparan asap rokok. Bagan kerangka pikir dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pikir



**1.6. Hipotesis**

Penambahan Filtrat Daun Katuk dalam pengencer susu skim mampu mempertahankan kualitas semen cair yang disimpan pada suhu *refrigerator* (3-5°C).



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Daun Katuk

Klasifikasi tanaman katuk menurut Anonimous (2008) sebagai berikut :

Divisi	: <i>Spertmathopyta</i>
Anak divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Mococlamydae (Apetalae)</i>
Bangsa	: <i>Euphorbiales</i>
Suku	: <i>Euphorbiaceae</i>
Marga	: <i>Sauropus</i>
Jenis	: <i>Sauropus androgynus</i> (L) Merr.



Gambar 2. Daun Katuk

Daun katuk (*Sauropus androgynus*) digunakan sebagai pewarna alami yang dapat memberi warna hijau tanpa menimbulkan residu. Daun tanaman katuk merupakan daun tunggal, karena hanya merupakan helaian dan tangkai daun saja, mudah didapat dan sudah digunakan berbagai bahan

makanan antara lain pewarna hijau pada ketan dan lain-lain. (Hardjanti, 2008). Kandungan nutrisi per 100 g 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 b.d.d (40%) (Wiradimadja, Burhanuddin dan Saefulhadjar, 2010).

Katuk atau Saoropus atau *Saoropus androgynus* merupakan salah satu tanaman asli dari Asia Tenggara yang sangat penting untuk dikonsumsi. Sifatnya yang mudah tumbuh terutama dengan pemotongan batang dan menanamnya, waktu produksi relatif pendek, memiliki produksi yang melimpah, serta sangat sedikit diserang hama dan penyakit (Sanjayasari dan Pliliang, 2011).

Hasil analisis menunjukkan bahwa katuk positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi kuning setelah ditambahkan pereaksi serbuk Mg, HCl dan amil alkohol. Suatu bahan dinyatakan positif mengandung flavonoid ketika berubah warna menjadi kuning atau merah setelah ditambahkan pereaksi Mg, HCl dan amil alkohol. Warna spesifik yang terdapat pada bahan yang diuji flavonoid menunjukkan jenis kandungan flavonoid yang berbeda, contoh: isoflavon, flavon dan lain sebagainya. Kelompok senyawa ini dilaporkan mempunyai berbagai aktifitas farmakologis seperti: antiinflamasi, antioksidan, antibakteri dan pemacu hormon (Sanjayasari dan Pliliang, 2011). Flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra *et al.*, 2008).

Daun katuk (*Saoropus androgynus*) berkhasiat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C,



anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik alami (Middleton *et al.*, 2000)

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat didalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi non radikal (Rohmatussolihat, 2009).

Fitokimia dari daun katuk (*Sauropus androgynus*) diantaranya terkandung senyawa sterol, resin, tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, terpenoids, glikosida, fenol, catechol, cardiac glikosida, dan *acidic compound*. Hal ini berarti daun katuk dapat dijadikan obat, *toxic* dan antioksidan (Bunawan, Bunawan, Baharum, dan Noor, 2015). Flavonoid yang terdapat dalam daun katuk memiliki antioksidan yang dapat melindungi kerusakan oksidatif DNA, *inactivating* karsinogen, dan mencegah mutasi gen dan enzim (Petrus, 2013).

Pemberian ekstrak daun katuk berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan yang dipapar asap rokok. Pemberian ekstrak daun katuk dapat meningkatkan viabilitas, motilitas dan konsentrasi spermatozoa mencit jantan yang diberi paparan asap rokok (Maulita, Pranastuti, Khoironi, Isradji dan Chodidjah, 2016).

## 2.2. Pengencer Semen

Pengenceran semen segar dilakukan untuk menjaga agar semen tetap terjaga kualitasnya. Pengenceran semen dilakukan untuk mengurangi kepadatan dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa. Bahan pengencer tersebut mengandung zat-zat makanan sebagai sumber energi dan tidak bersifat racun bagi spermatozoa, dapat melindungi spermatozoa dari kejut dingin (*cold shock*), menghambat pertumbuhan mikroba serta bersifat sebagai penyangga (Anastasia, Isnaini dan Wahjuningsih, 2015). Usaha untuk mempertahankan kualitas semen dan memperbanyak hasil sebuah ejakulasi dari pejantan unggul adalah dengan melakukan pengenceran semen menggunakan beberapa bahan pengencer. Syarat setiap bahan pengencer adalah 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 kejut dingin (*cold shock*) baik untuk semen beku maupun semen yang tidak dibekukan (semen cair). Setiap bahan pengencer yang baik harus dapat memperlihatkan kemampuannya dalam memperkecil tingkat penurunan nilai motilitas (gerak progresif) sperma sehingga pada akhirnya memperpanjang lama waktu penyimpanan pasca pengenceran. Semen yang disimpan baik pada suhu *refrigerator* maupun suhu beku membutuhkan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan (Zega dkk., 2015).

Pengencer yang baik adalah pengencer yang mampu mempertahankan kualitas semen. Syarat pengencer yang baik diantaranya: bahan tidak bersifat toksik terhadap spermatozoa, mengandung sumber energi, bersifat isotonik, mengandung



*buffer* untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat pada metabolisme spermatozoa, melindungi dari pengaruh pendinginan secara cepat, menghambat pertumbuhan bakteri, meningkatkan volume, melindungi spermatozoa dari suhu beku (Susilawati, 2011). Beberapa bahan pengencer yang sesuai dapat melindungi spermatozoa mencapai daya hidup sebesar 80%, dimana yang perlu diperhatikan adalah proses penanganan, suhu dan lama penyimpanan (Zakir, 2010).

### 2.3. Susu Skim Kuning Telur

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal setelah lemak/krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim mengandung semua zat makanan dari susu kecuali lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (kandungan lemak <1%) (Anastasia dkk., 2015). Pengencer susu skim dengan tris kuning telur mempunyai kandungan penyangga yang dapat menetralkan hasil metabolisme seperti asam laktat sehingga spermatozoa dapat bertahan hidup (Widjaya, 2011). Pengencer susu skim berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme (Munzir, Suharyati dan Hartono, 2016).

Susu skim bubuk mengandung lebih dari 50% laktosa yang merupakan sumber protein hewani dan juga laktosa sebagai sumber Calcium (Ca) dan Phospor (P), mineral Ca dan P sebagai ion berfungsi sebagai gugus polar yang bersifat hidrofilik dan mampu mengikat air (Winarno, 1992). Sifat-sifat laktosa ini akan membantu menstabilkan membran plasma sel spermatozoa selama masa transisi melewati zona suhu yang kritis, serta mengubah sifat mekanik pengencer melalui peningkatan viskositas (Rizal, 2009).

Laktosa mampu memberikan perlindungan dan sekaligus sebagai substrat sumber energi bagi spermatozoa selama proses preservasi. Laktosa sebagai salah satu karbohidrat golongan disakarida terdiri atas dua unit monosakarida, yakni satu unit glukosa dan satu unit galaktosa yang keduanya dapat dimetabolisir oleh spermatozoa melalui glikolisis dan siklus Krebs untuk menghasilkan energi berupa *adenosine triphosphate* (ATP). Adenosin trifosfat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dalam proses pergerakan sehingga dapat tetap motil dan sekaligus untuk mempertahankan daya hidupnya (Rizal, 2009). *Tropicana Slim Skim Milk Non Fat Fiber Pro Plain* merupakan produk susu tanpa lemak, bebas gula dan tinggi kalsium. Kandungan gizi susu skim tersebut seperti pada Tabel 1.



Tabel 1. Nilai Gizi *Tropicana Slim Non Fat Fiber Pro Plain* dalam 500 g

No.	Jenis Zat Gizi	Satuan	Kandungan Gizi
1	Takaran Sajian	g	26
2	Jumlah Sajian per Kemasan	-	9
3	Energi Total	kkal	80
4	Energi dari Lemak	g	0
5	Lemak Total	g	0
6	Lemak Jenuh	g	0
7	Lemak Trans	g	0
8	Kolesterol	mg	0
9	Protein	g	7
10	Kabohidrat Total	g	15
11	Serat Pangan	g	3
12	Natrium	mg	80
13	Kalium	mg	320
14	Vitamin A	IU	1300
15	Vitamin B1	mg	0,40
16	Vitamin B2	mg	0,45
17	Vitamin B3	mg	5
18	Vitamin B6	mg	0,5
19	Vitamin B12	mcg	1,50
20	Asam Folat	mcg	100
21	Vitamin C	mg	16
22	Vitamin D	IU	100
23	Vitamin E	mg	5
24	Kalsium	mg	600
25	Fosfor	mg	157
26	Magnesium	mg	2
27	Zat Besi	mg	2
28	Omega-3	mg	5

Sumber: Informasi Gizi *Tropicana Slim Non Fat Fiber Pro Plain*



#### 2.4. Kualitas Semen

Uji kualitas semen meliputi pemeriksaan motilitas individu, persentase hidup, persentase abnormal, konsentrasi, pengamatan terhadap integritas membran serta status kapasitas. Pada pemeriksaan mikroskopis (motilitas individu, persentase hidup, persentase abnormal dan konsentrasi) (Juniandri, Susilawati dan Wahjuningsih, 2014). Parameter kualitas semen yang terpenting adalah konsentrasi dan motilitas. Spermatozoa yang bagus adalah spermatozoa yang memiliki pergerakan maju kedepan (motilitas progresif) karena hanya spermatozoa yang progresif saja yang mampu memfertilisasi dengan baik (Susilawati, 2013). Faktor yang mempengaruhi kualitas semen diantaranya adalah umur, bangsa ternak, genetik, lingkungan, pakan, dan jenis pengencer yang digunakan. Kekurangan pakan pada sapi jantan akan mengakibatkan berkurangnya jumlah spermatozoa yang dihasilkan, berkurangnya daya gerak spermatozoa dan mengurangi kesuburan daya membuahi (Feradis, 2014).

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan gelas obyek yang ditetesi 10-15  $\mu$ l semen dan tutup dengan gelas penutup. Pemeriksaan dilakukan dengan perbesaran 400 kali menggunakan mikroskop cahaya biasa atau mikroskop fase kontras. Spermatozoa yang motil akan nampak bergerak maju ke depan. Spermatozoa yang motil dihitung mulai dari seluruh spermatozoa yang tampak dalam satu lapangan pandang, dan dinyatakan dalam persen (%). Perhitungan persentase hidup spermatozoa dilakukan melalui teknik pewarnaan dengan cara mencampurkan semen dengan larutan *eosin negrosin* pada gelas obyek, kemudian dibuat preperat ulas dan dikeringkan. Spermatozoa yang mati akan menyerap warna sedangkan spermatozoa yang hidup tidak

menyerap warna atau berwarna putih. Selanjutnya spermatozoa yang hidup dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa (spermatozoa hidup + spermatozoa mati) yang tampak dalam satu lapang pandang dan dalam persen (%). (Handayani, Dasrul, Akmal, Thasmi, dan Akmal, 2015).

Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan pada semen segar. Motilitas massa diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Semen diletakkan di atas gelas objek tanpa *cover glass* dengan perbesaran 100 $\times$ . Kriteria penilaian massa spermatozoa sangat baik (+++) apabila terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif bergerak. Dinilai baik (++) apabila terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. Dinilai cukup (+), bila tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individual aktif progresif dan buruk (0), bila tidak ada gerakan sama sekali (Susilawati, 2011).

Gerak individu spermatozoa dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. semen diteteskan pada gelas objek yang ditutupi dengan gelas penutup. Kriteria motilitas spermatozoa menurut Susilawati (2012) adalah sebagai berikut: 0%: spermatozoa immotil tidak bergerak; 50%: spermatozoa bergerak melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak bergelombang; 50-80%: spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa; 90%: gerakan progresif yang gesit dan membentuk gelombang; 100%: gerakan sangat progresif dan gelombang sangat cepat.

Viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, diamati berdasarkan pewarnaan diferensial dengan menggunakan pewarna *eosin negrosin*. Satu tetes semen diletakan pada gelas objek ditambah satu tetes eosin dipermukaan salah satu gelas

objek. Selanjutnya diaduk pelan-pelan campuran tersebut sampai rata, kemudian diulas menggunakan gelas objek yang lain ke salah satu ujung gelas objek sehingga terbentuk satu lapisan tipis (*film*) cairan semen pada permukaan gelas objek sampai lapisan mengering. Preparat tersebut diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Spermatozoa pada saat preparat dibuat masih dalam keadaan hidup akan berwarna putih sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena menyerap warna Eosin (Susilawati 2011). Jumlah spermatozoa hidup dan mati dihitung dari 200 sel spermatozoa.



### BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Desa Toyomarto Kecamatan Singosari Kabupaten Malang. Penelitian ini dimulai pada tanggal 13 Februari sampai 23 Maret 2017.

#### 3.2. Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah semen segar yang berasal dari 11 ekor sapi Limousin dengan umur 5-11 tahun yang dipelihara secara intensif di BBIB Singosari Malang. Penampungan semen rutin dilaksanakan sebanyak 2 kali dalam seminggu dengan metode vagina buatan. Pengambilan semen sapi Limousin dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu menggunakan semen afkir yang memiliki kriteria motilitas individu  $\geq 50\%$ . Semen diencerkan dengan Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan Filtrat Daun Katuk (*Sauropus andrognus*) dengan level yang berbeda. Kegiatan pembuatan Filtrat Daun Katuk (*Sauropus andrognus*) dilakukan di BBIB Singosari Malang. Semen segar diuji secara makroskopis yang meliputi volume, warna, bau, konsistensi, dan pH. Sedangkan uji mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas dan abnormalitas.

##### 3.2.1. Alat dan Bahan

###### a. Pembuatan Pengencer Susu Skim Kuning Telur

Alat dan bahan yang digunakan dalam pembuatan pengencer susu skim sebagai berikut:

Alat : erlenmeyer ukuran 100 ml, gelas ukur, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, termometer dan panci.

Bahan : susu skim (*Tropicana Slim Non Fat Fiber Pro Plain*) 10 g, *penicilline* 100 mg, *streptomycin* 100 mg, *glucose* 1 g, kuning telur 5 ml dan *aquabidest* 80 ml.

#### b. Pembuatan Filtrat Daun Katuk

Alat dan bahan yang digunakan dalam pembuatan Filtrat Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) sebagai berikut:

Alat : 2 buah erlenmeyer ukuran 250 ml, blender, *centrifuge*, kertas saring, dan *refrigerator*

Bahan : Daun katuk 200 g dan *aquabidest* 500 ml.

#### c. Evaluasi Kualitas Spermatozoa

Alat dan bahan yang digunakan dalam evaluasi kualitas spermatozoa sebagai berikut:

Alat : mikroskop cahaya, *object glass*, *cover glass*, ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *Hand Tally Counter (HTC)*, *aluminium foil* dan *refrigerator*.

Bahan : semen segar sapi Limousin yang memiliki motilitas individu  $\geq 50\%$ , pengencer susu skim, Filtrat Daun Katuk, pewarna *eosin* dan *negrosin*, dan NaCl 3%.

### 3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan laboratorium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Penelitian ini menggunakan perlakuan sebagai berikut:



P<sub>0</sub>: 100% pengencer Susu Skim Kuning Telur + 0% Filtrat Daun Katuk

P<sub>1</sub>: 98% pengencer Susu Skim Kuning Telur + 2% Filtrat Daun Katuk

P<sub>2</sub>: 96% pengencer Susu Skim Kuning Telur + 4% Filtrat Daun Katuk

P<sub>3</sub>: 94% pengencer Susu Skim Kuning Telur + 6% Filtrat Daun Katuk

Masing-masing perlakuan diamati selama penyimpanan pada suhu *refrigerator* (3-5°C), disimpan selama 45 jam dengan pengamatan pada jam ke-0, 24 dan 45. Semua perlakuan tersebut diulang sebanyak 11 kali.

### 3.3.1. Tahapan Penelitian di BBIB Singosari

#### a. Penampungan Semen

Penampungan semen Sapi Limousin dilakukan sebanyak 2 kali dalam seminggu. Semen ditampung dengan metode Vagina Buatan yang dilakukan oleh petugas khusus. Sapi jantan dilakukan penampungan dengan menggunakan pemancing sesama pejantan dari bangsa sapi yang sama. Sebelum dilakukan penampungan pejantan dilakukan *false mounting* 3-5 kali yang bertujuan untuk meningkatkan libidonya. Vagina Buatan yang telah dipersiapkan sesuai dengan suhu badan dan telah diberi vaselin di bagian ujung karetinya, dengan menggunakan sudut kemiringan 45°C dan ujungnya terdapat tabung reaksi yang telah ditutup bahan gelap agar semen yang dihasilkan tidak terkena sinar matahari langsung (Susilawati, 2013).

**b. Pemeriksaan Kualitas Semen Segar**

Analisis kualitas semen segar dilakukan segera setelah penampungan atau sebelum dilakukan pengenceran. Analisis kualitas semen segar meliputi pemeriksaan makroskopis: volume, warna, konsistensi, pH dan pemeriksaan mikroskopis meliputi: motilitas massa, motilitas individu, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas.

Pemeriksaan makroskopis (Susilawati, 2013) meliputi:

- a. Volume : Volume semen yang sudah ditampung diukur dengan melihat langsung pada tabung berskala.
- b. pH : Derajat keasaman semen diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar dengan menggunakan ose dan diletakkan pada kertas lakmus kemudian dilihat pH-nya, pH normal semen yaitu antara 6,2 sampai 6,8.
- c. Warna : Warna semen dapat diamati setelah proses penampungan. Warna semen dapat dilihat pada tabung penampung (abnormal= mengandung air, darah, rambut preputium, nanah, air kotor dan bau yang tidak normal). Semen normal berwarna putih kekuningan atau putih susu.
- d. Konsistensi : Pemeriksaan konsistensi dilakukan dengan cara melihat langsung pada tabung penampungan dengan penilaian mulai dari encer, sedang dan pekat. Konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Penilaiannya bisa encer ( $<1000 \cdot 10^6$  spermatozoa/ml semen),

sedang ( $1000 \cdot 10^6 - 1500 \cdot 10^6$   
spermatozoa/ml semen) dan pekat  
( $>1500 \cdot 10^6$  spermatozoa/ml semen).

Pemeriksaan mikroskopis meliputi:

1. Motilitas Massa Spermatozoa

Berikut ini prosedur pemeriksaan motilitas massa spermatozoa (Susilawati, 2013):

1. Diambil semen satu tetes menggunakan ose.
2. Diletakkan pada *object glass*.
3. Diamati menggunakan mikroskop tanpa *cover glass* dengan perbesaran 100 kali.

Kriteria penilaian gerak massa spermatozoa yaitu:

- a. Sangat baik (+++), terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif seperti gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
- b. Baik (++) , bila terdapat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- c. Kurang baik (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- d. Buruk (0), bila terjadi gerakan-gerakan individual yang sedikit.

2. Motilitas Individu Spermatozoa

Berikut ini prosedur pemeriksaan motilitas individu spermatozoa (Susilawati, 2011):

1. Diambil semen satu tetes menggunakan ose.
2. Diletakkan pada *object glass* dan ditutup menggunakan *cover glass*.

3. Diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

4. Dilakukan pengamatan spermatozoa yang bergerak progresif.

Penilaian motilitas individu dilihat berapa spermatozoa yang bergerak progresif kedepan, pergerakan mundur dan melingkar tidak ikut disertakan dibandingkan dengan spermatozoa yang diam ditempat. Penilaian motilitas individu ini dalam bentuk persentase spermatozoa yang bergerak progresif (Susilawati, 2013).

### 3. Viabilitas Spermatozoa

Preparat viabilitas spermatozoa dibuat dengan menggunakan pewarna yaitu *eosin-negrosin*. Menurut Susilawati (2011) bahwa cara kerjanya adalah:

1. Diambil semen satu tetes menggunakan ose.
2. Diletakkan pada ujung *object glass*.
3. Ditetaskan satu tetes larutan *eosin-negrosin* didekat semen dan dicampur menggunakan kawat ose.
4. Diletakkan *object glass* lain pada ujungnya yang membentuk sudut  $45^{\circ}$  dan ditarik ke arah ujung lain sehingga akan menghasilkan preparat ulas yang merata pada seluruh permukaan *object glass*.
5. Preparat tersebut dikeringkan dengan dianginkan.
6. Diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali.

Menghitung spermatozoa yang hidup, yaitu spermatozoa yang tidak berwarna dan spermatozoa yang mati yaitu spermatozoa yang berwarna merah muda sampai merah.

Jumlah spermatozoa yang hidup dan mati dihitung minimal

200 spermatozoa. Perhitungan tersebut menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase Viabilitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

4. Abnormalitas Spermatozoa

Berikut ini prosedur pemeriksaan abnormalitas spermatozoa (Susilowati, 2011):

1. Diambil satu tetes semen menggunakan ose.
2. Diletakkan pada ujung *object glass*.
3. Ditetaskan satu tetes larutan *eosin-negrosin* didekat semen dan dicampur menggunakan kawat ose.
4. Diletakkan *object glass* lain pada ujungnya yang membentuk sudut 45<sup>0</sup> dan ditarik ke arah ujung lain sehingga akan menghasilkan preparat ulas yang merata pada seluruh permukaan *object glass*.
5. Preparat tersebut dikeringkan dengan dianginkan.
6. Diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali.

Pengamatan difokuskan pada bagian kepala, leher dan ekor yang abnormal. Pengamatan dilakukan terhadap minimal 200 spermatozoa dan lima kategori spermatozoa yang abnormal, yaitu tidak ada ekor, abnormal kepala, bentuk ekor abnormal dengan adanya *sitoplasmic droplet* pada bagian *proximal* dan bentuk abnormal ekor pada bagian *distal droplet* (Susilawati, 2011). Perhitungan tersebut menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase Abnormalitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

#### 5. Konsentrasi Spermatozoa

Penghitungan konsentrasi spermatozoa menggunakan *spektofotometer* dengan cara (Zenichiro, Herliantien dan Sarastina, 2002):

1. Dimasukkan semen 0,02 ml dalam tabung reaksi.
2. Ditambahkan NaCl 3% (3,98 ml).
3. Dimixed 30 detik.
4. Dimasukkan kedalam kuvet.
5. Dimasukkan kuvet ketempat sampel pada *spektofotometer*.
6. Ditekan tombol enter.
7. Dilihat angka yang muncul pada layar.

#### c. Pembuatan Preparat Ulas

Pembuatan preparat ulas dibutuhkan untuk melakukan pemeriksaan viabilitas dan abnormalitas semen segar sapi Limousin. Adapun cara kerjanya menurut Susilawati (2013) adalah sebagai berikut:

1. Diteteskan satu tetes semen pada ujung *object glass* dengan menggunakan ose.
2. Diteteskan larutan *eosin-negrosin* satu tetes di dekat semen, kemudian keduanya dicampur.
3. Diletakkan dengan *object glass* lain pada ujungnya yang membentuk sudut  $45^{\circ}$  dan tarik ke arah ujung yang lain.
4. Hasil olesan diamati pada mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

#### d. Pembuatan Filtrat Daun Katuk

Prosedur pembuatan Filtrat Daun Katuk menurut Wati dkk. (2012) adalah sebagai berikut:

1. Ditimbang 250 g daun katuk.

2. Dicuci dengan air bersih lalu ditiriskan.
3. Ditambahkan *aquabidest* 500 ml.
4. Diblender 1-2 menit.
5. Diperas.
6. Disentrifugasi daun katuk yang sudah diperas dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.
7. Disaring hasil sentrifugasi dengan kertas saring.
8. Diambil filtrat.

**e. Pembuatan Pengencer Susu Skim**

Prosedur pembuatan pengencer susu skim menurut Zenichiro dkk. (2002):

1. Dimasukkan dalam erlenmeyer susu skim (*Tropicana Slim Non Fat Fiber Pro Plain*) 10 g dan *glucose* 1 g.
2. Ditambahkan *aquabidest* 80 ml kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 10 menit.
3. Dimasukkan ke dalam panci dan dipanaskan sampai mendidih (suhu 80-90°C) selama 10 menit.
4. Diturunkan suhunya menjadi 37°C.
5. Ditambahkan kuning telur 5 ml.
6. Ditambahkan *penicillin* 100 mg dan *streptomycin* sebanyak 100 mg dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 10 menit.
7. Dimasukkan dalam tabung reaksi.
8. Disimpan dalam *refrigerator* selama 1 hari atau dapat langsung digunakan.

**f. Pengenceran Semen**

Prosedur pengenceran semen menurut Susilawati (2013) sebagai berikut:

1. Dihitung volume pengencer yang dibutuhkan dengan rumus:

$$V_{total} = \frac{\text{Vol.semen} \times \text{Konsentrasi} \times 0,025 \times 10^6}{25 \times 10^6}$$

2. Dimasukan pengencer susu skim kedalam tabung reaksi sesuai perlakuan untuk P<sub>0</sub> 100%, P<sub>1</sub> 98%, P<sub>2</sub> 96% dan P<sub>3</sub> 94% pada setiap tabung perlakuan.
3. Dimasukan Filtrat Daun Katuk dalam tabung reaksi sesuai perlakuan untuk P<sub>0</sub> 0%, P<sub>1</sub> 2%, P<sub>2</sub> 4% dan P<sub>3</sub> 6%.
4. Dihomogenisasi pengencer susu skim dan Filtrat Daun Katuk secara perlahan.
5. Dimasukan semen dalam masing-masing tabung perlakuan 0,2 ml.
6. Dihomogenisasi antara semen dan pengencer secara perlahan.
7. Disimpan semen cair pada suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C).

Pengencer yang digunakan adalah susu skim dengan penambahan Filtrat Daun Katuk. Jumlah kadar pengencer tergantung pada volume ejakulasi, konsentrasi dan persentase spermatozoa yang hidup dan motil progresif, sehingga perhitungan penentuan kebutuhan pengencer konsentrasi ejakulat dikalikan dengan persentase spermatozoa hidup dan bergerak progresif (Susilawati, 2013).

**g. Penyimpanan Semen pada Suhu Refrigerator (3-5<sup>0</sup>C)**

Semen yang telah diencerkan menggunakan susu skim dengan penambahan Filtrat Daun Katuk kemudian disimpan pada suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) dengan meletakkan tabung reaksi ke rak tabung reaksi. Pengamatan dilakukan pada jam





ke-0, jam ke-24 dan jam ke-45 setelah penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C).

#### **h. Pemeriksaan Kualitas Semen Setelah Pendinginan**

Setelah pendinginan dilakukan pemeriksaan kualitas semen secara mikroskopis, meliputi:

1. Motilitas Individu Spermatozoa.
2. Viabilitas Spermatozoa.
3. Abnormalitas Spermatozoa.

#### **3.3. Variabel Penelitian**

Variabel yang diamati pada semen segar meliputi volume, warna, bau, konsistensi, pH, motilitas massa, motilitas individu, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Variabel yang diamati pada semen yang telah diencerkan (semen cair) yang disimpan pada suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) meliputi motilitas individu, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa.

#### **3.4. Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (*Analysis of variance* / ANOVA) dengan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK). Perlakuan yang dicobakan adalah penambahan berbagai level Filtrat Daun Katuk yang berbeda, yaitu 0, 2, 4 dan 6% dalam pengencer susu skim yang diulang sebanyak 11 kali. Selanjutnya apabila di antara perlakuan menunjukkan perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata terhadap variabel, maka dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*). Model matematis untuk RAK adalah :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  : pengamatan pada perlakuan ke i kelompok ke j

$\mu$  : nilai rata-rata

$T_i$  : pengaruh perlakuan ke i

$\beta_j$  : pengaruh kelompok ke j

$\varepsilon_{ij}$  : galat percobaan pada perlakuan ke i, kelompok ke j

i : 1,2,.....t perlakuan

j : 1,2,.....r kelompok

$\varepsilon_{ij} \sim NID(0, \sigma^2)$

### 3.5. Batasan Istilah

**Antioksidan** : zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif.

**Daun katuk** : Daun muda dengan warna hijau muda, lembar daun lebih tipis dan berada dipucuk batang.

**Filtrat** : substansi yang telah melewati penyaringan.

**Susu skim** : Susu skim (*Tropicana Slim Non Fat Fiber Pro Plain*).

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Kualitas Semen Segar Sapi Limousin

Semen segar ditampung oleh petugas lapang kemudian dibawa ke laboratorium BBIB Singosari. Uji kualitas semen segar meliputi uji makroskopis dan uji mikroskopis. Uji makroskopis yang dilakukan diantaranya uji pH, volume, konsistensi, dan warna, sedangkan untuk uji mikroskopis yang dilakukan meliputi motilitas massa, motilitas individu, dan konsentrasi. Hasil uji kualitas semen segar sapi Limousin disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Persentase Kualitas Semen Segar Sapi Limousin

<b>Kualitas Semen Segar Sapi Limousin</b>	
<b>Parameter</b>	<b>Rata-Rata±SD</b>
<b>Keadaan Umum</b>	
Umur sapi (Tahun)	9±1,48
<b>Makroskopis</b>	
Warna	Putih kekuningan
Volume (ml)	5,76±2,40
pH	6,5±0,16
Konsistensi	Encer-Sedang
<b>Mikroskopis</b>	
Motilitas Massa	(++)
Motilitas Individu (%)	48,18±2,52
Konsentrasi (10 <sup>6</sup> spermatozoa/ml)	870,45±397,70

Pejantan Limousin yang digunakan dalam penelitian memiliki kisaran rata-rata umur 9 tahun. Ax, Dally, Didion, Lenz, Love, Varner, Hafez dan Bellin (2008) menyatakan bahwa pejantan dapat ditampung pertama kali pada umur 12 bulan. Hasil pengujian semen segar sapi Limousin diketahui memiliki warna putih kekuningan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Susilawati (2013) yang menyatakan bahwa semen normal berwarna putih kekuningan atau putih susu. Hal ini karena adanya riboflavin di dalam semen. Menurut Handayani dkk. (2015) bahwa semen yang didapat rata-rata berwarna putih susu atau krem keputihan.

Nilai rata-rata volume yang digunakan dalam penelitian adalah  $5,76 \pm 2,40$  ml. Hal ini sesuai dengan penjelasan Garner dan Hafez (2008) yang menyatakan bahwa volume semen sapi berbeda setiap penampungan antara 1-15 ml atau 5-8 ml per ejakulasi. Volume semen yang sudah ditampung pada 1 kali penampungan ini diukur dengan cara melihat langsung pada tabung berskala (Susilawati, 2013).

pH semen rata-rata yang diperoleh dalam penelitian adalah  $6,5 \pm 0,16$ . pH semen yang digunakan untuk penelitian termasuk dalam keadaan normal. Sesuai dengan pendapat Garner and Hafez (2008) bahwa pH semen segar sapi umumnya berkisar 6,4-7,8. pH semen segar dapat diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar dengan menggunakan kawat ose dan diletakkan pada kertas lakmus atau pH meter kemudian dilihat pH-nya (Susilawati, 2013).

Nilai rata-rata motilitas massa yang digunakan dalam penelitian adalah 2+ (++) dan motilitas individu sebesar  $48,18 \pm 2,52$ . Motilitas massa semen segar dikatakan dalam kondisi baik. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Susilawati (2013) yang menyatakan bahwa kriteria penilaian gerak massa

spermatozoa baik (++) apabila terdapat gelombang-gelombang kecil tipis jarang, kurang jelas dan bergerak lamban. Menurut Garner and Hafez (2008) bahwa motilitas individu spermatozoa berkisar antara 40-75%.

Rata-rata konsentrasi semen sapi yang diperoleh yaitu  $870,45 \pm 397,70$  juta/ml. Konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1000-1800 juta spermatozoa tiap milliliter atau 800-2000 juta spermatozoa tiap milliliter (Garner and Hafez, 2008). Konsentrasi berkorelasi dengan konsistensi spermatozoa. Penilaian bisa encer jika mengandung  $<1000.10^6$  spermatozoa/ml semen, konsistensi sedang jika mengandung  $1000.10^6 - 1500.10^6$  spermatozoa/ml semen dan konsistensi pekat jika mengandung  $>1500.10^6$  spermatozoa/ml semen. Nilai konsistensi rata-rata dalam penelitian berkisar antara encer-sedang.

#### 4.2. Persentase Motilitas Individu Spermatozoa Selama Penyimpanan Suhu *Refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C)

Motilitas individu spermatozoa diamati selama 45 jam dimulai dari hari pertama penyimpanan sampai dengan persentase motilitas individu turun menjadi 30%. Berdasarkan penelitian motilitas individu spermatozoa mengalami penurunan dari jam pertama pengamatan sampai dengan jam ke-45 pengamatan. Pengamatan jam ke-0 motilitas individu spermatozoa masih layak digunakan untuk IB karena memiliki motilitas individu  $\geq 40\%$ . Sesuai dengan Anonimous (2005) yang menyatakan bahwa SNI semen beku sapi yang diinseminasikan memiliki motilitas 40%. Pengamatan pada jam ke-24 motilitas individu spermatozoa yang disimpan pada suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) mengalami penurunan sampai dengan pengamatan jam ke-45. Penurunan motilitas individu

spermatozoa disebabkan hilangnya energi pada spermatozoa.

Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Sukmawati, Arifiantini dan Purwantara (2014) yang menyatakan bahwa rusaknya mitokondria spermatozoa dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Mitokondria merupakan tempat penghasil ATP, sehingga apabila mitokondria spermatozoa rusak maka energi yang dihasilkan sedikit dan motilitas spermatozoa akan turun. Penurunan persentase motilitas spermatozoa karena adanya *cold shock* yang terjadi selama penyimpanan dingin 3-5°C. Menurut Susilawati (2013) bahwa adanya proses pendinginan pada semen dapat menyebabkan *stress* fisik dan kimia pada membran spermatozoa yang dapat menurunkan viabilitas dan kemampuan memfertilisasi spermatozoa.

Pengencer yang digunakan dalam penelitian adalah pengencer susu skim dimana susu skim mengandung zat nutrisi untuk sumber energi spermatozoa. Susu skim mengandung zat nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi. Selain itu, susu skim mengandung lipoprotein dan lesitin sebagai pelindung spermatozoa dari *cold shock* (Widjaya, 2011).

Rataan persentase motilitas individu spermatozoa setelah diberi pengencer Susu Skim Kuning Telur yang ditambahkan Filtrat Daun Katuk selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5°C) sesuai perlakuan yaitu: P<sub>0</sub> (100% pengencer susu skim + 0% Filtrat Daun Katuk), P<sub>1</sub> (98% pengencer susu skim + 2% Filtrat Daun Katuk), P<sub>2</sub> (96% pengencer susu skim + 4% Filtrat Daun Katuk), dan P<sub>3</sub> (94% pengencer susu skim + 6% Filtrat Daun Katuk) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Motilitas Individu (%) Spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C).

Perlakuan	Lama Simpan (Jam)		
	0 (%)	24 (%)	45 (%)
P <sub>0</sub>	46,36±2,34 <sup>a</sup>	37,27±6,07 <sup>a</sup>	26,82±4,62 <sup>a</sup>
P <sub>1</sub>	46,36±3,93 <sup>a</sup>	38,18±6,03 <sup>a</sup>	26,36±4,52 <sup>a</sup>
P <sub>2</sub>	46,36±3,23 <sup>a</sup>	37,73±7,20 <sup>a</sup>	29,09±4,91 <sup>a</sup>
P <sub>3</sub>	47,73±2,61 <sup>a</sup>	41,36±5,05 <sup>b</sup>	29,09±4,37 <sup>a</sup>

Keterangan: notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

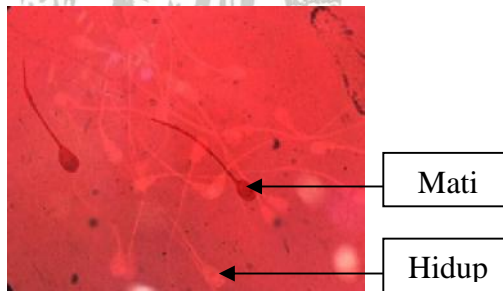
Berdasarkan hasil analisis statistik persentase motilitas spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur yang ditambahkan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata (P>0,05) pada pengamatan jam ke-0 dan jam ke-45. Sedangkan pada pengamatan jam ke-24 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05) dengan penambahan 6% Filtrat Daun Katuk dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan 6 % Filtrat Daun Katuk dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dapat mempertahankan motilitas spermatozoa. Diperkuat oleh Sanjayasari dan Piliang (2011) bahwa daun katuk diketahui memiliki kemampuan sebagai antinflamasi, antioksidan, antibakteri dan pemacu hormon. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah terjadinya kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dengan jalan meredam aktivitas radikal bebas atau memutus rantai reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan



yang terdapat dalam daun katuk salah satunya adalah flavonoid (Petrus, 2013). Berdasarkan hasil pengujian flavonoid yang telah dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Instrumentasi Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dapat diketahui kandungan flavonoid dalam daun katuk cukup besar yaitu 1,16%. Hasil pengujian dapat dilihat dalam Lampiran 14.

#### 4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa setelah Penyimpanan Suhu Refrigerator (3-5<sup>0</sup>C)

Perhitungan viabilitas spermatozoa digunakan untuk mengetahui spermatozoa yang masih hidup dan mati. Spermatozoa yang mati dan hidup dapat dibedakan berdasarkan warna menggunakan pewarna eosin negrosin. Sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna dan sel spermatozoa yang masih hidup tidak menyerap warna (Susilawati, 2013). Gambar spermatozoa hidup dan mati ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Perbedaan Spermatozoa Hidup dan Mati Perbesaran 1000x

Persentase viabilitas spermatozoa yang diencerkan dengan Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan Filtrat Daun Katuk berbagai konsentrasi selama penyimpanan suhu



*refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) dari jam ke-0 sampai jam ke-45 mengalami penurunan. Penurunan nilai viabilitas spermatozoa yang terjadi selama penyimpanan diduga karena spermatozoa mengalami kerusakan membran. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Susilawati (2013) yang menyatakan bahwa spermatozoa hidup memiliki membran yang baik, sehingga pewarna tidak dapat masuk, sedangkan untuk spermatozoa mati memiliki membran yang tidak berfungsi dan menyebabkan pewarna dapat masuk kedalam membran spermatozoa. Didukung oleh Fatahillah, Susilawati dan Isnaini (2016) yang menyatakan bahwa penurunan viabilitas spermatozoa disebabkan oleh rusaknya struktur membran spermatozoa. Pareira *et al.* (2010) menyatakan bahwa viabilitas akan menurun akibat suhu *refrigerator* selama penyimpanan, ketersediaan energi dalam pengencer semakin berkurang, dan menurunnya pH karena terjadi peningkatan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa, adanya kerusakan membran plasma dan akrosom.

Tabel 4. Persentase viabilitas spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C).

Perlakuan	Lama Simpan (Jam)		
	0 (%)	24 (%)	45 (%)
P <sub>0</sub>	84,91±6,11	77,14±5,12	55,86±4,82
P <sub>1</sub>	86,00±4,67	74,68±8,18	57,95±6,14
P <sub>2</sub>	83,77±7,14	74,95±9,06	60,00±6,36
P <sub>3</sub>	87,18±5,89	80,14±6,02	61,32±7,07

Berdasarkan hasil analisis statistik persentase viabilitas spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur yang

ditambahkan FDK (Lampiran 8.) selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) dari perlakuan  $P_0$  (100% SSKT + 0% FDK),  $P_1$  (98% SSKT + 2% FDK),  $P_2$  (96% SSKT + 4% FDK), dan  $P_3$  (94% SSKT + 6% FDK) pada pengamatan jam ke-0, jam ke-24 dan jam ke-45. Hal ini disebabkan masih rendahnya kadar filtrat daun katuk yang digunakan. Selain itu spermatozoa yang digunakan penelitian dalam keadaan afkir.

**4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa setelah Penyimpanan Suhu Refrigerator (3-5<sup>0</sup>C)**

Persentase abnormalitas spermatozoa setelah diencerkan menggunakan pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan konsentrasi Filtrat Daun Katuk yang berbeda selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) dari jam ke-0 sampai jam ke-45 mengalami kenaikan.

Tabel 5. Persentase abnormalitas spermatozoa dalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dengan penambahan FDK selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C).

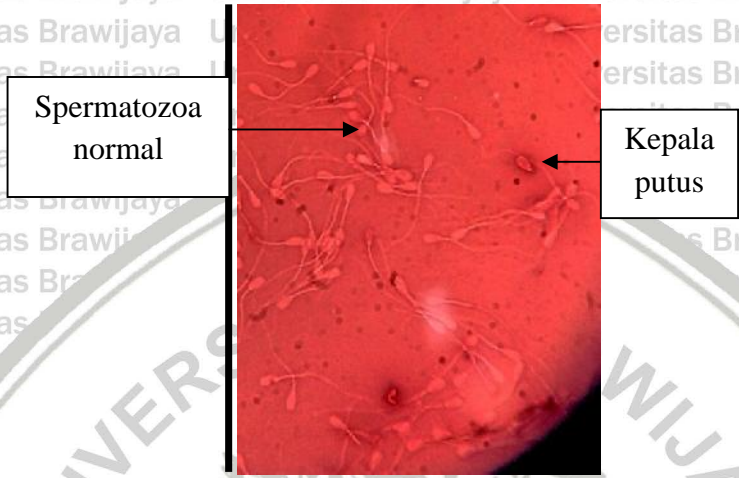
Perlakuan	Lama Simpan (Jam)		
	0 (%)	24 (%)	45 (%)
$P_0$	9,59±2,98	9,91±4,01	15,45±6,35
$P_1$	9,45±3,97	9,82±4,37	13,18±5,13
$P_2$	9,36±3,30	11,05±3,66	13,64±5,75
$P_3$	9,45±3,15	8,82±3,82	12,36±4,78

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memberikan perbedaan yang tidak nyata ( $P>0,05$ ) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa.



Meskipun demikian, berdasarkan Tabel 5, diketahui bahwa nilai rataan abnormalitas yang paling tertinggi adalah  $P_0$  (100% SSKT + 0% FDK) pada pengamatan jam ke 0 dan pengamatan jam ke 45. Berdasarkan data penelitian dapat diketahui tidak konsistennya penurunan persentase abnormalitas spermatozoa. Ketidakstabilan penurunan persentase abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan suhu *refrigerator* mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-45 menunjukkan bahwa penambahan antioksidan dalam Filtrat Daun Katuk masih belum memberikan hasil yang baik. Terjadinya abnormalitas merupakan akibat dari perubahan media hidupnya serta suhu dimana pada proses ekuilibrisasi terjadi pembentukan kristal-kristal es. Pada proses tersebut dapat menyebabkan perubahan struktur dari spermatozoa seperti bentuk ekor yang melingkar, ekor putus, atau kepala putus (Munzir dkk, 2016). Abnormalitas yang sering dijumpai pada penelitian adalah abnormalitas tersier seperti kepala dan ekor yang putus. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Salim, Susilawati dan Wahjuningsih (2012) yang menyatakan bahwa salah satu ciri spermatozoa yang mengalami abnormalitas tersier yaitu ekor atau kepalanya yang terputus dimana kondisi ini disebabkan karena proses preparasi seperti pembuatan preparat ulas. Perbedaan spermatozoa normal dan abnormal dapat dilihat pada Gambar 4.





Gambar 4. Perbedaan Spermatozoa Normal dan Abnormal  
Perbesaran 400x

Hasil data penelitian menunjukkan spermatozoa dengan pengencer Susu Skim Kuning Telur yang ditambahkan konsentrasi Filtrat Daun Katuk yang berbeda dengan pengamatan mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-45 menunjukkan bahwa masih dapat digunakan untuk IB karena dibawah 20%. Hal ini sesuai dengan penjelasan Utami dan Tophianong (2014) bahwa persentase morfologi spermatozoa abnormal antara 12% hingga 23%, kisaran tersebut masih dalam batas toleransi. Susilawati (2013) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa pada sapi sekitar 20% fertilitas akan menurun.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan Filtrat Daun Katuk kedalam pengencer Susu Skim Kuning Telur dapat mempertahankan motilitas spermatozoa, akan tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan suhu *refrigerator* (3-5<sup>0</sup>C) dengan level pemberian Filtrat Daun Katuk sebanyak 6%.

### 5.2. Saran

Sebaiknya perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan penambahan konsentrasi Filtrat Daun Katuk yang lebih banyak dan semen yang digunakan untuk penelitian adalah semen yang masih bagus dengan motilitas  $\geq 70\%$ .



## DAFTAR PUSTAKA

Anastasia, Y. I., N. Isnaini dan S. Wahjuningsih. 2015. Pengaruh Level Filtrat Kecambah Kacang Hijau dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Kualitas Semen Cair Pejantan Sapi Madura pada Penyimpanan Suhu Ruang. *J. Ternak Tropika*. 16(2): 55-63.

Anonimous. 2005. Semen Beku Sapi. Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-4869.1-2005.

\_\_\_\_\_. 2008. Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup. Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan Republik Indonesia.

Bunawan, H., S. N. Bunawan, S. N. Baharum and N. M. Noor. 2015. *Sauropus androgynus* (L.) Merr. Induced. Obliterancs: From Botanical Studies to Toxicology. Hindawi Publishing Corporation. 1-7.

Fatahillah, T. Susilawati dan N. Isnaini. 2016. Pengaruh Lama Sentrifugasi terhadap Kualitas dan Proporsi Spermatozoa X-Y Sapi Limousin Hasil Sexing dengan Gradien Densitas Percoll Menggunakan Pengencer CEP-2+10% KT. *Jurnal Ternak Tropika*. 17 (1): 86-97.

Feradis. 2014. Reproduksi Ternak. Alfabeta. Bandung.

Garner DL dan Hafez ESE. 2008. *Reproduction in Farm Animals 7th Edition*. Phladelphia.

Handayani, L., Dasrul, M. Akmal, C. N. Thasmi dan M. Adam. Pengaruh Metode Pencucian Spermatozoa Sapi Aceh terhadap Motilitas, Persentase Hidup, dan

Integritas Membran Plasma Utuh Spermatozoa.  
Jurnal Medika Veterinaria. 9 (2) : 104-110.

Hardjanti, S. 2008. Potensi Daun Katuk Sebagai Sumber Zat Pewarna Alami dan Stabilitasnya Selama Pengeringan Bubuk dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin. Jurnal Penelitian Saintek. 13 (1) : 1-18.

Inounu, I. 2014. Upaya Meningkatkan Keberhasilan Inseminasi Buatan pada Ternak Ruminansia Kecil. Wartazoa. 24(4): 201-209.

Juniandri, T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Perbandingan Pengencer Andromed dan Cep-2 terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Hasil Seksing dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. Jurnal Veteriner. 15 (2) : 252-262.

Maulita, W., R.D. Pranastuti, I. Khoironi, I. Isradji dan Chodidjah. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) terhadap Viabilitas, Motilitas dan Kosentrasi Spermatozoa Mencit Jantan Balb/c yang Diberi Paparan Asap Rokok. Biomedical Science. 1-7.

Middleton, E., C. Kandaswami and T. C. Theoharides. 2000. The Effect of Plants Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacological Reviews. 52 (4): 673-751.

Munzir, I. I., S. Suharyati dan M. Hartono. 2016. Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa dalam Pengencer Susu Skim terhadap Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Ongole. Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu. 4 (4): 284-291.



Pareira, G.R., E.G. Becker, L.C. Siquiera, R. Ferreira, C.K. Severo, V.S. Truzzi, J.F.C. Oliveira, and P.B.D. Goncalves. 2010. Assesment of Bovine Spermatozoa Viability Using Different Cooling Protocols Prior to Cryopreservation. Italian Journal of Animal Science 9: 403- 407.

Petrus, A.J.A.. 2013. *Sauropus androgynus* (L.) Merrill-A Potentially Nutritive Functional Leafy-Vegetable. Asian Journal of Chemistry. 25 (17): 9425-9433.

Priastomo, I. B., R. J. Antanto, C. Khoirinaya dan A. A. Wardani. 2009. Daya Tahan Spermatozoa Sapi Frisien Holstein dalam Berbagai Pengencer pada Suhu 5<sup>0</sup>C. Media Peternakan. 30 : 163-172.

Rizal, M. 2009. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Limousin yang Dipreservasi pada Suhu 3-5<sup>0</sup>C dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang Berbeda. J. Ilmu Ternak dan Veteriner. 14(2): 142-149.

Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. BioTrends. 4 (1): 5-10.

Salim, M. A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin, Sapi Madura dan Sapi PO. Agripet. 12 (2): 14-19.

Sanjayasari, D. dan W.G. Pliliang. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap Larva Udang *Artemia Salina*: Potensi Fitofarmaka pada Ikan. Berkala Perikanan Terubuk. 39 (1) : 91-100.

Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. JITV. 19(3): 168-175.

Susilawati, T. 2011. Spermatology. Universitas Brawijaya Press. Malang.

Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. UB Press: Malang.

Suteky, T., S. Kadarsih dan Y. Y. Novitasari. 2008. Pengaruh Pengencer Susu Skim dengan Sitrat Kuning Telur dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Semen Kambing Persilangan Nubian dengan Peranakan Ettawa. Jurnal Sains Peternakan Indonesia. 3(2): 81-88.

Utami, T. dan T. C. Tophianong. 2014. Pengaruh Suhu Thawing pada Kualitas Spermatozoa Sapi Pejantan Friesian Holstein. Jurnal Sain Veteriner. 32(1): 32-39.

Utomo, S dan Sumaryati. 2000. Pengaruh Suhu Penyimpanan 5°C terhadap Sperma Kambing dan Domba dengan Pengencer Susu Skim. Buletin Pertanian dan Peternakan. 8(2): 70-79.

Wati, D.K., Yuliani dan L.S. Budipramana. 2012. Pengaruh Pemberian Filtrat Daun Alang-Alang (*Imperata cylindrica* L.) terhadap Pertumbuhan Miselium Jamur *Trichoderma Sp.* yang Hidup pada Media Tanam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). LenteraBio. 1 (2): 93-98.

Widjaya, N. 2011. Pengaruh Pemberian Susu Skim dengan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Daya Tahan

Hidup Spermatozoa Sapi pada Suhu Penyimpanan 5°C. Sains Peternakan. 9 (2) :72-76.

Winarno. 1992. Fisiologi Lepas Panen. Fakultas Pertanian. IPB, Bogor.

Wiradimadja, R., H. Burhanuddin dan D. Saefulhadjar. 2010. Peningkatan Kadar Vitamin A pada Telur Ayam Melalui Penggunaan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dalam Ransum. Jurnal Ilmu Ternak. 10 (2) : 90-94.

Wiratri, V. B., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. Kualitas Semen Sapi Limousin Pada Pengencer yang Berbeda Selama Pendinginan. Jurnal Ternak Tropika. 15 (1): 13-20.

Zakir, M. I. 2010. Pengaruh Perbandingan Semen dengan Pengencer Campuran Sari Kacang Hijau-Sitrat dan Lama Penyimpanan terhadap Daya Hidup Spermatozoa Kambing Kacang (*Capra hircus*). Ziraa'ah. 28(2): 156 -161.

Zega, I., S. Ilyas dan S. Hutahaean. 2015. Kualitas Spermatozoa Sapi Limousin dalam Pengencer Two-Ste Extender dengan Suplementasi Kuning Telur Bebek Selama Penyimpanan pada Refrigerator. Jurnal Biosains. 1 (3): 66-72.

Zenichiro, K. Herliantien dan Sarastina. 2002. Instruksi Praktis Teknologi Prosesing Semen Beku Pada Sapi. Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Malang

Zuhra, C. F., J. Tarigan dan H. Sihotang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavanoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). Jurnal Biologi Sumatera. 3 : 7-10.

