

**KAJI BANDING KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI PEMBAWA
KROMOSOM Y DALAM PENGECER DENGAN LEVEL EKSTRAK
MENGKUDU YANG BERBEDA**

SKRIPSI

OLEH

EMANUEL S. CANDE
45 13 035 029



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BOSOWA
MAKASSAR**

2017

**KAJI BANDING KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI PEMBAWA
KROMOSOM Y DALAM PENGECER DENGAN LEVEL EKSTRAK
MENKUDU YANG BERBEDA**

SKRIPSI

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh

Gelar Sarjana (S1)

Pada

Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian

Universitas Bosowa Makassar

BOSOWA

OLEH

EMANUEL S. CANDE

45 13 035 029

**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BOSOWA
MAKASSAR**

2017

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Bali
Pembawa Kromosom Y dalam Pengencer dengan
Level Ekstrak Mengkudu yang Berbeda

Nama : Emanuel S. Cande

Stambuk : 45 13 035 029

Program studi : Produksi Ternak

Fakultas : Pertanian

Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh:

Dr. Ir. Sri Firmiaty, MP
Pembimbing I

Ir. Muhammad Idrus, MP
Pembimbing II

Diketahui Oleh:

Dr. Ir. Syarifuddin, S.Pt, MP
Dekan Fakultas Pertanian

Ir. Muhammad Idrus, MP
Ketua Jurusan

Pengesahan, 12 Oktober 2017

RINGKASAN

Emanuel S. Cande (45 13 035 029). Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Bali Pembawa Kromosom Y dalam Pengencer dengan Level Ekstrak Mengkudu (*Morinda Citrifolia Linn*) yang Berbeda di bawah bimbingan Sri Firmiaty sebagai pembimbing utama dan Muhammad Idrus sebagai pembimbing anggota.

Penambahan ekstrak mengkudu pada spermatozoa kromosom Y dapat meningkatkan kualitas sperma. Oleh karena itu, penelitian bertujuan untuk mengkaji motilitas spermatozoa pembawa kromosom Y dalam pengencer yang di beri ekstrak mengkudu sebanyak 3 % dan 5% ke dalam pengencer pada suhu penyimpanan 5⁰C selama 1 jam dan -196⁰C selama 24 jam.

Kegunaan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan motilitas spermatozoa pembawa kromosom Y dalam pengencer diberi ekstrak mengkudu sebanyak 3% dan 5% ke dalam pengencer pada suhu penyimpanan 5⁰C selama 1 jam dan -196⁰C selama 24 jam.

Hasil penelitian ini diolah dengan menggunakan uji Anova (One Way Anova) dengan tiga perlakuan yaitu perlakuan pertama pengencer tanpa penambahan ekstrak mengkudu ,perlakuan kedua penambahan ekstrak mengkudu sebanyak 3% dan perlakuan ketiga penambahan ekstrak mengkudu 5% .

Parameter yang diukur pada penelitian ini yaitu pada semen segar terdiri dari volume, pH, warna, bau, kekentalan, motilitas massa dan progresif sedangkan pada semen beku *post thawing* diamati motilitas total, motilitas progresif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa semen beku menggunakan pengencer andromed dengan suplemen ekstrak mengkudu lebih tinggi ($P<0,05$) dibanding dengan tanpa penambahan ekstrak mengkudu. Persentase hidup spermatozoa semen beku dengan menggunakan pengencer ekstrak mengkudu berbeda nyata ($P<0,05$) dibanding dengan tanpa penambahan ekstrak mengkudu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak mengkudu sebanyak 5% lebih baik dibandingkan dengan 3%,rataan molititas setelah PTM

Kata Kunci : Semen Beku, Ekstrak Mengkudu, Sapi Bali, Sexing.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat-Nya yang tak terhingga baik berupa kesehatan serta keselamatan, sehingga pada akhirnya penulisan karya ilmiah ini dapat diselesaikan. Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya utamanya penulis tujukan kepada:

1. Lembaga pendidikan perguruan tinggi Universitas Bosowa Makassar yang telah menerima, membimbing dan membentuk penulis dalam proses pendidikan.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. H. M. Saleh Pallu, M. Eng, selaku Rektor Universitas Bosowa Makassar.
3. Ibu Dr. Ir. Sri Firmiaty, M.P, selaku pembimbing utama yang dengan tulus hati telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dengan penuh pengertian, kesabaran, memberikan arahan, petunjuk serta motivasi selama penelitian dan penulisan skripsi.
4. Bapak Ir. Muhammad Idrus, M.P, selaku pembimbing anggota dan sekaligus ketua Jurusan Peternakan yang dengan tulus ikhlas, penuh pengertian dan kesabaran telah meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan petunjuk dan arahan serta motivasi kepada penulis selama masa studi dan penulisan skripsi.

5. Bapak Dr. Ir. Syarifuddin, S.Pt, MP, selaku Dekan Fakultas Pertanian, penasehat akademi sekaligus dosen penguji dalam ujian skripsi.
6. Bapak Dr. Ir. H. Abdul Khalik, M. Si., dan Ibu Dr. Ir. Asmawati Mudarsep, MP., selaku dosen penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menghadri ujian skripsi serta memberikan saran, petunjuk dan arahan dalam perbaiki penulisan skripsi.
7. Rasa sujud dan cinta ku persembahkan skripsi ini kepada Kedua orang tuaku tercinta Bapak Kornelius Nasur dan Mama Kornelia Senima sebagai orang tua yang dengan penuh cinta dan kasih sayang, melahirkan dan membesarkan penulis, dan telah memberikan curahan hati, nasihat, doa, motivasi dan dukungan finansial demi kelancaran proses pendidikan. K'Siska, K'Yohanes, K' Keresensia, K'Dominikus, Adik Bernike Has, Thito, penulis menghaturkan banyak terima kasih atas jerih payah dan seluruh dukungan yang diberikan baik dukungan doa, motivasi dan dana sehingga penulis mampu menyelesaikan studi.
8. Seluruh dosen dan staf yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dalam lingkup Jurusan Peternakan khususnya dan Fakultas Pertanian pada umumnya.
9. Ibu Ir. Hj. Sih Hening Idrawati dan Ibu Dra. Hermiati, yang selalu bersedia melengkapi dan menyelesaikan kepengurusan administrasi selama masa studi.

10. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Abd Latief Toleng, M. Sc., Bapak Dr. Ir. Nursyam, MP., Bapak Sahirudin Sabile, S. Pt, M. Si., yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran, dan tempat selama penelitian berlangsung.
11. Teman tim penelitian, saudara Ronaldus Basa, atas kerja sama yang baik sehingga proses penelitian berjalan dengan baik dan lancar.
12. Seluruh teman-teman seperjuangan angkatan tahun 2013 Jurusan Peternakan khususnya dan Fakultas Pertanian pada umumnya.
13. Adinda Tercinta Irha Ana Memok, yang telah membantu dan memberikan semangat selama proses penulisan skripsi.
14. Sahabat dan Saudara terdekat Fransiskus, Safio, Adi dll yang penulis tidak sempat sebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan motivasi dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.
15. Seluruh rekan-rekan mahasiswa (HIMAPET) Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, serta kepada semua pihak yang telah membantu tetapi penulis tidak dapat menyebutkan namanya satu persatu.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak atas dukungan moril serta pemikirannya dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bernilai positif bagi pembaca dan pengembangan ilmu peternakan khususnya peternakan sapi di Indonesia.

Makassar, 12 Oktober 2017

Penulis



**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI
DAN SUMBER INFORMASI**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul: Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Bali Pembawa Kromosom Y dalam Pengencer dengan Level Ekstrak Mengkudu (*Morinda Citrifolia Linn*) yang Berbeda di Universitas Bosowa Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan adalah benar merupakan hasil karya yang belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Semua sumber data dan informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan Dalam daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Makassar, 12 Oktober 2017

EMANUEL S. CANDE
45 13 035 029

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	I
HALAMAN PENGESAHAN	III
RINGKASAN	IV
KATA PENGANTAR	V
PERNYATAAN.....	IX
DAFTAR ISI	X
DAFTAR TABEL.....	XII
DAFTAR LAMPIRAN.....	XIII
BAB I Pendahuluan	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan dan Kegunaan	4
C. Hipotesis	5
BAB II Tinjau Pustaka	
A. Sapi Bali	6
B. Semen	11
C. Pengencer Semen	17
D. Ekstrak Buah Mengkudu	19
E. Sexing Sperma	22
BAB III Metode Penelitian	
A. Waktu dan Tempat	23
B. Alat dan Bahan	23
C. Materi Penelitian.....	23
D. Prosedur Penelitian.....	24
E. Pengamatan dan Analisis Data	28

BAB IV Hasil Dan Pembahasan

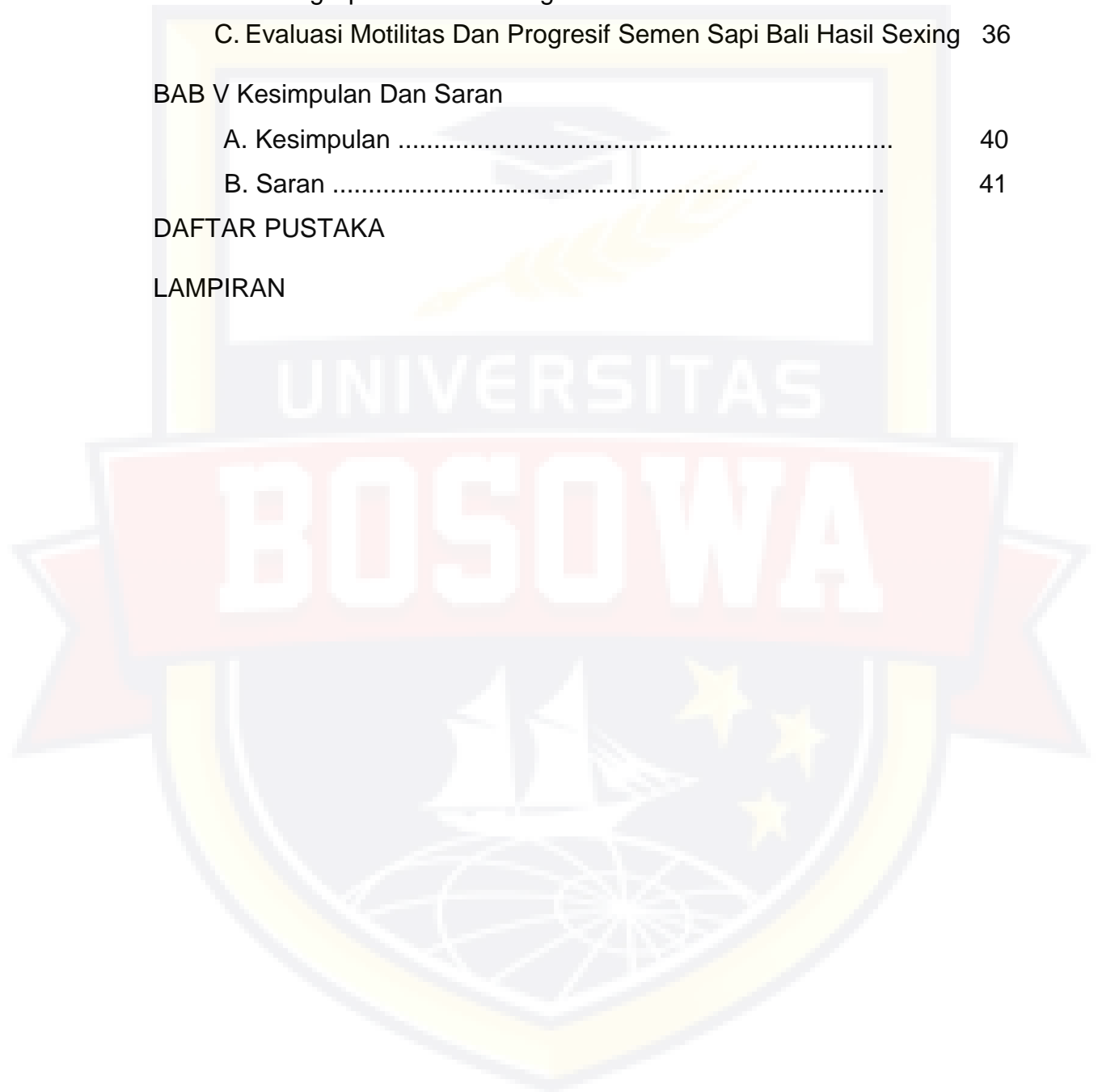
A. Karakteristik Semen Segar Sapi Bali.....	31
B. Sexing Spermatozoa Dengan Gradien Albumin Puti Telur.	35
C. Evaluasi Motilitas Dan Progresif Semen Sapi Bali Hasil Sexing	36

BAB V Kesimpulan Dan Saran

A. Kesimpulan	40
B. Saran	41

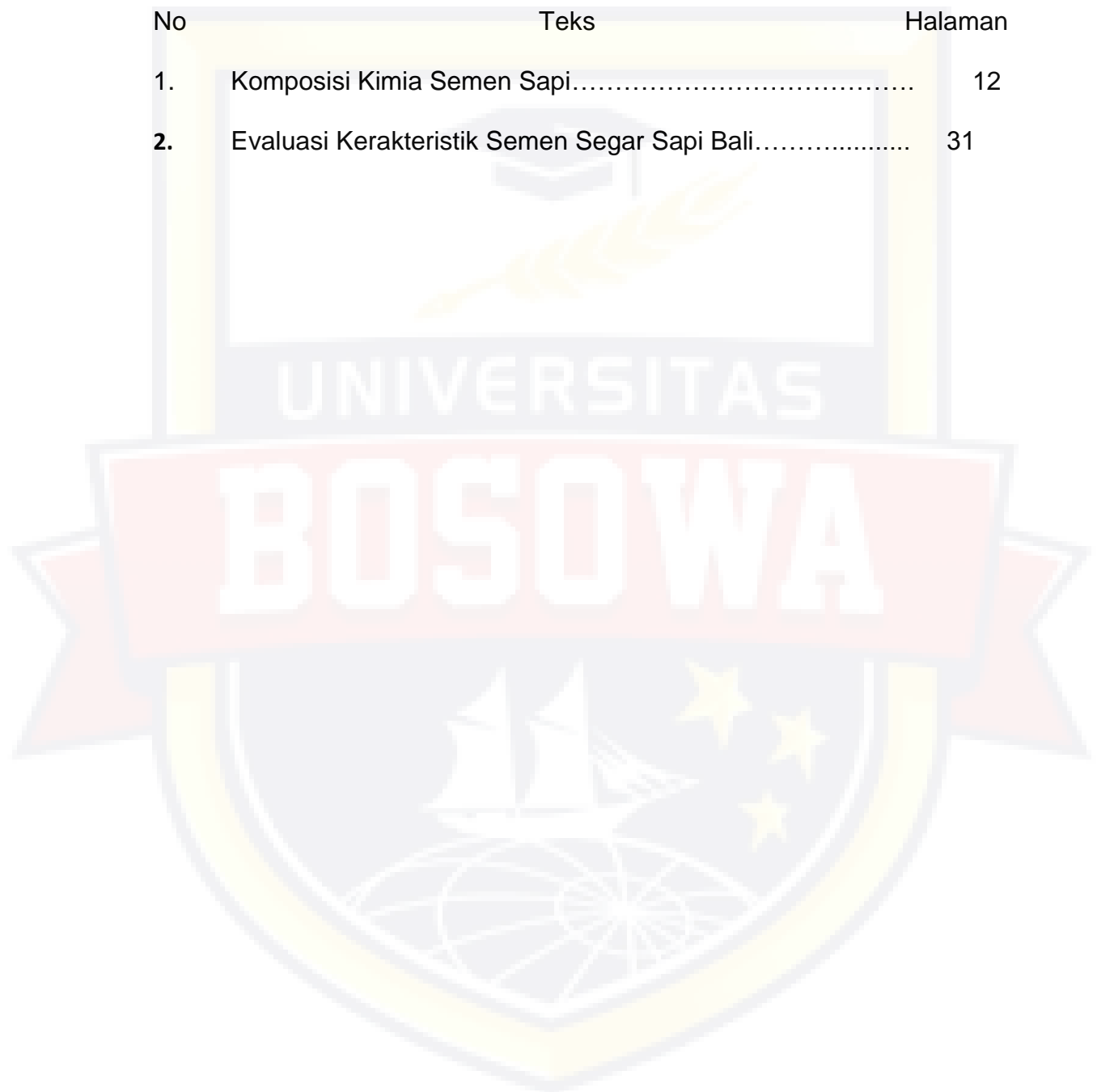
DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

No	Teks	Halaman
1.	Komposisi Kimia Semen Sapi.....	12
2.	Evaluasi Karakteristik Semen Segar Sapi Bali.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

No	Teks	Halaman
1.	Prosedur penelitian.....	49
2.	Evaluasi semen segar sapi bali.....	50
3.	Data motilitas spermatozoa.....	51
4.	Data progresif spermatozoa.....	52
5.	Uji statistik motilitas kromozom Y setelah sexing.....	53
6.	Uji statistik motilitas kromozom Y setelah equilibrasi.....	55
7.	Uji statistik motilitas kromozom Y setelah PTM.....	57
8.	Uji statistik progresif kromozom Y setelah sexing.....	59
9.	Uji statistik progresif kromozom Y setelah equilibrasi.....	61
10.	Uji statistik progresif kromozom Y setelah PTM.....	63

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Negara Indonesia merupakan salah satu negara agraris tropis terbesar di dunia setelah Negara Brasil, kawasan tersebut memiliki 27% luas zona tropis di dunia (Subianto, 2013 dalam Neonbasu, 2013). Posisi Indonesia dipengaruhi iklim tropis dapat membantu dalam meningkatkan produksi pangan nasional yang berdampak pada peningkatan ketahanan pangan nasional. Ketahanan pangan terdiri dari tiga sub sistem, yaitu ketersediaan pangan (*food availability*), aspek keterjangkauan (*access supplies*), Penyerapan pangan (*food utilization*). Pembangunan ketahanan pangan memerlukan keharmonisan dari ketiga sub sistem tersebut. Pembangunan sub sistem ketersediaan pangan diarahkan untuk mengatur kestabilan dan kesinambungan ketersediaan pangan, yang berasal dari produksi, cadangan, dan impor (Malik, 2014).

Salah satu pangan yang perlu dipenuhi adalah pangan protein asal hewani, yaitu daging sapi. Kebutuhan terhadap ternak sapi potong untuk memenuhi konsumsi daging sapi di Indonesia setiap tahun terjadi peningkatan, sejalan dengan bertambahnya jumlah penduduk, pendapatan dan kesejahteraan masyarakat serta semakin tinggi kesadaran masyarakat terhadap pentingnya kebutuhan protein hewani (Nuryadi dan Wahjuningsih, 2011). Seluruh kebutuhan daging secara nasional sebanyak 26,60% yang dipenuhi dari daging sapi (Guntoro,

2002). Sapi potong merupakan salah satu ternak yang secara nasional telah ditetapkan sebagai komoditas unggulan. Beberapa bangsa sapi potong yang ada di Indonesia antara lain yaitu sapi Madura, sapi Aceh, sapi Peranakan Ongole, sapi Peranakan Simmental dan sapi Peranakan Limousin serta sapi Bali.

Sapi Bali merupakan plasma nutfah asli Indonesia memiliki beberapa keunggulan, yaitu adaptasinya yang baik terhadap lingkungan baru baik terhadap suhu udara, kelembapan, angin maupun kondisi lahan, pakan dan penyakit. Fertilitas sapi Bali rata-rata 83% artinya setiap perkawinan memberi peluang kebuntingan 83%. Persentase produksi karkas juga tinggi 56% sehingga cocok untuk dikembangkan sebagai sapi potong (Guntoro, 2002). Populasi sapi Bali saat ini mencapai 3,2–3,3 juta ekor yang tersebar luas di wilayah Indonesia seperti Pulau Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Selatan, Kalimantan Selatan, Lampung dan Sumatera Selatan (Darna, 2013). Upaya pengembangan sapi Bali perlu diperhatikan guna menunjang pemenuhan kebutuhan konsumsi di dalam negeri. Hal ini mengingat bahwa sapi bali mempunyai beberapa keunggulan, antara lain dalam hal adaptasi dengan kondisi lingkungan yang minimal, kemampuan reproduksi yang tinggi dan kualitas karkas yang baik (Hardjosubroto, 1994).

Salah satu cara untuk mewujudkan program swasembada daging sesuai Peraturan Menteri Pertanian Nomor: 19/Permentan / OT.140/2/2010 adalah melalui teknologi reproduksi yaitu Inseminasi Buatan (IB).

Keberhasilan IB sangat ditentukan oleh kualitas semen yang ada, keterampilan inseminator, pengetahuan peternak deteksi berahi, kondisi reproduksi betina, dan tidak kalah penting *handling* semen beku (Arifiantini dkk., 2006). Sependapat Susilawati dkk. (1993) bahwa berhasilnya suatu program kegiatan inseminasi buatan (IB) pada ternak tidak hanya ditentukan pada kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan seekor pejantan, tetapi tergantung juga pada kesanggupan untuk mempertahankan kualitas dan memperbanyak volume semen tersebut setelah ejakulasi sehingga lebih banyak betina ekseptor yang akan diinseminasi. Program IB akan lebih berdaya guna apabila dilakukan sexing sperma. Sexing sperma adalah proses pemisahan spermatozoa kromosom (X) dan (Y) yang merupakan salah satu teknologi untuk memperoleh kelahiran pedet sesuai dengan yang diinginkan (Susilawati, 2002).

Penerapan bioteknologi ini sering kali mengalami kendala yaitu penurunan kualitas spermatozoa setelah pemisahan akibat terjadinya proses metabolisme, sehingga banyaknya energi yang digunakan untuk bergerak menyebabkan motilitas akan menurun dan kemungkinan terjadi penurunan sifat-sifat fisiologis spermatozoa (Sonjaya dkk., 2005). Seiring pendapat Susilawati (2014) bahwa proses sexing sperma dapat mengakibatkan penurunan kualitas dan motilitas akibat terjadi gesekan dengan medium pemisah sexing dan perlakuan sensifugasi. Dinyatakan oleh Bearden dan Fuquay (1984) bahwa dengan adanya proses

metabolisme secara terus menerus akan menyebabkan penimbunan asam laktat sehingga akan menurunkan pH dan motilitas spermatozoa juga akan menurun (de Graaf *et al.*,2009). Proses penyimpanan sperma pada suhu -196⁰C dapat menyebabkan penurunan motilitas sperma akibat proses pembekuan.

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan penambahan zat tertentu yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa yang mengandung antioksidan, antara lain adalah ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn). Kandungan nutrisi dalam buah mengkudu adalah protein, mineral (Se), vitamin C sebagai antioksidan dan asam lemak rantai pendek yang menyebabkan bau menyengat (Amar dkk, 2004). Selain kandungan nutrisi di atas buah mengkudu juga mengandung asam askorbat bermanfaat sebagai antioksidan yang dapat menetralsasi radikal bebas, yaitu partikel-partikel berbahaya yang dapat merusak materi genetik dan merusak sistem kekebalan tubuh (Dewi, 2012).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) ke dalam pengencer sperma hasil sexing yang disimpan pada suhu -196⁰C selama 24 jam.

B. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak mengkudu ke dalam pengencer terhadap motilitas spermatozoa

sapi Bali hasil sexing dengan suhu penyimpanan -196°C selama 24 jam.

Kegunaan dari penelitian ini adalah:

1. Diketahui manfaat ekstrak mengkudu terhadap motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa berkromosom (Y) yang disimpan pada suhu -196°C selama 24 jam.
2. Mengetahui motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa pembawa kromosom (Y) dalam pengencer yang diberi ekstrak mengkudu pada suhu penyimpanan -196°C selama 24 jam.
3. Sebagai informasi ilmiah dan sumbangsih untuk pengembangan ilmu pengetahuan dalam bidang peternakan tentang pengaruh penambahan ekstrak mengkudu dalam pengencer guna meningkatkan motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa sapi Bali hasil sexing dengan suhu penyimpanan -196°C selama 24 jam.

C. Hipotesis

Terdapat perbedaan antara motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa pembawa kromosom Y yang diberi ekstrak mengkudu dengan level berbeda pada suhu penyimpanan -196°C selama 24 jam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Sapi Bali

Sapi Bali merupakan keturunan dari sapi liar yang disebut banteng (*Bos sondaicus*) yang telah mengalami proses domestikasi selama ratusan tahun (Siregar, 2010). Sapi Bali (*Bos sondaicus*) merupakan salah satu sapi potong asli Indonesia hasil domestikasi dari banteng (*Bos-bibos banteng*) dan memiliki potensi yang besar untuk menyuplai kebutuhan protein masyarakat Indonesia. Sapi Bali tersebar luas di seluruh wilayah Indonesia dan mendominasi wilayah Sulawesi Selatan, Timor, Bali dan Lombok (Chamdi, 2005). Sapi Bali juga diekspor ke beberapa negara seperti: Malaysia, Filipina, Hawaii, dan beberapa sapi Bali juga dikembangkan di Australia Utara (Reksohadiprodo, 1995).

Sapi Bali merupakan salah satu sapi lokal Indonesia yang cukup penting, sehingga upaya pengembangannya perlu diperhatikan guna menunjang pemenuhan kebutuhan konsumsi di dalam negeri. Hal ini mengingat bahwa sapi Bali mempunyai beberapa keunggulan, antara lain beradaptasi dengan kondisi lingkungan minimal, kemampuan reproduksi tinggi dan kualitas karkas yang baik (Hardjosubroto, 1994). Seiring pendapat Purwanti dan Harry (2006) bahwa sapi Bali cukup potensial untuk dikembangkan karena memiliki kemampuan adaptasi yang cukup baik serta memiliki produktivitas tinggi.

Sapi Bali merupakan plasma nutfah asli Indonesia yang memiliki beberapa unggulan, yaitu adaptasinya yang baik terhadap lingkungan baru, baik terhadap suhu udara, kelembapan, dan angin maupun kondisi lahan, pakan dan penyakit. Fertilitas sapi Bali rata-rata 83% artinya setiap perkawinan memberi peluang kebuntingan 83%. Persentase produksi karkas juga tinggi (56%) sehingga cocok untuk dikembangkan sebagai sapi potong (Guntoro, 2002). Keadaan kondisi lahan yang kering dan tandus seperti Nusa Tenggara Timur, tingkat fertilitas sapi Bali sekitar 75% (Fattah, 1998).

Sapi Bali termasuk ternak yang fertil atau subur. Fertilitasnya lebih banyak dipengaruhi oleh panjangnya masa berahi, sehingga kemampuan sapi Bali menghasilkan anak (pedet) dalam setahun relatif tinggi, berkisar antara 80-86%. Jarak untuk menghasilkan anak berkisar antara 12-14 bulan. Angka kematian relatif rendah, yaitu 1,87% (Bandini, 2004 dan Susilorini dkk. 2011). Pertumbuhan fetus pada sapi Bali mulai meningkat pada umur kebuntingan tujuh bulan. Tambahan berat fetus jantan dan betina masing-masing 12,4 kg dan 11 kg atau identik dengan 2/3 berat lahir (Djagra dan Budiarta, 1990). Berat lahir pada sapi Bali jantan dan betina masing-masing 24,0 kg dan 12,0 kg (Pane, 1990).

Sapi Bali memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

- Phylum : *Chordata*,
- Sub-phylum : *Vertebrata*,
- Class : *Mamalia*,

Ordo : *Artiodactyla*,

Sub-ordo : *Ruminantia*,

Family : *Bovidae*,

Genus : *Bos*

Species : *Bos sondaicus* (Williamson dan Payne, 1993)

Ciri-ciri sapi Bali, yaitu bulu berwarna merah keemasan, pada jantan akan menjadi hitam ketika dewasa, dari lutut ke tungkai berwarna putih dan bagian pantat berwarna putih setengah lingkaran, ujung ekor berwarna hitam, serta terdapat garis belut warna hitam di punggung sapi betina. Kepala pendek dengan dahi datar. Sapi Bali jantan memiliki tanduk panjang dan besar yang tumbuh ke belakang dan sapi Bali betina memiliki tanduk pendek dan kecil (Fikar dan Ruhyadi, 2012). Sapi Bali juga terdapat warna putih di bibir bawah, tepi daun telinga, dan dalam daun telinga. Tinggi sapi Bali dewasa 130 cm. Berat badan 300-450 kg (Sumoprastowo, 2009 dan Herlambang, 2014).

1. Organ Reproduksi Jantan

Organ reproduksi hewan jantan dapat dibagi atas tiga komponen utama Toelihere (1993) yaitu:

- a. Organ kelamin primer, yaitu testis, berbentuk oval memanjang dan pada sapi dewasa, panjangnya 12-16 cm, diameter 6-8 cm serta beratnya mencapai 300-500 gr tergantung pada umur, berat badan, dan bangsa sapi (Feradis_a, 2010).

b. Kelenjar kelamin pelengkap yaitu : kelenjar asesoris (kelenjar vasicularis, kelenjar prostat, dan kelenjar cowper) dan saluran reproduksi (epididymis dan vas deferen).

c. Kelenjar asesoris terbagi atas tiga bagian yaitu kelenjar vesicula seminalis, kelenjar prostata dan kelenjar cowper. Kelenjar vesicular seminalis berfungsi sebagai penghasil energi dan memberi nutrisi untuk menghasilkan sperma. Kelenjar prostata berfungsi untuk menyeimbangkan ion dalam tubuh agar tidak hipotonis dan hipertonis. Kelenjar cowper berfungsi sebagai buffer (penyangga) yaitu menetralkan suasana tubuh agar tidak terlalu asam atau terlalu basa karena sperma akan mati apabila berada pada suasana asam atau basa. Fungsi kelenjar cowper yang lain yaitu untuk membersihkan sisa urin. Hal ini sesuai dengan pendapat Hardjoprano (1995) yang menyatakan bahwa kelenjar asesoris terdiri dari kelenjar-kelenjar vesicula seminalis, prostata, bulbo-uretralis (cowper's gland). Dinyatakan Akoso (2008) bahwa kelenjar prostata terletak sepanjang uretra, kelenjar ini mengeluarkan cairan yang ditumpahkan ke dalam kelenjar bulbo-uretralis untuk memungkinkan lewatnya sekresi testikular dan memberi nutrisi cairan sperma, berfungsi mengaktifkan dan menggerakkan.

2. Saluran Reproduksi Ternak Jantan:

1. Epididymis

Epididymis adalah alat reproduksi jantan yang memiliki fungsi sebagai alat transport (pengangkut), maturasi (pematangan) dan penyimpanan sperma. Epididymis berbentuk memanjang dan letaknya setelah testis yang terdiri atas tiga bagian utama yaitu: kepala (caput), badan (corpus) dan ekor (cauda) (Nuryadi, 2013).

2. Vas Deferens

Vas deferens adalah sepasang saluran yang berfungsi sebagai pengangkutan sperma menuju uretra (Blakely dan Bade, 1992). Sependapat Akoso, (2008), bahwa saluran deferens merupakan pipa berotot berdinding tebal yang mengangkut sperma keluar dari testis. Pada saat ejakulasi mendorong spermatozoa dari epididymis ke duktus ejakulatoris dalam uretra prostatik.

3. Urethra

Urethra merupakan saluran yang berfungsi sebagai tempat lewatnya urine dan semen. Urethra membentang dari daerah pelvis ke penis dan berakhir pada ujung glands. Fungsi penis adalah sebagai wadah menyalurkan spermatozoa ke dalam saluran reproduksi hewan betina (Blakely dan David, 1998).

4. Alat klatin luar (organ kopularitoris) yaitu penis. Hasil sekresi organ reproduksi ternak jantan yang secara normal diejakulasikan melalui

penis ke dalam saluran kelamin betina sewaktu terjadi kopulasi disebut semen.

B. Semen

Semen merupakan cairan yang diproduksi oleh organ genitalia jantan dan diejakulasikan keluar dari tubuh untuk membuahi sel telur. Semen mengandung spermatozoa dan sejumlah suspensi kimia (Nogroho, 2015) Ditambahkan oleh Waluyo (2014) bahwa semen adalah zat cair yang dikeluarkan tubuh melalui penis, sewaktu kopulasi, terdiri atas sel hidup dan bergerak yang disebut spermatozoa dan seminal plasma atau zat cair yang berfungsi sebagai media hidup sel spermatozoa. Semen menurut Toelihere (1993) adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan Inseminasi Buatan (IB).

Semen terdiri atas sel spermatozoa dan cairan seminal. Spermatozoa dibentuk dalam testis dan disimpan dalam epididimis, sedangkan cairan seminal dikontribusikan oleh organ kelamin tambahan (Sonjaya, 2012). Seiring pendapat Partodihardjo (1992), bahwa seminal plasma adalah bagian yang tidak bersel. Sekitar 90% dari seminal plasma berupa sekresi dari epididimis, vas deverens, kelenjar prostat, dan vesika seminalis, serta kelenjar cowper.

Seminal plasma sangat berpengaruh terhadap sifat fisik dan kimia semen yang berguna sebagai *buffer* dan medium bagi spermatozoa agar dapat bertahan lama setelah ejakulasi (Toelihere, 1993).

Seminal plasma mempunyai tiga fungsi dasar yaitu:

1. Sebagai motor pergerakan spermatozoa, transportasi spermatozoa dalam saluran reproduksi betina.
2. Sebagai suatu medium aktivasi untuk spermatozoa yang sebelumnya non motil.
3. Sebagai suatu buffer, medium yang kaya nutrisi untuk kehidupan spermatozoa setelah didepositkan ke dalam alat kelamin betina.

Seminal plasma mengandung komponen kimia yang spesifik antara lain fruktosa, asam sitrat, glyceryl phosphorylcholine (GPC), ergothionine, inositol dan sorbitol yang merupakan larutan isotonik, medium netral dan sumber energi bagi kelangsungan hidup spermatozoa, serta mengandung phospholipids, prostaglandin dan protein (Evans *and* Maxwell, 1990).

Tabel 1. Komposisi Kimia Semen Sapi

No	Bahan	Mg/100 ml
1	Fruktosa	530
2	Sorbitol	75
3	Gliserol fosporil chrom	350
4	Mositol	35
5	Asam sitrat	720
6	Plasmogen	60
7	Sodium	250
8	Potasium	140
9	Chlor	180
10	Kalsium	44
11	Magnesium	8

Sumber : Hafez (1980)

1. Morfologi Spermatozoa

Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi dalam tubuli seminiferi (Nuryadi, 2014). Spermatozoa adalah sel gamet jantan diproduksi pada proses spermatogenesis terjadi di tubulus seminiferus yang terletak dalam testes (Susilawati, 2011).

Tahap pembentukan spermatozoa dibagi atas tiga tahap, Yatim (1990) yaitu:

a. Spermatocytogenesis.

Spermatogonia mengalami mitosis berkali-kali yang akan menjadi spermatosit primer. Spermatogonia merupakan struktur primitif dan dapat melakukan reproduksi (membelah) dengan cara mitosis. Spermatogonia ini mendapatkan nutrisi dari sel-sel sertoli dan berkembang menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer mengandung kromosom diploid ($2n$) pada inti selnya dan mengalami meiosis. Satu spermatosit akan menghasilkan dua sel anak, yaitu spermatosit sekunder.

b. Tahapan Meiosis

Spermatosit I (primer) menjauh dari lamina basalis, sitoplasma makin banyak dan segera mengalami meiosis I yang diikuti dengan meiosis II. Sitokenesis pada meiosis I dan II ternyata tidak membagi sel benih yang lengkap terpisah, tapi masih berhubungan sesama lewat suatu jembatan (Interceluler

bridge), apabila dibandingkan dengan spermatisit I, spermatisit II memiliki inti yang gelap.

c. Tahapan spermiogenesis

Tahapan spermiogenesis merupakan transformasi spermatid menjadi spermatozoa yang meliputi empat fase yaitu fase golgi, fase tutup, fase akrosom dan fase pematangan.

Spermatozoa masak terdiri dari :

- a). Kepala (caput), tidak hanya mengandung inti (nukleus) dengan kromosom dan bahan genetiknya, tetapi juga ditutup oleh akrosom mengandung enzim hialuronidase yang mempermudah fertilisasi ovum.
- b) Leher (servix), menghubungkan kepala dengan badan.
- c) Badan (corpus), bertanggung jawab untuk memproduksi tenaga yang dibutuhkan untuk motilitas.
- d) Ekor (cauda), berfungsi untuk mendorong spermatozoa masuk ke dalam vas defern dan ductus ejakulotorius.

Semen yang baik dapat dilihat dari motilitas dan viabilitas spermatozoa, sehingga dapat ditentukan layak atau tidak semen tersebut untuk diproses menjadi semen cair maupun semen beku untuk keperluan IB.

2. Motilitas Spermatozoa

Spermatozoa dilihat motilitas atau daya gerakanya yang bertujuan untuk mengetahui layak dan tidak layaknya semen untuk

IB. Ekor spermatozoa mengandung semua sarana yang perlu untuk motilitas. Kesembilan fibril - fibril besar di bagian luar ekor merupakan elemen-elemen kontraktile dan sanggup menyebarkan kontaksi – kontraksi lokal menyusuli panjangnya. Fibril - fibril kecil dan bagian dalam dikhususkan untuk penyampaian cepat impuls - impuls yang timbul secara ritmik pada pangkal dan mengkoordinir kontraksi – kontraksi lokal oleh fibril – fibril luar (Feradis_b, 2010).

Uji kualitas semen dilakukan segera setelah penampungan atau sebelum diencerkan yang meliputi pemeriksaan makroskopis: volume, warna, konsentrasi, pH, bau, dan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi: motilitas total, motilitas progresif, persentase hidup-mati (viabilitas), konsentrasi dan abnormalitas (Susilawati, 2011).

Volume semen sapi bervariasi setiap penampungan antara 5-15 mili liter atau 5-8 mili liter (Lindsay dkk., 1982 dan Garner and Hafez, 2008).

Spermatozoa mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama dalam kelompok (motilitas massa) sehingga membentuk gelombang- gelombang tebal atau tipis. Berdasarkan penilaian gerakan massa, kualitas semen dibagi dalam kategori: sangat baik (+++), baik (++) , cukup (+) dan jelek (N, necrospermia atau 0) (Toelihere, 1993).

Pergerakan spermatozoa bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu 37°C berkisar antara 10 sampai 352, rata-rata 100 mikron per detik. Kecepatan ini tidak cukup untuk menyelusuri saluran kelamin betina sampai mencapai tempat pembuahan di tuba fallopi, namun motilitas atau pergerakan spermatozoa sendiri mungkin memegang peranan penting sewaktu pertemuannya dengan ovum (Toelihere, 1993).

3. Kualitas Spermatozoa

Spermatozoa dilihat motilitasnya atau daya gerakannya yang bertujuan untuk mengetahui layak dan tidak layaknnya semen untuk IB. Ekor spermatozoa mengandung semua sarana yang perlu untuk motilitas. Kesembilan fibril-fibril besar dibagian luar ekor merupakan elemen-elemen kontraktile dan sanggup meyebarkan kontraksi-kontraksi lokal menyusuli panjangnya. Fibril-fibril kecil dan bagian dalam dikhususkan untuk penyampaian cepat impuls-impuls yang timbul secara ritmik pada pangkal dan mengkoordinir kontraksi lokal oleh fibril-fibril luar (Feradis, 2010).

Spermatozoa mempunyai kecendrungan bergerak bersama-sama dalam kelompok (motilitas massa) sehingga membentuk gelombang-gelombang tebal atau tipis. Berdasarkan penilaian gerakan massa, kualitas semen dibagi dalam kategori: +++ (3) adalah gerakan massa yang paling baik yang ditandai dengan gelombang besar, gelap bergerak cepat, dan berpindah-pindah tempat. ++ (2) adalah gerakan massa yang

baik ditandai dengan gelombang besar, tipis, dan bergerak lambat. + (1) adalah gerakan massa yang kurang baik ditandai dengan gelombang tipis dan jarang (Afriantini dkk., 2006).

Terdapat tiga tipe pergerakan spermatozoa yaitu pergerakan progresif (maju ke depan), pergerakan rotasi (gerakan berputar) dan osilator atau tanpa pergerakan ke depan atau perpindahan posisi. semen setelah ditampung dan telah dievaluasi maka dilakukan pengenceran agar didapat jumlah yang lebih banyak (Evans dan Maxwell, 1987).

C. Pengenceran Semen

Pengenceran adalah proses lanjutan dalam pembuatan semen beku yaitu dengan menambahkan bahan-bahan yang menunjang hidup semen selama dibekukan. Pengenceran semen dilakukan karena volume semen sapi berkisar 4-8 ml, sedangkan inseminasi menggunakan volume 0,25 ml, sehingga semen yang dihasilkan dalam satu ejakulasi dapat digunakan untuk menginseminasi sejumlah hewan betina sedang berahi (Susilawati, 2013).

1. Fungsi Pengencer (Waluyo, 2014) adalah:

- a. Menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa.
- b. Melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*.
- c. Mempertahankan suatu penyanggahan untuk mencegah perubahan pH.

d. Mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan alektrolit yang sesuai.

e. Mencegah pertumbuhan kuman.

f. Memperbanyak volume semen

2. Syarat- syarat pengencer

Pengencer yang baik memenuhi syarat-syarat Feradis (2010) sebagai berikut:

a. Bahan pengencer hendaknya murah, sederhana dan praktis dibuat tetapi mempunyai daya preservasi yang tinggi.

b. Pengencer harus mengandung unsur-unsur yang sama sifat fisik dan kimianya dengan semen dan tidak boleh mengandung zat-zat toksik atau bersifat racun baik terhadap spermatozoa maupun terhadap saluran kelamin betina.

c. Pengencer harus tetap mempertahankan dan tidak membatasi daya fertilisasi spermatozoa. Pengencer tidak boleh terlalu kental sehingga menghalangi pertemuan antara spermatozoa dan ovum serta menghambat fertilisasi.

d. Pengencer harus memberi kemungkinan penilaian spermatozoa sesudah pengenceran. Sebaiknya sesudah pengenceran, pergerakan spermatozoa masih dapat terlihat dengan mudah agar dapat ditentukan nilai semen tersebut.

3. Bahan pengencer

Bahan Pengencer yang baik menurut Salisbury *and* Van

Demark (1985) adalah:

- a. Mempunyai tekanan osmosa isotonis dan dapat mempertahankan tekanan isotonis itu selama penyimpanan.
- b. Memberikan imbangan unsur mineral yang dibutuhkan untuk kehidupan spermatozoa.
- c. Menyediakan bahan makanan bagi spermatozoa untuk proses metabolisme.
- d. Memiliki lipoprotein atau lesitin untuk melindungi sel spermatozoa terhadap kejutan dingin.
- e. Menyediakan penyanggah terhadap produksi air metabolisme yang bersifat racun terhadap spermatozoa.
- f. Merupakan sumber bahan reduksi untuk melindungi enzim seluler yang mengandung *sulphydryl*. Bebas dari substansi organisme penyakit menular yang berbahaya terhadap spermatozoa, alat-alat reproduksi betina, proses fertilisasi implantasi dan pengembangan ovum yang difertilisasi.

Semen segar setelah diberi pengencer dapat dilakukan sexing sperma, sehingga dapat diperoleh semen yang banyak mengandung kromosom (X) atau (Y).

E. Ekstrak Buah Mengkudu

Mengkudu merupakan jenis tanaman yang umumnya memiliki batang pendek dan banyak cabang dengan ketinggian pohon sekitar 3-8 m di atas permukaan tanah serta tumbuh secara liar di hutan-hutan, tegalan, pinggiran sungai, dan pekarangan. Mengkudu dapat tumbuh di berbagai tipe lahan dan iklim pada ketinggian tempat dataran rendah sampai 1.500 m di atas permukaan laut dengan curah hujan 1500–3500 mm/tahun, pH tanah 5-7, suhu 22-30⁰C dan kelembaban 50-70% (Rukmana, 2002).

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) tanaman obat yang sudah dimanfaatkan sejak zaman purba. Pada 100 tahun Sebelum Masehi (SM) penduduk Asia Tenggara telah memanfaatkan tanaman mengkudu sebagai obat di negeri Cina (Kandi, 2009).

Mengkudu termasuk tumbuhan keluarga kopi-kopian (*Rubiaceae*), yang pada mulanya berasal dari wilayah daratan Asia Tenggara dan kemudian menyebar sampai ke Cina, India, Filipina, Hawaii, Tahiti, Afrika, Australia, Karibia, Haiti, Fiji, Florida dan Kuba (Sjabana dan Ramadhani, 2002).

Buah mengkudu mengaandung protein, vitamin, dan mineral penting tersedia dalam jumlah cukup pada buah dan daun mengkudu selenium salah satu mineral yang terdapat pada mengkudu yang merupakan antioksidan yang hebat. Xeroinine proxeroinine Salah satu alkaloid yang terdapat di dalam buah mengkudu adalah xeroinine. Buah

mengkudu hanya mengandung sedikit xeroinine, tetapi banyak mengandung bahan pembentuk (precursor) xeroinine alias proxeroinine dalam jumlah besar .

Proxeinine adalah sejenis asam nukleat seperti koloid koloid lainnya. Xeroinine diserap sel-sel tubuh untuk mengaktifkan protein-protein yang tidak aktif, mengatur struktur tubuh yang tidak aktif (Wikipedia 2017).

Zat-zat nutrisi yang terkandung dalam buah mengkudu terdiri atas protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin (Jones, 2000). Komposisi yang terkandung dalam buah mengkudu, yaitu protein 16,7%, lemak 2,06%, serat kasar 33,7%, air 8,7%, abu 5,4%, calsium 0,08%, phospor 0,076%, dan energi metabolisme 3183 kkal/kg (Susanti, 2002 dan Amin, 2003).

Mengkudu mengandung zat makanan (fito-nutrien) yang dibutuhkan tubuh seperti protein, vitamin, mineral, sumber energi dan berbagai jenis gula. Buah mengkudu adalah buah yang sangat baik untuk meningkatkan daya tahan tubuh, meningkatkan nafsu makan dan menurunkan lemak (Mursito 2002). Ditambahkan oleh Purbaya (2002) bahwa mengkudu dapat meningkatkan daya tahan tubuh, memperbaiki kelenjar yang rusak atau terganggu, mengatur siklus energi tubuh, mengatur temperatur tubuh dan mencegah stress.

Sederetan kandungan antioksidan dalam buah mengkudu, antara lain: vitamin C, scopoletin, nitric oxide dan vitamin A (Sjabana dan

Ramadhani, 2002). Buah mengkudu mengandung zat aktif xeronine yang mampu menurunkan lemak dan kadar kolesterol (Salleh *et al.*, 2002). Xeronine mempunyai aktivitas tinggi pada pembentukan protein untuk hormon, antara lain yaitu hormon Insulin yang dapat meningkatkan jumlah reseptor LDL (*low density lipoprotein*) hepatic dan ekstra hepatic (Heinicke, 2001 dan Linder, 1992).

Kandungan Se, vitamin C dan xeronin dalam buah mengkudu diharapkan dapat mengurangi jumlah radikal bebas dalam spermatozoa yang disimpan pada suhu -196°C selama 24 jam.

E. Sexing Sperma

Sexing sperma merupakan proses pemisahan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dan betina. Teknologi ini bertujuan untuk memenuhi permintaan peternak terhadap anak sapi jantan potong, karena harga jualnya lebih tinggi jika dibanding dengan anak sapi betina. Pemisahan spermatozoa (X) dan (Y) bermanfaat untuk menghasilkan pedet jantan ataupun penghasil pedet betina yang dijadikan sebagai induk, penghasil susu maupun daging (Hafez *et al.*, 1993). Waktu pembuahan sel telur dan spermatozoa masing - masing dalam bentuk haploid (setengah dari jumlah kromosom), saling melebur dan terjadilah zigot (sel telur yang sudah dibuahi) dengan jumlah kromosom yang lengkap (Toelihere,1993).

Fertilisasi spermatozoa yang mengandung kromosom (X) atau (Y) membuahi sel telur mempunyai kesempatan yang sama, yaitu masing-

masing 50%. Proses fertilisasi spermatozoa dengan kromosom (X) berhasil masuk ke dalam sel telur, maka zygot yang terbentuk mengandung dua kromosom (X) dan menjadi hewan betina. Sebaliknya spermatozoa dengan kromosom (Y) membuahi sel telur, terjadilah kombinasi kromosom (X) dan (Y) dimulailah pembentukan hewan jantan (Susilawati, 2003).

Semen setelah ditambahkan bahan pengencer dapat disimpan dalam suhu 5°C yang biasa disebut semen cair dan suhu -196°C disebut semen beku.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium *Processing* Semen Universitas Hasanuddin Makassar untuk proses pembuatan semen Beku. Pengambilan sampel semen sapi Bali dilakukan di Samata Integrated Farming System (SIFS), Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan yang berlangsung pada bulan Agustus-September 2017.

B. Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: vagina buatan (VB), *CASA (Computer Assisted Sperm Analysis)*, *water bath*, mikroskop elektrik, kertas lakmus (kertas pH), *handy counter*, vortex, *haematocytometer*, timbangan digital, thermometer, pipet, *object glass*, *cover glass*, ember, refrigerator, tabung reaksi, corong, tissue, kertas saring, rak tabung, glass ukur, aluminium foil, kertas label, pinset, sentrifus,

Bahan yang digunakan meliputi : dua ekor Sapi Bali berumur sekitar 3 - 5 tahun, semen Sapi Bali, ekstrak mengkudu, alkohol, vaselin, air panas 50-60⁰C, aquades, eosin, pengencer andromed, dan telur ayam kampung.

C. Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel semen sapi bali berumur 3-5 tahun sebanyak 2 (dua) ekor. Sampel semen segar yang digunakan

dalam penelitian ini dengan motilitas $\geq 70\%$ dan gerak masa (++) dengan konsentrasi $500 \times 10^6 / \text{ml}$, semen tersebut dibagi dalam 3 (tiga) perlakuan yaitu:

- Perlakuan I : Tanpa ekstrak mengkudu (kontrol).
- Perlakuan II : Suplementasi ekstrak mengkudu 3% ke dalam pengencer.
- Perlakuan III : Suplementasi ekstrak mengkudu 5% ke dalam pengencer

Semua perlakuan dilakukan sebanyak 5 (lima) kali ulangan.

D. Prosedur Penelitian

1. Penampungan Semen

a. Persiapan Vagina Buatan (VB)

Vagina buatan yang telah disiapkan dilengkapi dengan termometer, vaselin, air panas dan pemompa.

b. Perlakuan sebelum penampungan:

Sebelum dilakukan penampungan sapi terlebih dahulu dimandikan dan diberi pakan secukupnya. Tujuan dimandikan ini adalah untuk menghindari terjadinya kontaminasi penis dengan kotoran, khususnya pada bagian perut bawah.

c. Proses Penampungan

Penampungan semen berlangsung pada pagi hari.

Prosedur penampungan semen yaitu sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan sapi pemancing pada kandang jepit.
- 2) Mendekatkan pejantan yang akan ditampung pada sapi pemancing, biarkan pejantan menaiki sapi pemancing minimal 2-4 kali dengan tujuan untuk meningkatkan libidonya.
- 3) Dilakukan penampungan semen.
- 4) Semen yang tertampung, langsung dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi.

2. Evaluasi Semen

Setelah penampungan dilakukan evaluasi terhadap semen, yang terdiri dari dua tahap yaitu:

a. Pengamatan Secara Makroskopis.

Pengamatan ini meliputi, yaitu:

- 1) Volume (ml)
- 2) Kekentalan /konsistensi
- 3) Warna
- 4) Derajat keasaman (pH)
- 5) Bau

b. Pengamatan Secara Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis, yaitu:

- 1) Gerakan massa.

Diamati dengan meneteskan sperma ke atas objek glass dan di bawah mikroskop.

2) Gerakan Individu

Diamati dengan meneteskan sperma ke atas objek glass kemudian menutupinya dengan cover glass dan diamati di bawah mikroskop.

3) Motilitas sperma

Motilitas dilihat dengan menggunakan CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*). Perhitungan motilitas spermatozoa ini menggunakan aplikasi komputer yaitu *Sperm Vision*.

3. Proses Pembuatan Pengencer

Pengencer dibuat dengan mencampurkan Andromed dengan aquades dengan perbandingan 1:4 (1 ml andromed : 4 ml aquades)

4. Pembuatan Ekstrak Mengkudu

- a. Buah mengkudu dibersihkan dan dipotong tipis-tipis.
- b. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari.
- c. Dimasukkan ke dalam oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3-4$ hari).
- d. Digiling hingga membentuk serbuk (simplisia).
- e. Simplisia direndam ke dalam pelarut etanol 96% sampai terendam seluruhnya selama $\pm 2 \times 24$ jam.
- f. Diaduk 2 kali sehari selama 2 hari kemudian disaring dengan kertas penyaring.
- g. Residu dimaserasi kembali dengan cara yang sama, sampai tiga kali sampai bahan-bahan larut.

h. Cairan yang dihasilkan diuapkan hingga diperoleh ekstrak yang kental.

i. Ekstrak yang telah jadi disimpan di dalam wadah tertutup dan berisi *silica gel* untuk hasil lebih optimal.

5. Pemisahan Kromosom X dan Y

a. Persiapan Media Pemisahan

Sebutir telur ayam kampung yang berumur 1-3 hari diambil putihnya dan disaring menggunakan kertas saring untuk mendapat bagian putih telur yang encer. Putih telur diencerkan dengan pengencer masing – masing menjadi 10% dan 30%.

b. Proses Separasi

- 1). 2 ml stok putih telur ayam kampung 10% sebagai fraksi atas (A1) dimasukkan di atas 2 ml stok putih telur ayam kampung 30% sebagai fraksi bawah (A2) dalam tabung reaksi.
- 2). 1 ml semen segar dimasukkan ke dalam tabung media Pemisah kemudian di inkubasi selama 20 menit.
- 3). Semen dari fraksi bawah (A2), dimasukan dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml pengencer dan disentrifuse 1500 rpm selama 5 menit. Sperma hasil di sentrifuse dibuang sampai tersisa 1 ml dan ditambah pengencer 1 ml serta ekstrak mengkudu. kemudian disimpan dalam kulkas dengan suhu 5⁰C selama satu jam.

6. Pembuatan Semen Beku

Setelah diberi ekstrak tepung mengkudu sesuai perlakuan antara 3% dan 5%, motilitas dianalisis pada suhu 5⁰ C selama 15 menit, kemudian dimasukkan dalam container berisi N₂ cair dengan suhu -196⁰ C untuk dibekukan selang 1 hari, kemudian semen beku di-*thawing* menggunakan air keran selama 30 detik dan dianalisis motilitas spermatozoa.

E. Pengamatan dan Analisis Data

1. Parameter yang Diukur

- a. Kualitas semen segar dengan melakukan pemeriksaan secara makroskopis (volume, warna, pH dan konsistensi) dan mikroskopis (motilitas total dan motilitas progresif).
- b. Semen hasil sexing disimpan pada suhu 5⁰ C, 1 jam kemudian dilakukan pemeriksaan motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa.
- c. Setelah proses pembekuan pada suhu -196⁰ C selama 24 jam, dilakukan *thawing* menggunakan air keran selama 30 detik, dilakukan pemeriksaan motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa.

2. Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan 5 ulangan

dibantu Uji Anova program SPSS 16.

Model matematik yang digunakan adalah : $Y = \mu + A_i + E_{ij}$

Keterangan;

Y = hasil pengamatan.

μ = rataan keseluruhan.

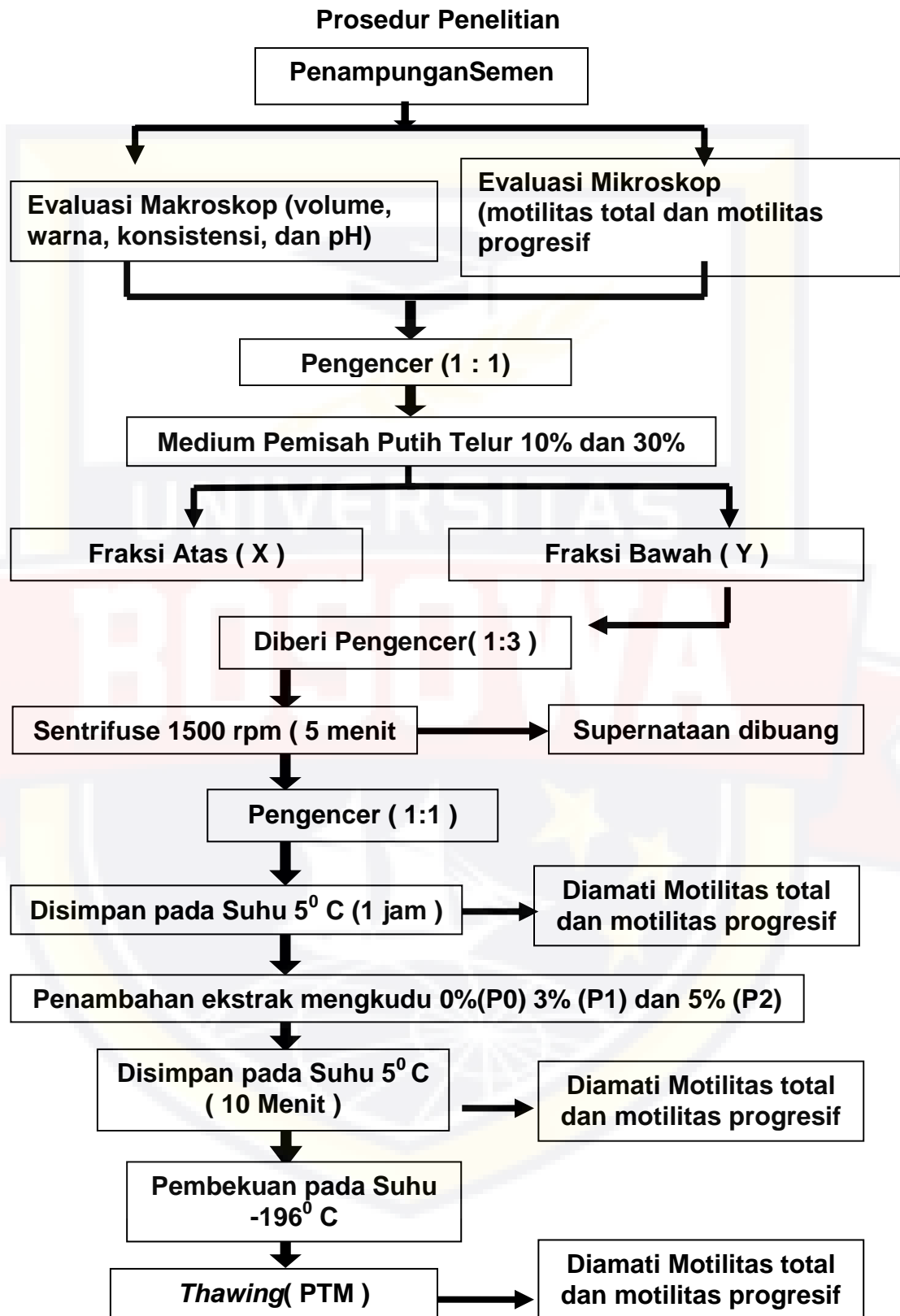
A_i = pengaruh penambahan sari mengkudu terhadap kualitas semen beku, ($i=1, 2, \text{ dan } 3$).

E_{ij} = pengaruh kesalahan perlakuan.

UNIVERSITAS

BOSOWA





BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Hasil evaluasi kualitas semen segar sapi Bali dalam penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Prosesing Semen Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar, dilakukan dengan cara pemeriksaan makroskopis (volume, konsistensi, warna, pH, bau) dan mikroskopis (motilitas massa, individu).

Berdasarkan hasil evaluasi atau pemeriksaan semen segar sapi Bali baik evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis semen segar yang diperoleh untuk digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi syarat atau standar mutu untuk proses semen beku. Data selengkapnya dapat disajikan pada table 1.

Tabel 1. Karakteristik semen segar Sapi Bali yang digunakan pada penelitian.

Parameter yang diamati	Rataan	SD
Volume	3,75	0,35
pH	6,45	0,07
Warna	Krem	Susu, Krem, dan Kekuning-kuningan
Bau	Khas	Spesifik
Konsistensi	Kental	Sedang-kental
Gerakan Massa	+++	+++
Motilitas	88,20%	1,92

Keterangan: 1. Nilai, berdasarkan Pengamatan penelitian

2. Standar Mutu, berdasarkan tinjauan pustaka.
(Toelihere, 1985) (Devendra dan Burn, 1994) (Partodihardjo, 1992) (Soenardjo, 1995) (Garner dan Hafez, 2008) (Susilawati dkk, 2013) (Waluyo, 2014).

1. Evaluasi Makroskopis

a. Volume

Rataan volume semen sapi Bali hasil evaluasi adalah $3,7 \pm 0,35$, Volume ini masih dalam kisaran normal. sesuai dengan pendapat Toelihere (1985), bahwa volume semen sapi bervariasi antara 1–15 ml. Perbedaan volume semen setiap ejakulasi, ini disebabkan oleh perbedaan bangsa, umur, ukuran badan, pakan, frekuensi penampungan dan berbagai faktor lain.

b. Konsistensi

Rataan konsistensi semen sapi Bali hasil evaluasi yaitu konsistensi kental. Penilaian konsistensi dilakukan dengan cara mengoyang-goyangkan tabung semen atau tabung reaksi dan semen yang diperoleh memenuhi syarat untuk diproses. Hal ini didukung oleh Feradis (2010) menyatakan bahwa konsistensi semen dikatakan kental apabila semen mempunyai konsentrasi 1000 juta sampai 2000 juta atau lebih sel spermatozoa per ml.

c. Warna

Semen segar yang diperoleh berwarna krem, menunjukkan bahwa semen tersebut layak untuk diproses karena memenuhi syarat warna semen yang normal. Hal ini sesuai dengan peraturan Dirjennak (2007) bahwa warna normal semen pada sapi yaitu warna susu, krem dan kekuning-kuningan. Sependapat Toelihere (1981) dan Partodiharjo (1992) bahwa semen sapi yang normal yaitu berwarna

krem keputihan atau berwarna susu, jika berwarna hijau kekuning-kuningan maka semen tersebut mengandung kuman *Pseudomonasa uriginosa*, sedangkan semen yang berwarna merah berarti mengandung darah. Warna krem pada semen tergolong normal, seperti yang dinyatakan oleh Evan Maxwell (1987) bahwa warna krem pada semen disebabkan oleh adanya riboflavin dari sekresi kelenjar vesikularis. Lopes (2002) juga menyatakan bahwa kualitas semen dinyatakan baik apabila memiliki warna kekuningan.

d. Derajat Keasaman (pH)

Pada pemeriksaan penelitian ini diperoleh pH semen segar normal yaitu $6,45 \pm 0,07$. Sependapat Garner dan Hafez (2008) pH normal semen 6,4-7,8 pH sangat menentukan status kehidupan spermatozoa di dalam semen. Sekitar 90 persen volume semen sapi terdiri dari plasma semen. Pada umumnya, sperma sangat aktif dan tahan hidup lama pada pH sekitar 7,0. Motilitas partial dapat dipertahankan pada pH antara 5 sampai 10 (Toelihere 1977). Sedangkan Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa pH semen bervariasi dengan kisaran yang luas sekitar 6,0 sampai 8,0.

e. Bau

Bau yang dihasilkan pada penilitan ini dapat dikatakan normal yaitu bau amis, khas semen. Hal ini didukung oleh pendapat Kartasujana (2001) yang menyatakan bahwa semen yang normal pada umumnya memiliki bau amis khas disertai bau dari hewan

tersebut. Bau busuk bisa terjadi apabila semen mengandung nanah yang disebabkan oleh adanya infeksi organ reproduksi jantan.

2. Evaluasi Mikroskopis

a. Motilitas

Motilitas semen segar terdiri dari dua yaitu motilitas massa dan motilitas individu. motilitas massa semen segar pada penelitian ini yaitu +++ atau gerakan massa spermatozoa berupa gelombang-gelombang tebal, gelap dan cepat.

Rataan \pm SD motilitas individu semen segar sapi Bali pada penelitian ini yaitu $88,20\% \pm 1,92$. hal ini berarti semen telah memenuhi syarat untuk dilakukan pengenceran dan diproses lebih lanjut. Sesuai pendapat Toelihere (1977), gerak massa dengan (+++) adalah sangat baik, terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah tempat.

b. progresif

Berdasarkan hasil evaluasi semen segar sapi Bali di bawah pembesaran pandangan mikroskop 45×10^6 pada selapis tipis semen di atas objek glas yang ditutupi cover glas terlihat gerakan-gerakan individu spermatozoa yang progresif dengan motilitas minimal 70%. Hal ini sesuai pendapat Toelihere (1993) yang mengklasifikasikan gerak individu spermatozoa mulai dari pergerakan progresif atau gerak maju yang merupakan gerak terbaik.

Rataan Motilitas individu semen segar sapi Bali yang progresif pada penelitian ini yaitu $79,0 \pm 4,83$. Motilitas adalah gerak maju ke depan dari spermatozoa secara progresif (Solihati dan Kune, 2009). Menurut Toelihere (1993) sapi yang normal (fertil) mempunyai motilitas individu 40-75% spermatozoa yang aktif progresif. Nilai ini termasuk kisaran yang baik. Standart Nasional Indonesia untuk motilitas individu adalah $\geq 40\%$ (Susilawati, 2002)

B. Sexing Spermatozoa dengan Metode Gradien Albumin Telur

Sexing dengan metode gradien albumin didasarkan atas motilitas (daya gerak) spermatozoa yang disebabkan oleh perbedaan massa dan ukurannya. Ukuran spermatozoa Y lebih kecil dan bergerak lebih cepat sehingga mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan. Spermatozoa Y ukuran kepalanya lebih kecil, lebih ringan dan lebih pendek, sehingga spermatozoa Y lebih cepat dan lebih banyak bergerak serta kemungkinan mengandung materi genetik dan DNA lebih sedikit.

Albumin atau putih telur dengan ciri fisik yang kental dan berwarna bening, banyak mengandung garam-garam Sodium, Potasium, Natrium, dan Kalium. Selain itu terdapat senyawa-senyawa protein misalnya ovalbumin, ovacian albumin, ovomucoid, ovomucin, ovoglobulin, dan lysozim. Secara fisik dan zat yang dikandung di dalam albumin telur, maka albumin telur dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk pemisahan spermatozoa ternak. Gradien albumin putih telur dibuat dengan

melarutkan albumin telur dengan andromed menghasilkan konsentrasi 10% dan 30%. Gradien disusun mulai dari konsentrasi 30% dan 10% dengan volume putih telur masing-masing 2 ml.

Konsentrasi albumin 10% diharapkan mampu menahan spermatozoa kromosom X karena ukurannya yang lebih besar dan motilitasnya kurang dibandingkan kromosom Y sehingga sulit menembus albumin 30%. Konsentrasi albumin 30 % menjadi media untuk menampung spermatozoa kromosom Y berhasil menembus medium albumin 10% karena ukuran lebih kecil dan motilitasnya lebih tinggi.

C. Evaluasi Motlitas total dan motilitas progresif Semen Sapi Bali

Hasil Sexing

Data hasil uji Anova (Lampiran 5-10) rata-rata perbandingan motilitas total dan motilitas Progresif semen sapi Bali secara mikroskopis, setelah proses seksing sperma, setelah proses equilibrasi dan penambahan ekstrak mengkudu 3% dan 5%, serta setelah *Thawing* (PTM) dapat dilihat pada Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4.

Tabel 2. Persentase motilitas total dan motilitas progresif Spermatozoa setelah proses Sexing Sperma.

Perlakuan	Ulangan	Rataan \pm SD	
		Motilitas total (%)	Motilitas progresif (%)
P0	5	70,18 \pm 4,32	64,70 \pm 3,41
P1	5	74,68 \pm 7,52	67,28 \pm 3,69
P2	5	75,39 \pm 4,40	67,95 \pm 3,16

Hasil pengamatan pada Tabel 2. di atas, menunjukkan hasil rata-rata \pm SD persentase motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa setelah

proses seksing disimpan pada suhu 5⁰C (15 menit) tidak berpengaruh (P>0,05).

Rataan ± SD motilitas total spermatozoa setelah proses seksing disimpan pada suhu 5⁰C (15 menit) pada perlakuan P0 (70,18 ± 4,32 %), perlakuan P1 (74,68 ± 7,52 %) dan perlakuan P2 (75,39 ± 4,40 %).

Rataan ± SD motilitas progresif spermatozoa setelah proses seksing disimpan pada suhu 5⁰C (15 menit) pada perlakuan P0 (64,70 ± 3,41 %), perlakuan P1 (67,28 ± 3,69 %) dan perlakuan P2 (67,95 ± 3,16 %).

Tabel 3. Persentase motilitas total dan motilitas progresif Spermatozoa setelah proses Equilibrasi dan Penambahan Ekstrak Mengkudu 3% dan 5%.

Perlakuan	Ulangan	Rataan ± SD	
		Motilitas total (%)	Motilitas progresif (%)
P0	5	71,39 ± 5,27	64,96 ± 3,88
P1	5	72,94 ± 4,80	66,07 ± 2,83
P2	5	73,49 ± 2,12	66,37 ± 3,45

Hasil pengamatan pada Tabel 3. di atas, menunjukkan hasil rata-ran ± SD persentase motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa dengan penambahan ekstrak mengkudu disimpan pada suhu 5⁰C tidak berpengaruh (P>0,05).

Rataan ± SD motilitas total spermatozoa setelah equilibrasi dan penambahan ekstrak mengkudu pada perlakuan P0 (kontrol) : 71,39 ± 5,27 %, perlakuan P1 (3%) : 72,94 ± 4,80% dan perlakuan P2 (5%) : 73,49 ± 2,12 %.

Rataan \pm SD motilitas progresif spermatozoa setelah equilibrasi dan penambahan ekstrak mengkudu pada perlakuan P0 (kontrol) : $64,96 \pm 3,88$ %, perlakuan P1 (3%): $66,07 \pm 2,83$ % dan perlakuan P2 (5%): $66,37 \pm 3,45$ %.

Tabel 4. Persentase motilitas total dan motilitas progresif Permatzoa setelah *Thawing* (PTM).

Perlakuan	Ulangan	Rataan \pm SD	
		Motilitas total (%)	Motilitas progresif (%)
P0	5	$54,23^{b**} \pm 1,80$	$41,13^a \pm 0,86$
P1	5	$57,43^{a*} \pm 1,65$	$43,21^{a*} \pm 2,38$
P2	5	$59,42^a \pm 3,01$	$46,96^{b**} \pm 3,49$

Keterangan: huruf yang berbeda dalam kolom yang sama, menunjukkan terdapat perbedaan nyata (*) dan sangat nyata (**).

Hasil pengamatan pada Tabel 4. di atas, menunjukkan hasil rata-ran \pm SD persentase motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa setelah dibekukan pada suhu -196°C dan dilanjutkan proses *thawing* (PTM) berpengaruh ($P < 0,05$).

Rataan \pm SD motilitas total spermatozoa setelah dibekukan pada suhu -196°C dan dilanjutkan proses *thawing* (PTM) pada perlakuan P0 ($54,23 \pm 1,80$ %), perlakuan P1 ($57,43 \pm 1,65$ %) dan perlakuan P2 ($59,42 \pm 3,01$ %).

Motolitas spermatozoa setelah proses *thawing* (PTM) pada perlakuan P0 berbeda nyata terhadap motilitas sperma, ($P < 0,05$), namun berbeda sangat nyata terhadap motilitas sperma pada perlakuan P2 ($P < 0,01$), sedangkan antara P1 dan P2 tidak berbeda terhadap motilitas sperma ($P > 0,05$).

Rataan \pm SD motilitas progresif spermatozoa setelah dibekukan pada suhu -196°C dan dilanjutkan proses *thawing* (PTM) pada perlakuan P0 (41,13 \pm 0,86 %), perlakuan P1 (43,21 \pm 2,38 %) dan perlakuan P2 (46,96 \pm 3,49 %).

Analisis statistik yaitu tidak berpengaruh ($P>0,05$) antara pengamatan proses setelah proses sexing sperma dan setelah equilibrasi dan penambahan ekstrak mengkudu (3% dan 5%), namun motilitas total dan motilitas progresif setelah *thawing*/PTM menunjukkan berpengaruh ($P<0,05$).

Motilitas progresif spermatozoa setelah proses *thawing* (PTM) pada perlakuan P0 tidak berbeda dengan perlakuan P1 ($P >.05$), namun berbeda sangat nyata dengan P2 ($P<.01$) dan antara P1 dan P2 terdapat perbedaan nyata ($P<.05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak mengkudu dengan level 5% dapat mengeliminir penurunan motilitas spermatozoa yang terjadi selama proses pendinginan dan pembekuan. Sesuai pendapat Sjabana dan Ramadhani (2002) bahwa buah mengkudu mengandung sejumlah antioksidan, antara lain: vitamin C, scopoletin, nitric oxide dan vitamin A. Dinyatakan oleh Yadav et al. (2006) bahwa spermatozoa yang disimpan dingin sering terpapar oleh level oksigen yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi fisiologik, hal ini disebabkan oleh stres oksidasi. Antioksidan berfungsi sebagai penyekat aktifitas radikal sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid dan tidak menyebabkan kerusakan membran.

BAB V

KESIMPULAN dan SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dan hasil analisis data tentang penambahan ekstrak mengkudu ke dalam pengencer maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak mengkudu berpengaruh terhadap motilitas total dan motilitas progresif *post thawing*. Motilitas sperma secara umum pada perlakuan P0 berbeda nyata terhadap (P<.05), namun berbeda sangat nyata terhadap motilitas sperma pada perlakuan P2 (P<.01), sedangkan antara P1 dan P2 tidak berbeda terhadap motilitas sperma (P>.05).
2. Terdapat perbedaan motilitas progresif spermatozoa setelah *post thawing* (PTM, perlakuan P0 tidak berbeda dengan perlakuan P1 (P >.05), namun berbeda sangat nyata dengan P2 (P<.01), antara P1 dan P2 terdapat perbedaan nyata (P<.05). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak mengkudu dengan level 5% dapat mengeliminir penurunan motilitas spermatozoa yang terjadi selama proses pendinginan dan pembekuan.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka disarankan dilakukan inseminasi guna mengkaji fertilitas semen sapi Bali yang diberi ekstrak mengkudu 5% ke dalam pengencer dengan suhu penyimpanan -196°C selama 24 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandhy, L.,D. Pamungkas, P.W. Prihandini, D.B. Wijono, P. Situmorang dan W.C. Pratiwi. 2006. *Peningkatan produktivitas sapi potong melalui efisiensi reproduksi: Uji coba teknologi IB hasil sexing dalam kemasan straw cair di lapang. Laporan Penelitian*. Loka Penelitian Sapi Potong.
- Akoso, T. B. 2008. *Kesehatan Sapi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Amar, A., Sumarmo L, Makosim S, Magdalena M, dan Yulianto DT. 2004. *Analisis mikroorganisme, kandungan alkohol dan asam lemak sari buah mengkudu dengan gas chromatography*. Prose-ding Seminar Nasional dan Konggres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) di Jakarta 17-18 Desember 2004.
- Amin, A. 2003. *Pengaruh Pemberian Tepung Buah Mengkudu (Morinda citrifolia Linn) dalam Ransum Terhadap Bobot Karkas, Bobot Organ Dalam dan Kadar Kolesterol Darah Ayam Broiler*. Skripsi. Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu.
- Arifiantini, R.I., Wresdiaty, T, dan Retnani, E.F. 2006. *Pengujian Morfologi Spermatozoa Sapi bali (Bos Sondaicus) Menggunakan Pewarnaan "Williams"*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bandini, Y. 2004. *Sapi Bali*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Bangun, A.P., Sarwono, B. 2002. *Mengenal Mengkudu*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Bansal, A.K. and G.S. Bilaspuri. 2008. *Effect of manganese on bovine sperm motility, viability, and lipid peroxidation in vitro*. *Anim. Reprod.* 5(3):90-96.
- Berden, H. j., and J.W. Fuquay. 1984. *Applied animal reproduction*. 2ndEd. Resto Publishing Company Inc. Aprentic-Hall Company. Reston, Virginia.
- Blakely. J. dan D. H. Bade. 1992. *Ilmu Peternaka. Edisi ke-4*. Terjemahan B. Srigandono. Yogyakarta: UGM Press.

- BSN. 2005. *Semen Beku Sapi. Badan Standarisasi Nasional. SNI 014869.1-2005*. BSN. Jakarta.
- Brown. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II Edisi Ketiga*. Jakarta: UI-Press.
- Campbell, JR., Kenealy MD, dan Campbell KL, 2003. *Animal Sciences. The Biology, Care and Production of Domesti Animals*. Mc Graw Hill.
- Chamdi, AN. 2005. *Karakteristik Sumber Daya Genetik Ternak Sapi Bali (Bos-Bibos Banteng) Dan Alternatif Pola Konservasinya*. Biodiversitas 6 (1) :70 – 75.
- Darna. 2013. *selintas instalasi populasi dasar (ipd) bptu sapi bali dalam upaya perbaikan kualitas sapi bali*.
- De Graaf, S.P, K.H. Beilby, S.L. Underwood, G. Evans, and W.M.C.Maxwell. 2009. *Sperm sexing in sheep and cattle: The exception and the rule*. Theriogenology, 71: 89–97.
- Devendra, C. dan M. Burns. 1994. *Produksi Kambing di Daerah Tropis*. ITB dan Univesitas Udayana.
- Dewi, N. 2012. *Budidaya, Khasiat dan Cara Olah Mengkudu untuk Mengobati Berbagai Penyakit*. Yogyakarta: Pustaka baru Press. Direktorat Jenderal Peternakan. 2007. *Petunjuk Teknis Produksi dan Distribusi Semen Beku*.
- Djagra, I.B. dan I.G.K. Budiarta. 1990. *“Hubungan antara Umur Bunting dengan Berat, Panjang Badan dan Lingkar Kepala Fetus Sapi Bali”*. dalam: *Pros. Seminar Nasional Sapi Bali*. Fak. Peternakan Univ. Udayana Denpasar Bali.
- Evans, G W and Maxwell, WMC. 1990. *Salomon’s Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths Pty Limited. Australia.
- Evans, G.W. and M.C Maxwell. 1987. *Salamons Artificial Insemination Of Sheep and Goats*. Butterworths. London.
- Fattah, S. 1998. *Produktivitas Sapi Bali yang Dipelihara di Padang Pengembalaan Alam (Kasusu-esu di NTT)*. Disertasi. UNPAD. Bandung.
- Feradis_a. 2010. *Reproduksi Ternak*. Bandung: Penerbit Alfabeta.

- Feradis, 2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Fikar, S. dan Ruhyadi, D. 2012. *Penggemukan Sapi*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Frandsen. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Garner, D.L. dan Hafez, E.S.E. 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma in reproduction in farm animals 7th edition*. Ed by Hafez ESE, Lea and Febiger. Philadelphia: 96-110.
- Guntoro, S. 2002. *Membudidayakan Sapi Bali*. Yogyakarta: Kanisius.
- Guven. 2006. *Histologi fungsional*. Jakarta: EGC.
- Hafez, E.S.E, 1993. *Artificial insimination. In. Reproduction in farm animals. 6th Ed. E. S. E. Hafez (Ed). Lea and Febiger. Philadelphia.1980. Reproduction In Farm Animals, 4 Ed. Lea and Febringer Philadelphia, USA*
- _____. 2000. *X and Y chromosome bearing spermatozoa. In Reproduction in farm animal . Lea and Febiger . Philadelphia*
- Hardjosubroto, W. 1994. *Aplikasi Pemuliabiakan Ternak di Lapangan*. Jakarta: PT. Gramedia Widia sarana Indonesia.
- Hardjoprano, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Hedah, D. dan Herliantien. 1993. *Handling Semen Beku. Pros. Pertemuan Pembahasan Hasil Penelitian Seleksi Bibit Sapi Madura Guna Meningkatkan Mutu Sapi Madura*. Sub Balitnak, Grati, 8 September 1993.
- Herlambang, B. 2014. *Jadi Jutawan Dari Beternak Sapi Potong dan Sapi Perah*. Jogjakarta: Flash Books.
- Heinicke R. 2001. *Tahitian noni: what is xeronine ? Tahitian noni home page*
- Isnaini, N. 2002. *Pengaruh Lama Simpan terhadap Kualitas Semen Ayam Arab dalam Pengencer Ringer's-Sari Buah Pisang pada suhu 4⁰ C*. Habitat 8(4):258-268.

- Jones, R. and T. Mann. 1977. *Toxicity Of Exogenous Fatty Acid Peroxides Towards Spermatozoa*. *J. Reprod. Fertil.* 50:255-260.
- Jones, W. 2000. *Noni Blessings Holdings. Food Quality Analysis*. Oregon.
- Kandi. 2009. *Mengkudu Yang Multiguna*. Jakarta: Jasa Grafika Indonesia.
- Kartasudjana, R. 2001. *Teknik Inseminasi Buatan pada Ternak*. Jakarta: Depertemen Pendidikan Nasional.
- Lehninger, A.L. 1994. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 2*. Alih bahasa: M. Thenawijaya. Jakarta: Erlangga.
- Linder MC. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolismo dengan Pemakaian secara Klinik*. Edisi I. Alih bahasa: Aminudin Parrakasi. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Lindsay DR, KW Entwistle and A Winantea. 1982. *Reproduction in Domestic Livestock in Indonesia*. Australia University. Queensland.
- Lopes, F.P. 2002. *Semen Collection and Evaluation in Ram*. ANS 33161. University of Florida.
- Mackie, A.R.P., P. S. James, S. Ladha and R. Jones. 2001. *Diffusion Barriers in Ram and Boar Sperm Plasma Membranes : Directionality of Lipid Diffusion Across The Posterior Ring*. Biology Reproduction. Society for The Study of Reproduction, Inc.
- Malik, H. 2014. *Melepas Perangkap Impor Pangan*. Jakarta: LP3ES, anggota Ikapi.
- Mc Kinnon, A.O. 1999. *Breeding and Its technology - now and the future*. www.harness.org.au/99wldcon/CONFEREN.HTM (4 Juli 2006).
- Mulyono, S. 1998. *Teknik Pembibitan Kambing dan Domba*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Mursito, B. 2002. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Neonbasu, G. 2013. *Prospekti Pembangunan (Teropong Strategi dan Pola)* Jakarta: JP II Publishing House.

- Noor. R. R.1999. *Manajemen Inseminasi Buatan pada Sapi dan Unggas*. Program pendidikan pertanian terpadu. Ma'had Al Zaytun.
- Nugroho, R. A. 2015. *Reproduksi Perkembangan Hewan*. Cahaya Atma Pus-taka. Yogyakarta.
- Nuryadi. 2014. *Ilmu Reproduksi Ternak*. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press).
- Nuryadi dan Wahjuningsih, S. 2011. *Penampilan Reproduksi sapi Peranakan Ongole dan Peranakan Limousin di Kabupaten Malang*. J. Ternak Tropika, 12 (1): 76-81.
- Pamungkas, D ., L. Affandhy, A. Rasyid, D.B. Wijono dan T. Susilawati .2004. *Teknologi pemisahaan spermatozoa sapi potong*. Laporan Penelitian. Loka Penelitian Sapi Potong.
- Pane, I. 1990. "*Upaya Peningkatan Mutu Genetik Sapi Bali di P3 Bali*." dalam Pros. Seminar Nasional Sapi Bali. Fak. Peternakan Univ. Udayana Denpasar. Bali.
- Partodihardjo. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Produksi Mutiara. Jakarta.
- Pereira GR., Eduardo G. Becker, Lucas C. Siqueira, Rogério Ferreira, Carolina K. Severo, Vitor S. Truzzi, João F.C. Oliveira, Paulo B.D.Gonçalves. 2010. *Assessment of bovine spermatozoa viability using different cooling protocols prior to cryopreservation. Italian Journal of Animal Science, Vol 9, No 4.*
- Purbaya, M. 2002. *Mengenal dan Memanfaatkan Khasiat Buah Mengkudu*. Bandung: CV. Pionir Jaya.
- Purwanti, M. dan Harry. 2006. *Upaya pemuliaan dan pelestarian sapi Bali di provinsi Bali*. Jurnal Penyuluhan Pertanian Vol. 1 No. 1. Hal 34– 41.
- Reksohadiprodjo, S. 1995. *Pengantar Ilmu Peternakan Tropik. Edisi Kedua*. Yogyakarta: BPFE-Yogyakarta.
- Rukmana, R. 2002. *Mengkudu Budi Daya dan Prospek Agribisnis*. Yogyakarta: Kanisius.
- Salisbury, G.W. dan H.L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi reproduksi dan inseminasi buatan pada sapi*. Penterjemah Prof. Drh. R. Djanuar. Yogyakarta: Gajahmada University Press.

- Salleh, MN. Runnie I, and Roach PD. 2002. *Inhibitor of low density lipoprotein oxidation and up regulation of low density lipoprotein recept or in helpG2 cell by tropical plant extracts*. 19(50): 3693-7.
- Siregar, S. B,. 2010. *Pengemukan Sapi*, Edisi revisi. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sitepu dan Josua. 2012. *Perbandingan Efektifitas Daya Hambat terhadap Staphylococcus Aureus dari Berbagai Jenis Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia Liin) (In vitro)*, Skripsi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Sjabana D dan Ramadhani RB. 2002. *Pesona Tradisional dan Ilmiah Mengkudu*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika .
- Soenardjo, C.H. 1995. *Teknologi Penampungan, Pemeriksaan, Pengencer dan Penyimpanan serta Evaluasi Semen pada Ternak Kambing dan Domba*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Universitas Jendral Sudirman, Fakultas Peternakan, Purwokerto.
- Solihati N dan Kune P. 2009. *Pengaruh jenis pengencer terhadap motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa semen cair sapi simmental*. Jurnal Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran, Bandung.
- Sonjaya, H., Hasbi, Sutomo dan Hastuti. 2005. *Pengaruh penambahan calcium ionophore terhadap kualitas spermatozoa kambing Boer hasil seksing*. J. Sains & Teknologi, 5(2): 90-101.
- Sonjaya, H. 2012. *Dasar Fisiologi Ternak*. Bogor: IPB Press.
- Sudjana,S.1991. *Metode Statistik*. Edisi ke 6. Bandung: Penerbit Tarsitoh.
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang ,R. G. Siantur dan D.A.Kusumaningrum. 2004. *Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi*. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4–5 Agustus 2004 Puslitbang Peternakan, Bogor.
- Sumoprastowo, R.M. 2009. *Pengemukan Sapi dan Kerbau*. Jakarta: PT Bhartara Niaga Media dan Papas Sinar Sinanti.

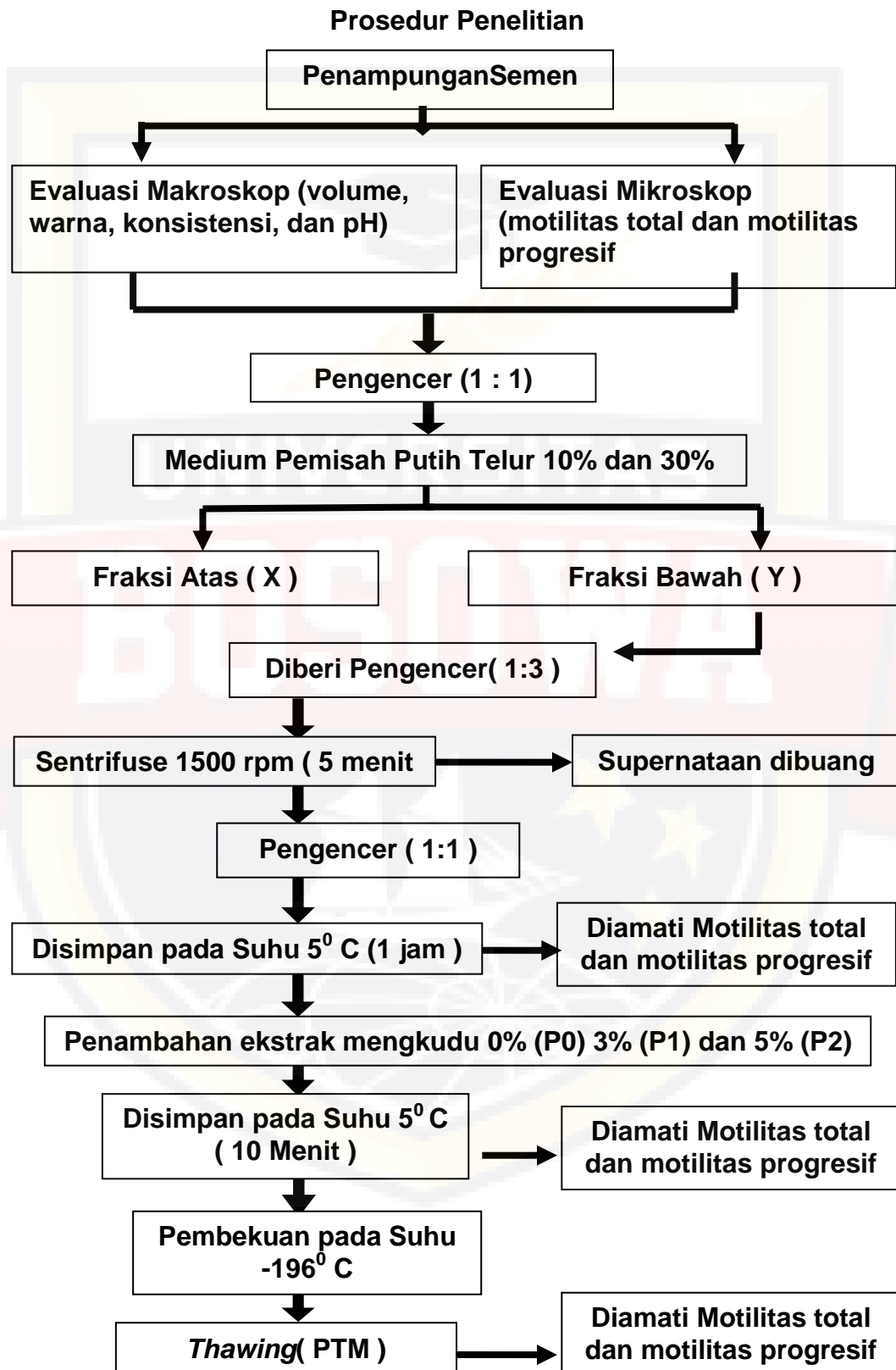
- Susanti, N. 2002. *Pengaruh Pemberian Tepung Mengkudu (Morinda citrifolia Linn) dalam Ransum Performans Ayam Broiler*. Skripsi Fakultas pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Susilawati, T., Suyadi, Nuryadi, N. Isnaini dan S. Wahyuningsih. 1993. *Kualitas Semen Sapi Fries Holland dan Sapi Bali pada berbagai Umur dan Berat Badan*. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Susilawati T. 2002. Sexing Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah Menggunakan Gradien Putih Telur. *Widya Agrika* 10(2):97-105.
- _____ 2002a. Pembekuan spermatozoa sapi Limousin hasil sexing dengan gradient konsentrasi putih telur. Laporan Fak. Peternakan. Universitas Brawijaya.
- _____ 2003. *Penentuan dan Pengaturan Jenis Kelamin*. Malang: Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
- _____ 2011. *Spermatology*. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press).
- _____ 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press).
- _____ 2014. *Sexing Spermatozoa*. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press).
- Susilorini, T. E, Sawitri, M. E dan Muharlieni. 2011. *Budi Daya 22 Ternak Potensial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suyadi, W. Busono, dan E. Prasetyo. 2000. *Pengaruh lama ekuilibrisasi terhadap kualitas semen kambing setelah pengenceran*. *Habitat*, 11(113): 218-222.
- Thuwanut, P, K. Chatdarong, M. Techakumphu, E. Axner (2008). *The effect of antioxidants on motility, viability, acrosome integrity and DNA integrity of frozen-thawed epididymalcat spermatozoa*. *Theriogenology*, 70:233-240.
- Toelihere, M. R. 1977. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Angkasa Bandung.
- _____. 1981. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa Bandung:
- _____. 1985. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Cetakan kedua. Angkasa Bandung.
- _____. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa Bandung.
- Waha, M. G. 2001. *Sehat dengan Mengkudu*. Jakarta: MSF Grup.

- Waluyo, T. S. 2014. *Reproduksi Aplikatif pada sapi*. Bandung: PT. SEWU (Srikandi Empat Widya Utama).
- White, I.G. 1993. Lipid and Ca uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: A review. *Reprod. Fertil. Dev.* 5: 639-658.
- Williamson, G. and W.J.A. Payne. 1993. *Pengantar Peternakan di Daerah Tropis*. Diterjemahkan oleh SGN Djiwa Darmaja dan Ida Bagus Djagra. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wikipedia, 2017. Kandungan buah mengkudu <http://id.Wikipedia.Org/Wiki/Mengkudu>
- Yatim, W. 1990. *Biologi Modern Histologi*. Bandung: Penerbit Tarsito.
- Yulnawati, dan M.A. Setiadi. 2005. *Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididymis kucing selama penyimpanan pada suhu 4°C*. *Med.Vet.J.* 21(3) : 100-104
- Yu, I. and SP. Leibo. 2002. *Recovery motile, membrane intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4°C*. *Theriogenology.* 57 (3) : 1179-1190.
- Yadav B, Suryakar, Huddedar A.N. Shukla A.D. 2006. Effect of Antioksidan and Antibiotics on level of SeminaloxidativeStress in Leukocytospermic infertil men Indian J Clinic Biochem 21(1):152-156.



LAMPIRAN

Lampiran 1: Prosedur Penelitian



LAMPIRAN 2: Evaluasi Semen Segar Sapi Bali

Parameter	Jenis Sapi		Jumlah	Rataan	SD
	Ronaldo	Bali No. 10			
Makroskopik					
Volume	3,5 cc	4 cc	7,5	3,75	0,35
Warna	Krem	Krem	-	-	-
PH	6,4	6,5	12,19	6,45	0,07
Konsistensi	Kental	Kental	-	-	-
Mikroskopik					
Konsentrasi	270	290	560	280	14,14
Progresif	75,58	82,42	158	79,0	4,83
Geraak Massa	+++	+++	+++	+++	-
Motilitas	86,84	89,56	176,40	88,20	1,92

Lampiran 3

Motilitas Spermatozoa setelah Sexing

Ulangan	Pengamatan		
	P0	P1	P2
Y1	63,51	63,86	69,71
Y2	69,24	76,32	74,65
Y3	72,94	70,58	71,91
Y4	70,36	80,41	79,45
Y5	74,85	82,25	71,85
Jumlah	350,9	373,42	367,57,97
Rataan	70,18	74,68	73,51
Sd	4,32	7,52	3,75

Motilitas Spermatozoa setelah Proses Equilibrasi dan Penambahan Ekstrak Mengkudu 3% dan 5%

Ulangan	Pengamatan		
	P0	P1	P2
Y1	64,27	64,39	70,43
Y2	74,37	75,17	73,3
Y3	67,25	74,64	73,39
Y4	75,7	74,77	74,19
Y5	75,37	75,76	76,24
Jumlah	281,59	364,73	367,55
Rataan	70,39	72,94	73,51
Sd	5,52	4,80	2,08

Motilitas Spermatozoa setelah *Thawing* (PTM)

Ulangan	Pengamatan		
	P0	P1	P2
Y1	53,28	55,09	56,08
Y2	53,17	56,56	59,33
Y3	53,69	57,91	58,02
Y4	53,58	58,21	59,46
Y5	57,43	59,41	64,24
Jumlah	271,15	287,18	297,13
Rataan	54,23	57,43	59,41
Sd	1,80	1,65	3,01

Lampiran 4

Progresif Spermatozoa setelah Sexing

Ulangan	Pengamatan		
	P0	P1	P2
Y1	63,34	63,51	65,2
Y2	65,74	66,19	67,53
Y3	60,84	64,61	66,25
Y4	63,64	69,7	67,43
Y5	69,96	72,41	73,36
Jumlah	323,52	336,42	339,77
Rataan	64,70	67,28	67,95
Sd	3,41	3,69	3,16

Progresif Spermatozoa setela Proses Equilibrasi dan Penambahan Ekstrak Mengkudu 3% dan 5%

Ulangan	Pengamatan		
	P0	P1	P2
Y1	62,48	62,65	63,84
Y2	65,42	63,43	66,42
Y3	59,73	68,02	63,98
Y4	68,29	67,41	65,35
Y5	68,92	68,88	72,26
Jumlah	324,84	330,39	331,85
Rataan	64,96	66,07	67,37
Sd	3,88	2,83	3,45

Progresif Spermatozoa setelah *Thawing* (PTM)

Ulangan	Pengamatan		
	P0	P1	P2
Y1	40,09	41,03	43,15
Y2	40,83	41,28	46,3
Y3	40,7	42,17	47,76
Y4	41,86	45,72	49,11
Y5	42,18	45,85	51,18
Jumlah	205,66	216,05	234,8
Rataan	41,13	43,21	46,96
Sd	0,86	2,38	3,49

Lampiran 5. Uji Statistik motilitas kromozom Y setelah sexing

Descriptives									
Motilitas_setelah_sexing									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
P0	5	69.6000	4.15933	1.86011	64.4355	74.7645	63.00	74.00	
P1	5	74.2000	7.75887	3.46987	64.5661	83.8339	63.00	82.00	
P2	5	72.8000	3.89872	1.74356	67.9591	77.6409	69.00	79.00	
Total	15	72.2000	5.51880	1.42495	69.1438	75.2562	63.00	82.00	
Model	Fixed Effects		5.55878	1.43527	69.0728	75.3272			
	Random Effects			1.43527 ^a	66.0245 ^a	78.3755 ^a			-.62000

a. Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

Test of Homogeneity of Variances

Motilitas_setelah_sexing

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.193	2	12	.154

ANOVA

Motilitas_setelah_sexing

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.600	2	27.800	.900	.432
Within Groups	370.800	12	30.900		
Total	426.400	14			

Robust Tests of Equality of Means

Motilitas_setelah_sexing

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	1.007	2	7.596	.409
Brown-Forsythe	.900	2	8.274	.443

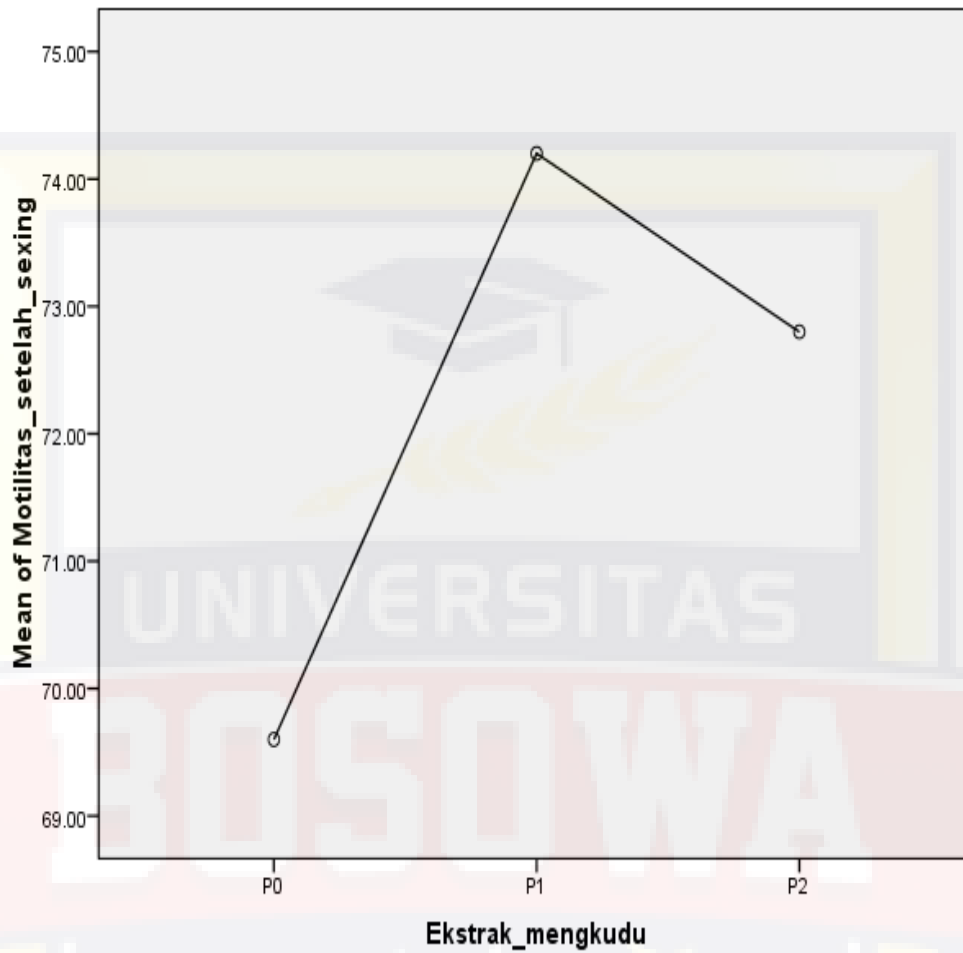
a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Motilitas_setelah_sexing

LSD

(I) Ekstrak_ mengkudu	(J) Ekstrak_ mengkudu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-4.60000	3.51568	.215	-12.2600	3.0600
	P2	-3.20000	3.51568	.381	-10.8600	4.4600
P1	P0	4.60000	3.51568	.215	-3.0600	12.2600
	P2	1.40000	3.51568	.697	-6.2600	9.0600
P2	P0	3.20000	3.51568	.381	-4.4600	10.8600
	P1	-1.40000	3.51568	.697	-9.0600	6.2600



Lampiran 6. Uji Statistik motilitas kromozom Y setelah equilibrasi

Descriptives										
Motilitas_Setelah_equilibrasi										
si										
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
						Lower Bound	Upper Bound			
P0		5	71.3960	5.27471	2.35892	64.8466	77.9454	64.27	75.70	
P1		5	72.9460	4.80277	2.14787	66.9826	78.9094	64.39	75.76	
P2		5	73.5060	2.08766	.93363	70.9138	76.0982	70.43	76.24	
Total		15	72.6160	4.07902	1.05320	70.3571	74.8749	64.27	76.24	
Model	Fixed Effects			4.29137	1.10803	70.2018	75.0302			
	Random Effects				1.10803 ^a	67.8485 ^a	77.3835 ^a			-2.48847

a. Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

Test of Homogeneity of Variances

Motilitas_Setelah_equilibrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.979	2	12	.089

ANOVA

Motilitas_Setelah_equilibrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.947	2	5.974	.324	.729
Within Groups	220.990	12	18.416		
Total	232.937	14			

Robust Tests of Equality of Means

Motilitas_Setelah_equilibrasi

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	.321	2	6.727	.736
Brown-Forsythe	.324	2	9.213	.731

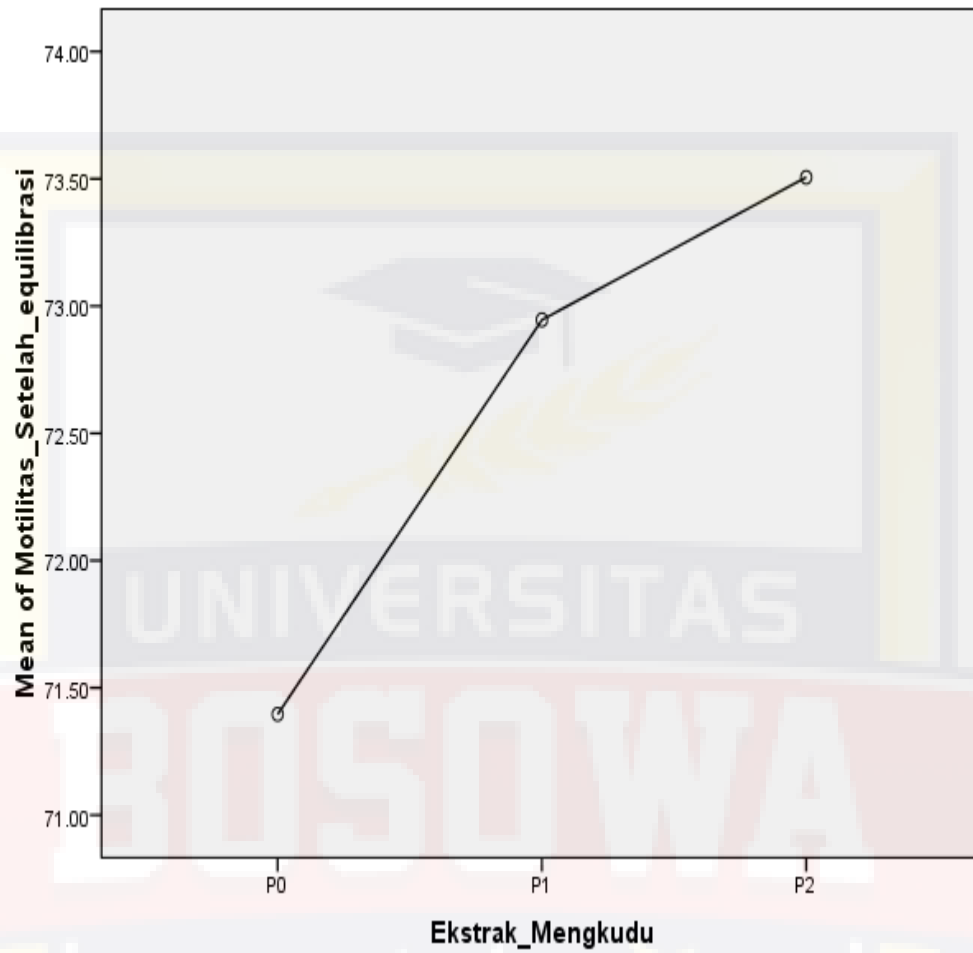
a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Motilitas_Setelah_equilibrasi

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak_Mengku udu	P1	-1.55000	2.71410	.578	-7.4635	4.3635
	P2	-2.11000	2.71410	.452	-8.0235	3.8035
P1	P0	1.55000	2.71410	.578	-4.3635	7.4635
	P2	-.56000	2.71410	.840	-6.4735	5.3535
P2	P0	2.11000	2.71410	.452	-3.8035	8.0235
	P1	.56000	2.71410	.840	-5.3535	6.4735



Lampiran 7. Uji Statistik motilitas kromozom Y setelah PTM

Descriptives									
Motilitas_Setelah_PT									
M									
95% Confidence Interval for Mean									
Between-Component Variance									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum	
P0	5	55.6000	3.57771	1.60000	51.1577	60.0423	53.00	60.00	
P1	5	58.0000	2.64575	1.18322	54.7149	61.2851	55.00	62.00	
P2	5	57.8000	3.49285	1.56205	53.4631	62.1369	53.00	62.00	
Total	15	57.1333	3.22638	.83305	55.3466	58.9200	53.00	62.00	
Model	Fixed Effects		3.26599	.84327	55.2960	58.9707			
	Random Effects			.84327 ^a	53.5050 ^a	60.7616 ^a			-.36000

a. Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

Test of Homogeneity of Variances

Motilitas_Setelah_PTM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.774	2	12	.483

ANOVA

Motilitas_Setelah_PTM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.733	2	8.867	.831	.459
Within Groups	128.000	12	10.667		
Total	145.733	14			

Robust Tests of Equality of Means

Motilitas_Setelah_PTM

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	.728	2	7.831	.513
Brown-Forsythe	.831	2	11.325	.460

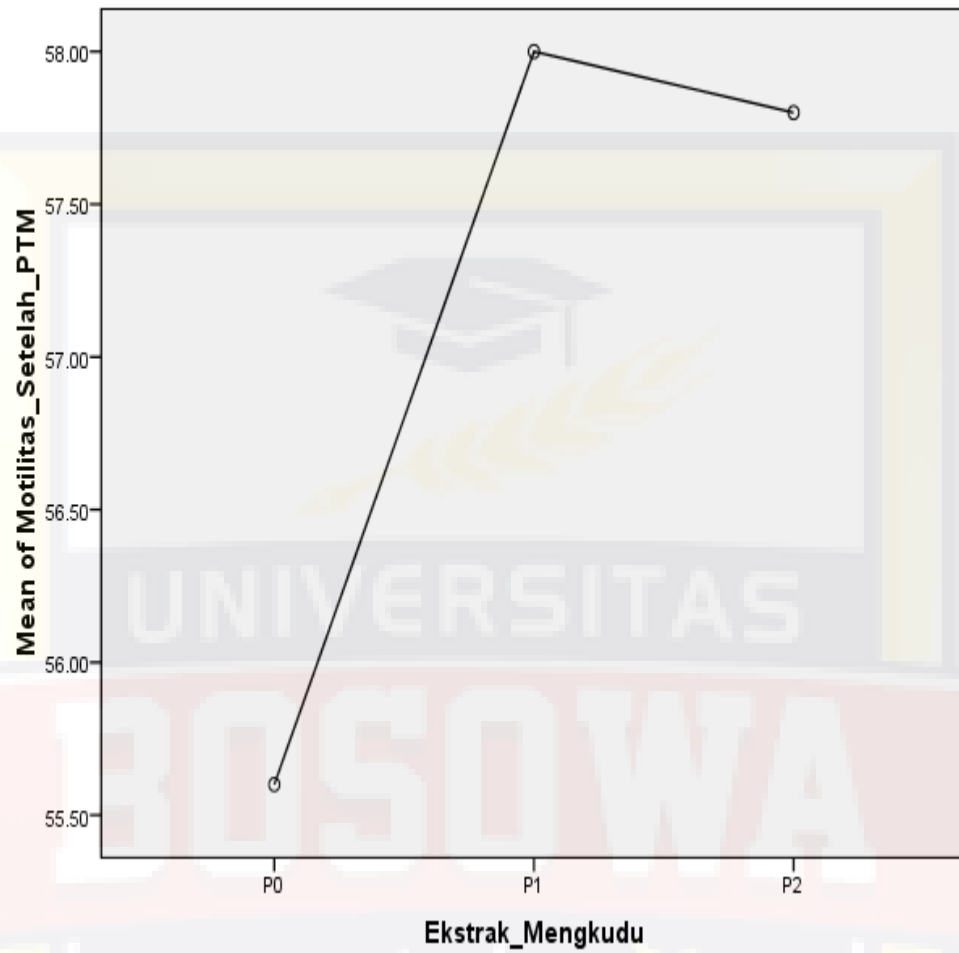
a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Motilitas_Setelah_PTM

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak_ Mengkudu	P1	-2.40000	2.06559	.268	-6.9005	2.1005
	P2	-2.20000	2.06559	.308	-6.7005	2.3005
P1	P0	2.40000	2.06559	.268	-2.1005	6.9005
	P2	.20000	2.06559	.924	-4.3005	4.7005
P2	P0	2.20000	2.06559	.308	-2.3005	6.7005
	P1	-.20000	2.06559	.924	-4.7005	4.3005



Lampiran 8. Uji Statistik progresif kromozom Y setelah sexing

Descriptives

Progresif_Setelah_Sexing

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
					P0	5			
P1	5	66.8000	3.70135	1.65529	62.2042	71.3958	63.00	72.00	
P2	5	67.0000	1.87083	.83666	64.6771	69.3229	65.00	70.00	
Total	15	65.9333	3.17280	.81921	64.1763	67.6904	60.00	72.00	
Model	Fixed Effects		3.06594	.79162	64.2085	67.6581			
	Random Effects			.96839	61.7667	70.1000			.93333

Test of Homogeneity of Variances

Progresif_Setelah_Sexing

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.470	2	12	.268

ANOVA

Progresif_Setelah_Sexing

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.133	2	14.067	1.496	.263
Within Groups	112.800	12	9.400		
Total	140.933	14			

Robust Tests of Equality of Means

Progresif_Setelah_Sexing

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	1.460	2	7.251	.293
Brown-Forsythe	1.496	2	9.911	.270

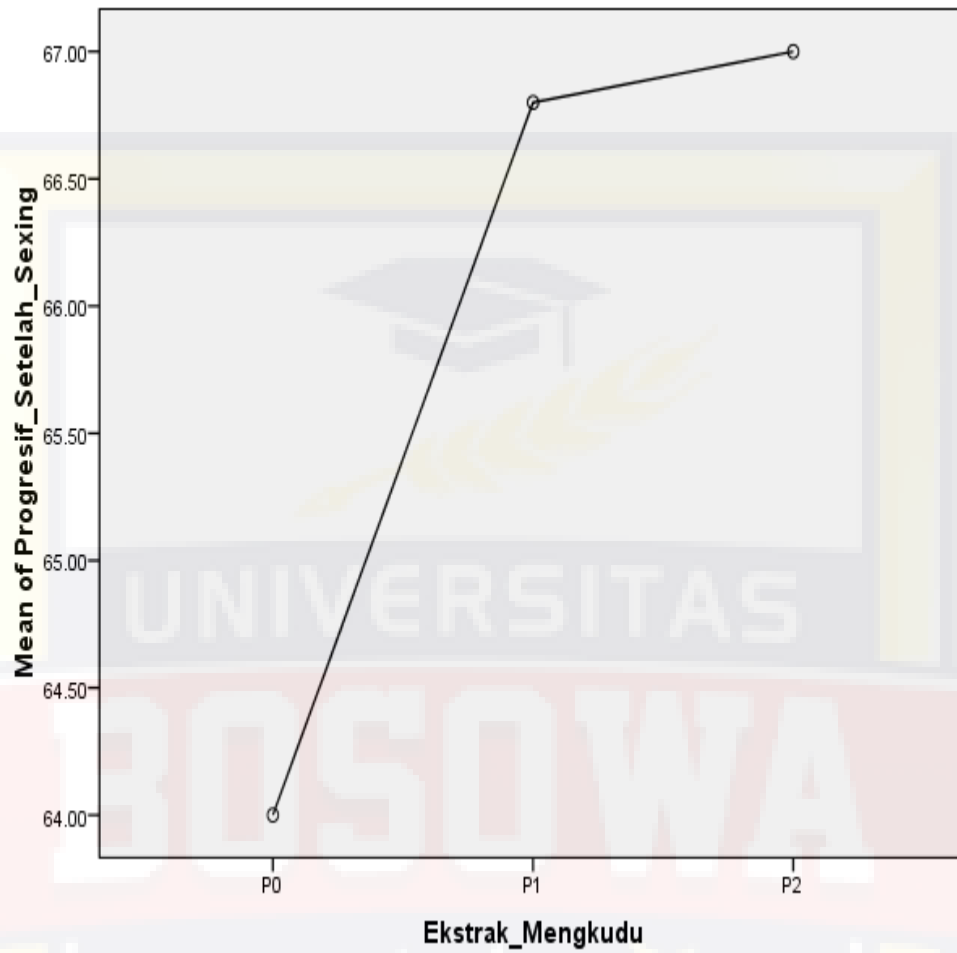
a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Progresif_Setelah_Sexing

LSD

(I) Ekstrak_ Mengkudu	(J) Ekstrak_ Mengkudu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-2.80000	1.93907	.174	-7.0249	1.4249
	P2	-3.00000	1.93907	.148	-7.2249	1.2249
P1	P0	2.80000	1.93907	.174	-1.4249	7.0249
	P2	-.20000	1.93907	.920	-4.4249	4.0249
P2	P0	3.00000	1.93907	.148	-1.2249	7.2249
	P1	.20000	1.93907	.920	-4.0249	4.4249



Lampiran 9. Uji Statistik progresif kromozom Y setelah equilibrasi

Descriptives

Progresif_Setelah_
Equilibrasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
P0	5	64.4000	3.91152	1.74929	59.5432	69.2568	59.00	68.00	
P1	5	65.6000	2.88097	1.28841	62.0228	69.1772	62.00	68.00	
P2	5	66.6000	3.91152	1.74929	61.7432	71.4568	63.00	72.00	
Total	15	65.5333	3.46135	.89372	63.6165	67.4502	59.00	72.00	
Model									
Fixed Effects			3.60093	.92976	63.5076	67.5591			
Random Effects				.92976 ^a	61.5329 ^a	69.5337 ^a			-1.38000

a. Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

Test of Homogeneity of Variances

Progresif_Setelah_Equilibrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.298	2	12	.748

ANOVA

Progresif_Setelah_Equilibrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.133	2	6.067	.468	.637
Within Groups	155.600	12	12.967		
Total	167.733	14			

Robust Tests of Equality of Means

Progresif_Setelah_Equilibrasi

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	.366	2	7.812	.705
Brown-Forsythe	.468	2	11.270	.638

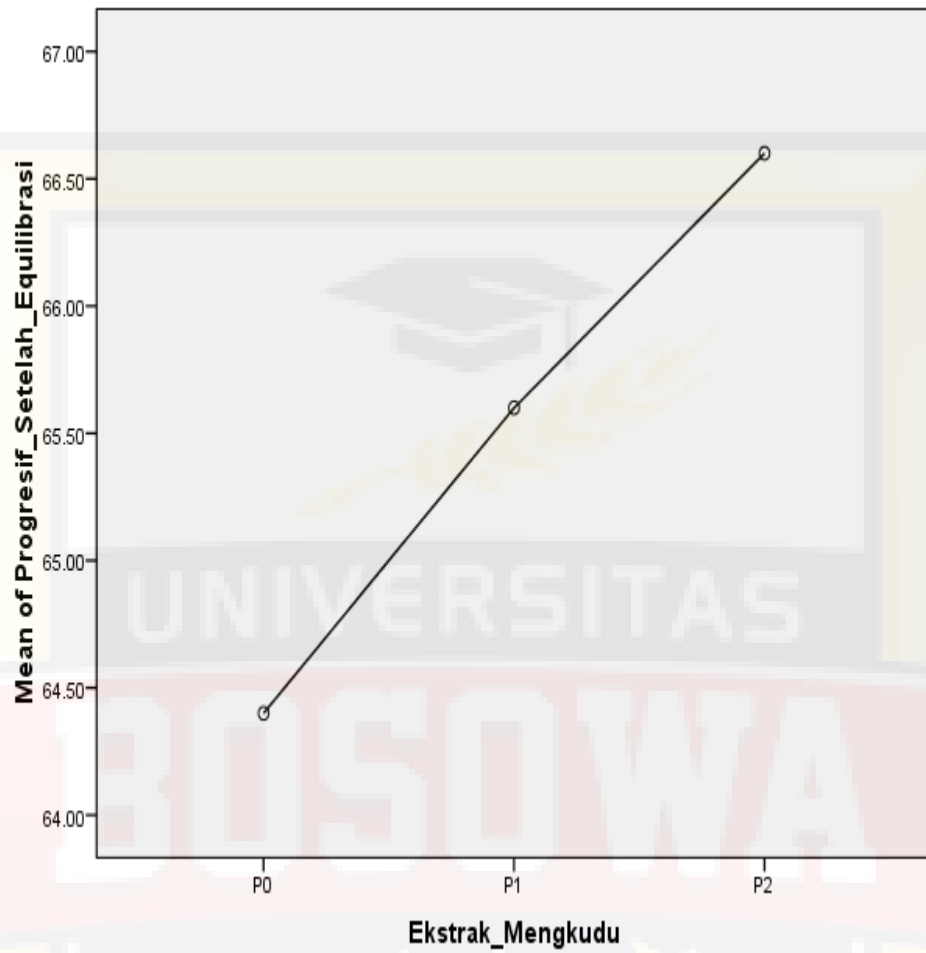
a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Progresif_Setelah_Equilibrasi

LSD

(I) Ekstrak_ Mengkudu	(J) Ekstrak_ Mengkudu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-1.20000	2.27743	.608	-6.1621	3.7621
	P2	-2.20000	2.27743	.353	-7.1621	2.7621
P1	P0	1.20000	2.27743	.608	-3.7621	6.1621
	P2	-1.00000	2.27743	.668	-5.9621	3.9621
P2	P0	2.20000	2.27743	.353	-2.7621	7.1621
	P1	1.00000	2.27743	.668	-3.9621	5.9621



Lampiran 10. Uji Statistik progresif kromozom Y setelah PTM

Descriptives

Progresif_Setelah_PTM

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
						Lower Bound	Upper Bound			
P0		5	42.6000	4.21900	1.88680	37.3614	47.8386	40.00	50.00	
P1		5	42.8000	2.04939	.91652	40.2553	45.3447	41.00	45.00	
P2		5	47.0000	3.39116	1.51658	42.7893	51.2107	43.00	51.00	
Total		15	44.1333	3.73911	.96543	42.0627	46.2040	40.00	51.00	
Model	Fixed Effects			3.34166	.86281	42.2534	46.0132			
	Random Effects				1.43450	37.9612	50.3055			3.94000

Test of Homogeneity of Variances

Progresif_Setelah_PTM

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.717	2	12	.508

ANOVA

Progresif_Setelah_PTM

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.733	2	30.867	2.764	.103
Within Groups	134.000	12	11.167		
Total	195.733	14			

Robust Tests of Equality of Means

Progresif_Setelah_PTM

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	2.766	2	7.287	.128
Brown-Forsythe	2.764	2	9.618	.113

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Progresif_Setelah_PTM

LSD

(I) Ekstrak_ Mengkudu	(J) Ekstrak_ Mengkudu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-.20000	2.11345	.926	-4.8048	4.4048
	P2	-4.40000	2.11345	.059	-9.0048	.2048
P1	P0	.20000	2.11345	.926	-4.4048	4.8048
	P2	-4.20000	2.11345	.070	-8.8048	.4048
P2	P0	4.40000	2.11345	.059	-.2048	9.0048
	P1	4.20000	2.11345	.070	-.4048	8.8048

