

# Pengaruh Penambahan Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dalam Diluter Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Setelah Pembekuan

*Effect of Addition of Green Tea Extract (Camellia sinensis) in Egg Yolk Tris Diluter on Spermatozoa Quality in Bali Cattle (Bos sondaicus) After Freezing*

Ani Wijayanti<sup>1</sup>, Tri Wahyu Suprayogi<sup>2</sup>, Ragil Angga Prastiya<sup>2\*</sup>,  
Tatik Hernawati<sup>2</sup>, Trilas Sardjito<sup>2</sup>, Amung Logam Saputro<sup>3</sup>,  
Anny Amaliya<sup>1</sup>, Deny Sulistyowati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Profesi Dokter Hewan, <sup>2</sup>Divisi Reproduksi Veteriner, <sup>3</sup>Divisi Klinik Veteriner, SIKIA Banyuwangi, Universitas Airlangga, Jl. Wijaya Kusuma No. 113, Mojopanggung, Giri, Banyuwangi.

\*Corresponding author: [ragilap@fkh.unair.ac.id](mailto:ragilap@fkh.unair.ac.id)

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak etanol 96% teh hijau (*Camellia sinensis*) dalam diluter tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali (*Bos sondaicus*) setelah pembekuan. Sampel dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang berbeda, yakni berisi sampel semen + gliserol 13% + masing-masing diluter tris kuning telur ditambah ekstrak teh hijau (P0) 0 mg/100 ml, (P1) 0,05 mg/100 ml, (P2) 0,10 mg/100 ml, dan (P3) 0,15 mg/100 ml. Variabel yang diamati meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Data dianalisis menggunakan *OneWay ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Duncan ( $p < 0,05$ ). Hasil menunjukkan pada kelompok P3 dengan motilitas  $49,00 \pm 2,15$ , viabilitas  $61,92 \pm 1,70$ , dan abnormalitas  $4,24 \pm 2,16$  berbanding signifikan dengan kelompok yang lain. Kesimpulannya, kelompok P3 dengan penambahan teh hijau 0,15 mg/100 ml dapat meningkatkan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali.

Kata kunci: kesehatan dan kesejahteraan yang baik, setelah pembekuan, sapi bali, ekstrak teh hijau, kualitas spermatozoa

## Abstract

This study aimed to determine the effect of adding 96% ethanol extract of green tea (*Camellia sinensis*) in egg yolk tris diluter on the quality of spermatozoa of Bali cattle (*Bos sondaicus*) after freezing. The samples were divided into four different treatment groups, which contained semen sample + 13% glycerol + each egg yolk tris diluter + green tea extract (P0) 0 mg/100 ml, (P1) 0,05 mg/100 ml, (P2) 0,10 mg/100 ml, and (P3) 0,15 mg/100 ml. The variables observed included motility, viability, and spermatozoa abnormalities. Data were analyzed using *OneWay ANOVA* and continued with Duncan's test ( $p < 0,05$ ). The results showed that the P3 group had motility of  $49,00 \pm 2,15$ , viability of  $61,92 \pm 1,70$ , and abnormality of  $4,24 \pm 2,16$  significantly compared to the other groups. In conclusion, the P3 group with the addition of 0,15 mg/100 ml of green tea could increase the motility, viability, and abnormal spermatozoa of Bali cattle.

Keywords: good health and well-being, after freezing, bali cattle, green tea extract, spermatozoa quality

Received: 30 April 2022

Revised: 14 September 2022

Accepted: 24 October 2022

## PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan hasil domestikasi banteng liar di daerah Bali dan Blambangan, Jawa Timur (Martoyo, 2012). Berhasilnya pengembangan sapi Bali akan menunjukkan potensi Indonesia sebagai negara yang mandiri

dan berdaulat pangan (Sutarno dan Setyawan, 2015). Sapi Bali menjadi plasma nutfah sapi lokal Indonesia yang tersebar hampir seluruh provinsi di Indonesia dan memiliki perkembangan cukup pesat karena memiliki keunggulan daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan dan memiliki fertilitas baik 83%, sehingga dapat digunakan



untuk usaha sapi potong (Ashari *et al.*, 2019). Keunggulan pada sapi Bali tersebut harus didorong dengan kemajuan teknologi khususnya teknologi reproduksi untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak.

Hanifah *et al.* (2020) menyatakan bahwa inseminasi buatan (IB) sebagai teknologi alternatif yang saat ini banyak digunakan untuk meningkatkan produktivitas dan populasi ternak. Teknik IB dilakukan dengan memasukkan semen menggunakan alat khusus yang disebut *insemination gun* ke dalam saluran reproduksi betina (Feradis, 2014). Program inseminasi buatan sebagai teknologi reproduksi dalam proses sebelumnya meliputi penampungan semen segar, proses pengolahan berupa pengenceran, ekuilibrisasi atau penyesuaian suhu dan pembekuan semen mempengaruhi kualitas semen yang akan diaplikasikan pada ternak (Prastowo *et al.*, 2017).

Proses pembuatan semen beku membutuhkan waktu yang panjang dan dapat menyebabkan stres berat bagi kehidupan spermatozoa. Proses pengolahan semen beku banyak berhubungan dengan udara luar yang mengandung banyak oksigen, sehingga hal tersebut akan mempercepat metabolisme serta dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lipid yang menyebabkan rusaknya membran plasma spermatozoa. Kerusakan seperti ini biasanya disebabkan oleh terbentuknya radikal bebas yang merupakan produk dari metabolisme spermatozoa itu sendiri (Gunawan *et al.*, 2012). Radikal bebas bersifat sangat reaktif, jika bereaksi dengan lipida terutama asam lemak tak jenuh yang dominan menyusun membran plasma spermatozoa akan menyebabkan peroksidasi lipid (Feradis, 2009). Reaksi awal dari radikal bebas apabila tidak dikendalikan akan terjadi reaksi secara terus-menerus yang akhirnya dapat merusak sebagian besar atau seluruh membran plasma spermatozoa.

Penurunan kualitas spermatozoa pada semen beku dapat terjadi akibat stress oksidatif yang meningkatkan jumlah radikal bebas dan dapat membahayakan motilitas spermatozoa untuk bergerak, sehingga tidak dapat membuahi sel telur (Sabile *et al.*, 2016). Kualitas semen beku untuk IB setidaknya harus memenuhi standar *post thawing motility* (PTM) sebesar 40% (BSN,

2021). Noori (2012) menyatakan kadar *reactive oxygen spesies* (ROS) yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein dan DNA, sehingga diperlukan adanya antioksidan yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas untuk melindungi spermatozoa. Penambahan zat antioksidan pada pengencer dapat mencegah aktivitas radikal bebas terhadap kerusakan membran sel spermatozoa yang berpengaruh terhadap viabilitas dan fertilitas, serta berperan sebagai sumber energi untuk mempertahankan motilitas spermatozoa.

Teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai tanaman herbal dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan aktivitas antioksidan alami dengan cukup kuat, diperoleh dari proses pengolahan daun. Senyawa utama yang berpengaruh terhadap mutu daun teh hijau yaitu katekin (Anjarsari, 2016). Katekin pada teh hijau memiliki kemampuan 100 kali lebih efektif untuk menetralkan radikal bebas daripada vitamin C dan 25 kali lebih kuat dari vitamin E (Towaha dan Balitri, 2013). Aktivitas antioksidan turunan dari katekin adalah epigallocatekin galat (EGCG) dianggap sebagai senyawa bioaktif paling menjanjikan dalam teh hijau karena aktivitas antioksidannya yang kuat (Silva *et al.*, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak etanol 96% teh hijau dalam diluter tris kuning telur terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali setelah pembekuan.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Semen

Penelitian dilaksanakan di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Malang. Sampel penelitian yang digunakan yaitu semen sapi Bali jantan bernama Jimbara berumur 12 tahun dengan nomor kode bull 10980 yang diperoleh dari BBIB Singosari, Malang. Pembuatan ekstrak teh hijau dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu dan proses *freeze dry* dilakukan di Laboratorium Biomol, Universitas Airlangga, Surabaya.

Semen dikoleksi menggunakan vagina buatan dan selanjutnya dievaluasi kualitasnya

secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, pH, bau dan konsistensi, sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi.

### Perlakuan

Semen yang memenuhi syarat langsung diencerkan menggunakan tris kuning telur dengan penambahan ekstrak teh hijau dan selanjutnya dilakukan proses menuju semen beku. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan lima kali pengambilan, yakni berisi sampel semen + gliserol 13% + masing-masing diluter tris kuning telur ditambah ekstrak teh hijau (P0) 0 mg/100 ml, (P1) 0,05 mg/100 ml, (P2) 0,10 mg/100 ml, dan (P3) 0,15 mg/100 ml. Pengumpulan data dilakukan setiap tahap evaluasi kualitas setelah pembekuan spermatozoa.

### Pengambilan Data

Pemeriksaan motilitas pada spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan spermatozoa sebanyak satu tetes pada obyek glass, kemudian tutup menggunakan cover glass dan lakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100× atau 400× untuk melihat adanya gerakan maju pada spermatozoa. Hitung dan beri nilai dari jumlah keseluruhan spermatozoa yang diamati dalam persen (%) (Susilowati *et al.*, 2010).

Pemeriksaan viabilitas pada spermatozoa dengan menggunakan pewarnaan Eosin-Negrosin akan mewarnai kepala spermatozoa yang mati karena lapisan lipid pada spermatozoa telah rusak, sedangkan pada spermatozoa yang masih hidup tidak akan terwarnai atau transparan. Pemeriksaan dilakukan dengan cara meneteskan zat warna dan semen masing-masing sebanyak satu tetes pada obyek glass, lalu campurkan keduanya sampai homogen, kemudian ulas dan keringkan preparat di atas nyala api, lakukan pengamatan dibawah mikroskop. Spermatozoa yang diamati dinyatakan dalam persen (%). Waktu yang digunakan dalam melakukan

penghitungan persentase spermatozoa maksimal adalah 15 detik (Susilowati *et al.*, 2010).

Pemeriksaan abnormalitas pada spermatozoa menggunakan preparat ulas yang telah dibuat menggunakan pewarnaan Eosin-Negrosin, kemudian dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100× atau 400×. Hitung berapa spermatozoa yang abnormal dan jumlah dari spermatozoa lalu dinyatakan dalam persen (%) (Susilowati *et al.*, 2010).

### Analisis Data

Data dianalisis menggunakan analisis statistika dengan uji *OneWay* ANOVA. Jika terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rata-rata volume semen sapi Bali yang diperoleh pada penelitian ini sebesar  $6,28 \pm 0,92$  (Tabel 1), lebih tinggi dibanding sapi Aceh umur 10 tahun dengan rata-rata volume 3,85 ml (Azzahra, 2021), pada Peranakan Ongole (PO) yang berumur 12 tahun dengan rata-rata volume 4,22 ml (Kristanto, 2019). Perbedaan volume ini mungkin dapat disebabkan oleh perbedaan spesies, umur dan juga dipengaruhi oleh masing-masing individu seperti keadaan ternak, metode koleksi dan seberapa sering sapi dikoleksi semennya (Muzakkir, 2017).

Warna semen segar sapi Bali yang diperoleh pada penelitian ini berwarna putih susu (Tabel 1). Hasil ini sesuai dengan warna semen segar sapi Aceh berkisar warna putih susu sampai krem atau kekuning-kuningan (Mukhlis *et al.*, 2017). Hasil warna putih susu semen segar sapi Bali juga dapat ditunjang oleh pengamatan dari narasumber Laboratorium BBIB Singosari.

Bau semen yang diperoleh pada penelitian ini adalah khas sapi, tidak terdapat bau patologis seperti bau urine, bau feses dan anyir (Tabel 1). Hasil bau tersebut sesuai dengan pendapat Susilowati *et al.*, (2010) menyatakan bahwa semen sapi memiliki bau khas sapi atau seperti bau susu, selain itu juga hasil bau khas semen sapi Bali dapat ditunjang oleh pernyataan dari narasumber Laboratorium BBIB Singosari. Bau

khas semen sapi Bali relatif sama dengan bau semen sapi Rambon berbau khas (Setyawan *et al.*, 2019) dan bau semen sapi PO berbau khas sapi (Sholikah *et al.*, 2016). Rizal dan Herdis (2008) menyatakan bahwa pada umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas.

Konsistensi semen sapi Bali yang diperoleh pada penelitian ini adalah sedang sampai kental (Tabel 1). Hasil ini sesuai dengan penelitian sapi Rambon dengan konsistensi kental (Safitri *et al.*, 2018). Penelitian pada sapi Madura dengan konsistensi sedang sampai kental (Ratnawati *et al.*, 2017). Hasil konsistensi sedang sampai kental semen segar sapi Bali juga dapat ditunjang oleh pengamatan dari narasumber Laboratorium BBIB Singosari. Semen dengan konsistensi sedang dan kental merupakan kriteria standar semen untuk dijadikan semen beku. Semen yang baik memiliki derajat konsistensi yang kental melebihi kekentalan susu, sedangkan semen yang buruk derajat konsistensi hampir sama dengan air kelapa (Garner dan Hafez, 2000).

Derajat keasaman semen segar sapi Bali pada penelitian ini dengan rata-rata 6,4 (Tabel 1) sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pH semen segar sapi Bali berkisar 6,4-6,5 (Tethol *et al.*, 2020). Menurut Susilowati *et al.*, (2010) derajat keasaman normal pada semen sapi adalah 6,4-6,8, apabila derajat keasaman rendah disebabkan oleh faktor asam laktat hasil metabolisme spermatozoa. Derajat keasaman sangat menentukan hidup atau matinya spermatozoa dalam semen (Zulyazaini *et al.*, 2016).

Pemeriksaan mikroskopis semen meliputi pemeriksaan konsentrasi, motilitas, gerakan massa, viabilitas dan abnormalitas semen. Konsentrasi semen segar sapi Bali pada penelitian ini dengan rata-rata  $1.646,60 \pm 384,41$  juta/ml (Tabel 1), masih lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi pada sapi Aceh  $1.194 \pm 4,80$  juta/ml (Zulyazaini *et al.*, 2016). Hasil tersebut sudah sesuai dengan standar konsentrasi semen sapi segar yaitu diatas 1000 juta/ml (Susilawati, 2000). Menurut Komariah *et al.*, (2020) konsentrasi spermatozoa semen sapi pejantan dipengaruhi oleh besar testis dan frekuensi penampungan semen yang dilakukan.

Gerakan massa spermatozoa sapi Bali yang diperoleh pada penelitian ini rata-rata adalah (++++) (Tabel 1), yang menandakan spermatozoa bergerak membentuk gelombang besar dan progresif. Menurut Muzakkir *et al.*, (2017) spermatozoa yang baik memiliki gerakan massa dan motilitas dengan daya gerak yang progresif. Susilawati (2011) menyatakan bahwa gerakan massa spermatozoa yang baik apabila terlihat membentuk gelombang yang besar, banyak, gelap dan aktif seperti awan hitam.

Persentase motilitas spermatozoa sapi Bali berkisar 79,80-85,70 dengan rata-rata  $82,62 \pm 2,40$  (Tabel 1). Hasil ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi Aceh  $65,83 \pm 14,65$  (Rahmawati *et al.*, 2015). Persentase rata-rata motilitas spermatozoa sapi Madura  $70,00 \pm 0,00$  (Yekti *et al.*, 2018). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh umur, spesies, cara penampungan dan frekuensi penampungan (Hafez, 2000). Menurut BSN (2021) persyaratan mutu motilitas semen segar yang digunakan untuk proses menjadi semen beku yaitu dengan minimum 70%.

Persentase viabilitas spermatozoa sapi Bali pada penelitian ini berkisar 81,10-86,70 dengan rata-rata  $84,06 \pm 2,25$  (Tabel 1). Hasil ini lebih tinggi dari persentase viabilitas sapi Pasundan dengan rata-rata  $63,93 \pm 15,17$ . Persentase viabilitas sapi Madura rata-rata  $73,00 \pm 2,58$  (Romadhoni *et al.*, 2014). Menurut Muzakkir *et al.*, (2017) bahwa nilai viabilitas lebih tinggi dari motilitas, dikarenakan spermatozoa yang motil tidak bergerak progresif akan tetapi masih hidup sehingga tidak terpapar saat fiksasi. Persentase abnormalitas sapi Bali pada penelitian ini berkisar 1,6-4,7 dengan rata-rata  $2,25 \pm 1,09$  (Tabel 1). Hasil ini lebih rendah dari sapi Pesisir dengan rata-rata  $10,375 \pm 0,85$ . Abnormalitas spermatozoa Sapi Bali pada penelitian ini masih sesuai standar abnormalitas kurang dari 20%, sehingga masih sesuai untuk dilakukan perlakuan (Susilowati *et al.*, 2010).

Selama pembekuan terjadi perubahan suhu dan osmolaritas yang ekstrim memicu produksi ROS sehingga akan merusak komposisi lipid membran plasma berdampak pada penurunan motilitas spermatozoa. Zat Epigalokatekin galat

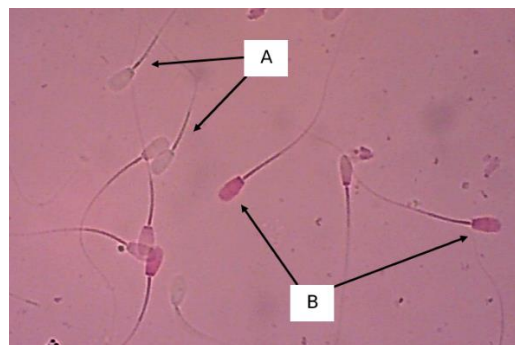
**Tabel 1.** Kualitas semen segar sapi Bali

Parameter	Replikasi					Rata-rata±SD	
	I	II	III	IV	V		
Makroskopis	Volume (ml)	5,8	7,4	6,4	5	6,8	6,28±0,92
	Bau	Khas sapi	Khas sapi	Khas sapi	Khas sapi	Khas sapi	Khas sapi
	Warna	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu
	pH	6,4	6,4	6,4	6,6	6,4	6,4±0,08
	Konsistensi	Kental	Kental	Kental	Sedang	Kental	Kental
Mikroskopis	Motilitas (%)	80,7	84	82,9	79,8	85,7	82,62±2,40
	Konsentrasi (juta/ml)	1.587	2.035	1.670	1.038	1.903	1.646,60±384,41
	Viabilitas (%)	82,7	85,7	84,1	81,1	86,7	84,06±2,25
	Gerakan massa	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Abnormalitas sekunder (%)	2	1,6	1,7	3,2	4,1	2,25±1,09

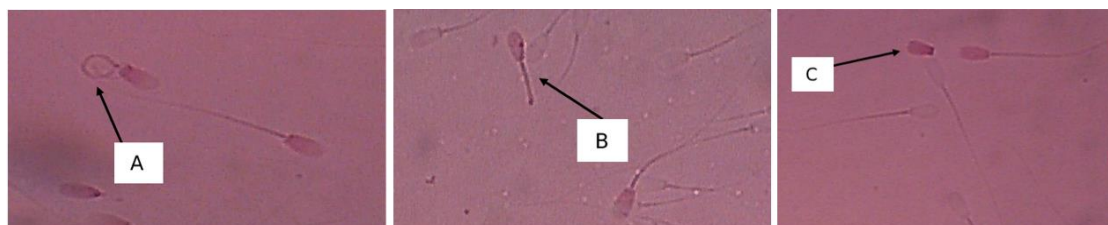
**Tabel 2.** Rata-rata dan standard deviasi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sapi Bali

Perlakuan	Motilitas	Viabilitas	Abnormalitas
P0	41,18 <sup>a</sup> ±0,94	51,66 <sup>a</sup> ±2,24	6,60 <sup>a</sup> ±2,02
P1	43,60 <sup>ab</sup> ±1,90	55,30 <sup>b</sup> ±2,25	6,48 <sup>a</sup> ±2,33
P2	44,84 <sup>b</sup> ±2,29	57,52 <sup>b</sup> ±1,61	4,72 <sup>a</sup> ±1,24
P3	49,00 <sup>c</sup> ±2,15	61,92 <sup>c</sup> ±1,70	4,24 <sup>a</sup> ±2,16

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).



**Gambar 1.** Viabilitas spermatozoa sapi Bali (Pewarnaan Eosin-Negrosin, perbesaran 400x, Mikroskop Nikon Eclipse E200). (A) spermatozoa hidup kepalanya tidak terwarnai atau transparan, (B) spermatozoa mati kepalanya berwarna merah keunguan.



**Gambar 2.** Abnormalitas spermatozoa sapi Bali (Pewarnaan Eosin-Negrosin, perbesaran 400x, Mikroskop Nikon Eclipse E200). (A) ekor tergulung, (B) ekor terputus, dan (C) kepala tanpa ekor.

(EGCG) sebagai aktivitas antioksidan dari teh hijau mampu mengatasi masalah radikal bebas kelompok polifenol katekin diperoleh dari ekstrak berupa ROS (Susilowati *et al.*, 2021). Mekanisme

dari EGCG mampu mengurangi peroksidasi lipid, karbonilasi protein dan kerusakan DNA, memulihkan glutathion peroksidase dan aktivitas transferase glutathione (Roychoudhury *et al.*, 2017).

Kebutuhan jumlah antioksidan dari ekstrak teh hijau dengan konsentrasi yang sesuai agar bisa menstabilkan radikal bebas hasil metabolisme yang tidak stabil. Penelitian ini semakin tinggi konsentrasi penambahan ekstrak teh hijau, hasil persentase motilitas spermatozoa sapi Bali yang dipertahankan juga semakin tinggi. P1 dengan penambahan ekstrak teh hijau 0,05 mg/100 ml diluter tris kuning telur, terjadi peningkatan motilitas walaupun tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan P0 yang sebagai kontrol (Tabel 2). Konsentrasi ekstrak teh hijau 0,05 mg belum mampu menetralkan senyawa radikal bebas, sedangkan dalam konsentrasi ekstrak teh hijau yang sesuai pada P2 dengan penambahan konsentrasi ekstrak teh hijau 0,10 mg/100 ml diluter tris kuning telur terjadi peningkatan motilitas spermatozoa, namun peningkatan motilitas tertinggi ditunjukkan pada P3 dengan penambahan konsentrasi ekstrak teh hijau 0,15 mg/100 ml diluter tris kuning telur.

Perlakuan kelompok P3 memberikan efek motilitas paling signifikan dibanding perlakuan kelompok yang lain. Konsentrasi ekstrak teh hijau 0,15 mg/100 ml diluter tris kuning telur sesuai untuk menetralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh metabolisme spermatozoa.

Antioksidan yang ditambahkan ke dalam pengencer dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa dan mengurangi efek berbahaya dari stres oksidatif yang disebabkan oleh ROS selama pembekuan. Kandungan EGCG dapat menghambat peroksidasi lipid dan memberikan perlindungan sel terhadap kerusakan oksidatif dengan menembus scavenging langsung dari ROS. Penelitian ini semakin tinggi konsentrasi penambahan ekstrak teh hijau, hasil persentase viabilitas spermatozoa sapi Bali yang dipertahankan juga semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Aslam *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa penambahan zat antioksidan pada pengencer memiliki manfaat yang cukup baik diantaranya mencegah aktivitas radikal

bebas terhadap kerusakan membran sel spermatozoa yang berpengaruh terhadap viabilitas dan fertilitas spermatozoa. P1 dengan penambahan ekstrak teh hijau 0,05 mg/100 ml diluter tris kuning telur dengan terjadi peningkatan viabilitas, P2 dengan penambahan ekstrak teh hijau 0,10 mg/100 ml diluter tris kuning telur juga terjadi peningkatan viabilitas, namun peningkatan viabilitas tertinggi ditunjukkan pada P3 dengan penambahan ekstrak teh hijau 0,15 mg/100 ml diluter tris kuning telur. Perlakuan kelompok P3 memberikan efek viabilitas paling signifikan dibanding perlakuan kelompok yang lain (Tabel 2). Hasil perlakuan tersebut membuktikan bahwa penambahan ekstrak teh hijau 0,15 mg/100 ml diluter tris kuning telur mampu menghambat senyawa radikal bebas, sehingga mampu mempertahankan viabilitas spermatozoa sapi Bali.

Semen untuk keperluan Inseminasi Buatan sebaiknya tidak mengandung sperma abnormal yang lebih dari 20% (Sekosi *et al.*, 2016). Konsentrasi penambahan ekstrak teh hijau 0 mg, 0,05 mg, 0,10 mg, dan 0,15 mg dalam 100 ml diluter tris kuning telur sama-sama tidak merubah abnormalitas pada spermatozoa (Tabel 2).

Abnormalitas yang ditemukan pada penelitian ini yaitu abnormalitas ekor tergulung, ekor terputus dan kepala tanpa ekor (Gambar 1 dan 2). Seperti pada penelitian Rizal dan Herdis (2005) menyatakan bahwa abnormalitas terjadi saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan berupa terpisahnya ekor dengan kepala akibat terputus. Abnormalitas selama proses menuju semen beku yang meningkat adalah abnormalitas sekunder yaitu ekor yang melingkar atau terputus disebabkan oleh perbedaan osmosis saat melakukan pengenceran, cold shock pada saat pendinginan dan putusnya ekor spermatozoa disebabkan oleh preparasi sampel pada saat membuat ulasan. Peningkatan abnormalitas selama proses pendinginan dan pembekuan dapat diakibatkan oleh pengenceran, perubahan suhu, adanya cekaman, kecepatan pendinginan sebagai akibat adanya perubahan tekanan osmosis karena adanya pengeluaran ion-ion, dehidrasi yang hebat menyebabkan sel mengkerut dan merusak membran sel.

Pencampuran dengan pengencer atau saat pembuatan preparat yang kasar akan meningkatkan kerusakan pada kepala spermatozoa (Ihsan, 2009).

### KESIMPULAN

Dapat disimpulkan pengaruh penambahan ekstrak teh hijau konsentrasi 0,15 mg/100 ml diluter tris kuning telur menghasilkan persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Bali paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol maupun konsentrasi 0,05 mg dan 0,10 mg. Selain itu, juga tidak berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa sapi Bali setelah pembekuan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada BBIB Singosari dan SIKIA Banyuwangi atas fasilitas selama penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anjarsari, I. R. D. (2016). Katekin Teh Indonesia: Prospek dan Manfaatnya. *Jurnal Kultivasi*, 15(2), 99-106.
- Ashari, L., Mustofa, I., Yunita, M. N., Sardjito, T., Saputo, A. L., & Prastiya, R. A. (2019). Pengaruh Durasi Waktu pada Sexing Spermatozoa Sapi Bali Terhadap Kualitas dan Efektivitas Sexing Spermatozoa dengan Menggunakan Alat *Electric Separating Sperm* (ESS). *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 24-29.
- Aslam, H. A., Dasrul, & Rosmaidar. (2014). Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Andromed terhadap Persentase Motilitas dan Membran Plasma Uterus Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1), 20-26.
- Azzahra, F. (2021). Identifikasi Produksi Semen Sapi Aceh pada Umur 6, 7, 8, 9 dan 10 Tahun di Balai Inseminasi Buatan Lembang [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- BSN. (2021). SNI 4869-1: 2021. Semen Beku-Bagian 1: Sapi. Penerbit Jakarta.
- Feradis, M. P. (2009). Peranan Antioksidan dalam Pembekuan Semen. *Jurnal Peternakan*, 6(2), 63-70.
- Feradis, M. P. (2014). Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Garner, D. L., & Hafez, E. S. E. (2000). Spermatozoa and Seminal Plasma. In: E. S.E. Hafez (Ed.). *Reproduction in Farm Animal*. 7th. Eed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. pp: 96-106.
- Gunawan, I., Laksmi, D. N. D. I., & Trilaksana, I. G. N. B. (2012). Efektivitas Penambahan B-Karoten dan Glutathion pada Bahan Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa pada Semen Beku Sapi. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3), 385-393.
- Hafez, E. S. E. (2000). Semen Evaluation. In: *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA. pp: 31.
- Hanifah, N. F., Ratnani, H., Purnama, M. T. E., Restiadi, T. I., Agustono, B., & Prastiya, R. A. (2020). Pengaruh Konsentrasi Gliserol dalam Pengencer Tris Kuning Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Sapera Before Freezing. *Jurnal Medik Veteriner*, 3(2), 154-159.
- Ihsan, N. M. (2009). Bioteknologi Reproduksi Ternak. Universitas Brawijaya. Malang.
- Komariah, R. I., Arifiantini, M. A., & Sukmawati, E. (2020). Kualitas Semen Segar dan Produksi Semen Beku Sapi Pejantan Madura pada Musim yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 8(1), 15-21.

- Kristanto, Y. (2019). Perbedaan Kualitas Semen Sapi Brahman dengan Sapi Peranakan Ongole di Balai Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Kabupaten Malang [Thesis]. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Martojo, H. (2012). Indigenous Bali Cattle is Most Suitable for Sustainable Small Farming in Indonesia. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 10-12.
- Mukhlis, Dasrul, & Sugito. (2017). Analisis Motilitas Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan Berbagai Konsentrasi Andromed<sup>®</sup>. *Agripet*, 17(2), 112-120.
- Muzakkir, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & Sabri, M. 2017. Pengaruh Lama Ekuilibrasi terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan Menggunakan Pengencer Andromed<sup>®</sup>. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 5(2), 115-128.
- Noori, S. (2012). An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. *Journal Clinical and Cellular Immunology*, 1(8), 1-9.
- Prastowo, S., Widu, T., & Widyas, N. (2017). Preliminary Analysis On Hybrid Vigor In Indonesian Indigenous and Crossbred Cattle Population Using Data From Published Studies. *IOP Conference Series*, 193(1).
- Rahmawati, M. A., Susilawati, T., & Ihsan, M. N. (2015). Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Bangsa Sapi dan Bulan Penampungan yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 25(3), 25-36.
- Ratnawati, D., Isnaini, N., & Susilawati, T. (2017). Pemanfaatan Casa dalam Observasi Motilitas Spermatozoa Semen Cair Sapi Madura dalam Pengencer Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan Universitas Brawijaya*, 27(1), 80-95.
- Rizal, M., & Herdis. (2005). Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Domba Garut yang Dikriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris. *Jurnal Hayati*, 12(2), 61-66.
- Rizal, M., & Herdis. (2008). Inseminasi Buatan pada Domba. Rineka Cipta. Jakarta. Hal: 24.
- Romadhoni, I., Rachmawati, A., & Suyadi. (2014). Kualitas Semen Sapi Madura Setelah Pengenceran dengan Tris Aminomethane Kuning Telur yang disuplementasi  $\alpha$ -tocopherol pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(1), 39-44.
- Roychoudhury, S., Agarwal, A., Virk, G., & Cho, C. L. (2017). Potential Role of Green Tea Catechins in the Management of Oxidative Stress Associated Infertility. *Reproduction Biomedical Online*, 34, 487-98.
- Sabile, S., Toleng, A. L., Yusuf, M., Firmiaty, S., Idrus, M., Zulkharnaim, & Nasriyanto. (2016). Pengaruh Penambahan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dalam Pengencer Terhadap Motilitas Spermatozoa pada Semen Cair Sapi Bali. *Jurnal Aves*, 10(2), 10-15.
- Safitri, A. M., Sardjito, T., Wibawati, P. A., Mustofa, I., Saputro, A. L., & Prastiya, R. A. (2018). Kualitas Semen Segar Sapi Rambon Banyuwangi dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Susu Skim Kuning Telur. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 62-67.
- Sekosi, P. P. P., Kusumawati, E. D., & Krisnaningsih, A. T. N. (2016). Motilitas dan Viabilitas Semen Segar Kambing Peranakan Etawa (PE) dengan Menggunakan Pengencer Cauda Epididymal Plasma (CEP-2) pada Lama dan Suhu Simpan yang Berbeda. *Jurnal Sains Peternakan*, 4(1), 34-49.
- Setyawan, F., Suprayogi, T. W., Prastiya, R. A., Restiadi, T. I., Saputro, A. L., & Agustono,



- B. (2019). Perbedaan Waktu Ekuilibrasi Sebelum Pembekuan Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Rambon Banyuwangi Menggunakan Pengencer Tris Kuning Telur. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 101-107.
- Sholikah, N., Isnaini, N., Yekti, A. P. A., & Susilawati, T. (2016). Pengaruh Pengganti Bovine Serum Albumin (BSA) dengan putih telur pada pengencer CEP-2 terhadap kualitas semen sapi Peranakan Ongole pada Suhu Penyimpanan 3-5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(1), 7- 15.
- Silva, E. C. B., Arruda, L. C. P., Vieira, J. I. T., Soares, P. C., & Guerra, M. M. P. (2019). Catechin and epigallocatechin gallate: are these promising antioxidant therapies for frozen goat semen?. *Arq Brasilia Medical Veterinary Zootechnic*, 71, 521-8.
- Susilawati, T. (2000). Analisa Membran Spermatozoa Sapi Hasil Filtrasi Sephadex G-200 dan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Susilawati, T. (2011). Spermatology. Universitas Brawijaya Press. Hal: 91.
- Susilowati, S., Sardjito, T., Mustofa, I., Widodo, O. S., & Kurnijasanti, R. (2021). Effect of Green Tea Extract in Extender of Simmental Bull Semen on Pregnancy Rate of Recipients. *Animal Bioscience*, 34(2), 198-204.
- Susilowati, S., Hardijanto, T. W., Suprayogi, T., & Hermawati, T. (2010). Petunjuk Praktikum Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Hal: 13.
- Sutarno, & Setyawan, A. D. (2015). Genetic Diversity of Local and Exotic Cattle and Their Crossbreeding Impact on the Quality of Indonesian Cattle. *Biodiversitas*, 16(2), 327-354.
- Tethol, A. N., Ciptadi, G., Wahjuningsih, S., Amaliya, A., Sawitri, W., & Susilawati, T. (2021). The Influence of Individual Factors on the Characteristics and Production of Frozen Semen of Bali Cattle. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 11(3), 162-166.
- Towaha, J., & Balittri. (2013). Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 19(3), 12-16.
- Yekti, A. P. A., Tatulus, W. S., Ratnawati, D., Affandhy, L., Kuswati, A., Huda, N., & Susilawati, T. (2018). Kualitas dan Kapasitas Spermatozoa Sapi Bali, Madura, dan Peranakan Ongole. *JITRO*, 5(2), 34-41.
- Zulyazaini, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & N. Abdullah, M. A. (2016). Semen dan Plasma Seminalis Sapi Aceh Yang Dipelihara di BIBD Saree Aceh Besar. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. *Agripet*, 16(2), 121- 130.

\*\*\*