

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN BERBAHASA INDONESIA .....	iii
LEMBAR PENGESAHAN BERBAHASA INGGRIS .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
INTISARI .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Keaslian Penelitian .....	6
1.4 Tujuan Penelitian .....	8
1.5 Manfaat Penelitian .....	9
II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI .....	10
2.1 Tinjauan Pustaka .....	10
2.1.1 Teknologi Kriopreservasi Semen .....	10
2.1.2 Dampak dan Perubahan Pada Spermatozoa Selama Proses Kriopreservasi .....	11
2.1.3 Stres Oksidatif dan Mekanisme Pembentukan ROS Selama Proses Kriopreservasi .....	16
2.1.4 Protein <i>Protamine-1</i> (PRM1) .....	19
2.1.5 Mekanisme Pertahanan Spermatozoa dari Stres Oksidatif selama Proses Pembekuan .....	20
2.1.6 Peran <i>Extender</i> untuk Mengurangi <i>Cryoinjury</i> .....	25
2.1.7 Makroalga Coklat ( <i>S. ilicifolium</i> (Turner) C. Agardh) .....	26
2.2 Landasan Teori .....	28
2.3 Hipotesis .....	32
III. MATERI DAN METODE .....	33
3.1 Alat dan Materi Penelitian .....	33
3.1.1 Alat Penelitian .....	33

3.1.2 Materi Penelitian .....	33
3.2 Metode Penelitian.....	34
3.2.1 Pembuatan ekstrak makroalga coklat .....	34
3.2.2 Pemeriksaan antioksidan dengan metode DPPH.....	37
3.2.3 Pembuatan bahan pengencer .....	37
3.2.4 Produksi semen beku.....	38
3.2.5 Metode pemeriksaan spermatozoa .....	44
3.3 Metode Pengambilan Sampel.....	51
3.4 Variabel yang digunakan.....	52
3.5 Metode Analisis Data .....	52
3.6 Metode Penyajian Data.....	52
3.7 Alur Penelitian.....	53
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	54
4.1 Hasil Ekstraksi dari Makroalga Coklat ( <i>Sargassum ilicifolium</i> ).....	54
4.2 Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH .....	55
4.3 Kualitas Semen Segar.....	58
4.4 Tingkat Kerusakan Sel Semen Semen <i>Post Thawing</i> .....	61
4.5 Fragmentasi DNA.....	73
4.6 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	79
4.7 <i>Malondialdehyde</i> (MDA) .....	85
4.8 Protamin-1 (PRM1).....	89
V. KESIMPULAN.....	94
5.1 Kesimpulan.....	94
5.2 Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA .....	95
LAMPIRAN.....	110

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Efek detrimental dari sel sperma pembekuan-thawing (Ugur <i>et al.</i> , 2019) .....	11
Gambar 2. Dampak dari kriopreservasi pada spermatozoa.....	12
Gambar 3. Sumber ROS pada spermatozoa (Tvrda <i>et al.</i> , 2022).....	17
Gambar 4. Pembentukan ROS yang tidak diregulasi (Dutta <i>et al.</i> , 2019).....	17
Gambar 5. Peran fisiologi dari ROS pada spermatozoa (Dutta <i>et al.</i> , 2019).....	18
Gambar 6. Mekanisme pertahanan radikal bebas oleh (Nisme and Pal, 2015).....	24
Gambar 7. Makroalga coklat ( <i>Sargassum ilicifolium</i> (Turner) C. Agardh).....	36
Gambar 8. Hasil pemeriksaan integritas membran spermatozoa (Prihantoko <i>et al.</i> , 2020).....	46
Gambar 9. <i>TUNEL positive</i> spermatozoa (b) (Takeda <i>et al.</i> , 2015).....	48
Gambar 10. Metode <i>TUNEL assay</i> , spermatozoa yang mengalami fragmentasi DNA akan berpendar (a) (Prihantoko <i>et al.</i> , 2022).....	48
Gambar 11. Hasil pemeriksaan aktivitas ROS positif spermatozoa ditandai dengan kepala spermatozoa yang berpendar hijau (a) (Prihantoko <i>et al.</i> , 2020) .....	49
Gambar 12. Diagram alur penelitian.....	53
Gambar 13. Diagram batang motilitas semen post thawing dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	62
Gambar 14. Diagram batang viabilitas semen post thawing dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	66
Gambar 15. Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> menggunakan pewarna eosin; (a) spermatozoa hidup berwarna putih dan (b) spermatozoa mati berwarna merah (dokumentasi pribadi) .....	67
Gambar 16. Diagram batang integritas membran plasma semen <i>post thawing</i> dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	69

- Gambar 17. Hasil pemeriksaan integritas membran plasma spermatozoa dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* menggunakan metode HOST; (a) membran spermatozoa yang baik / utuh (ekor yang menggulung) dan (b) membran spermatozoa yang rusak (ekor spermatozoa yang lurus) (dokumentasi pribadi) ..... 71
- Gambar 18. Diagram batang persentase fragmentasi DNA semen *post thawing* dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* ..... 75
- Gambar 19. Hasil pemeriksaan fragmentasi DNA spermatozoa dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* menggunakan metode TUNEL; (a) spermatozoa berpendar menunjukkan fragmentasi DNA, (b) spermatozoa tidak berpendar menunjukkan DNA utuh dan (c) pewarnaan menggunakan *4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)* untuk mempermudah perhitungan total spermatozoa (dokumentasi pribadi) ..... 78
- Gambar 20. Diagram batang level ROS semen *post thawing* dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* ..... 80
- Gambar 21. Hasil pemeriksaan ROS spermatozoa dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* menggunakan metode *DCFDA*; (a) spermatozoa yang berpendar memiliki ROS tinggi, (b) spermatozoa tidak berpendar memiliki ROS rendah dan (c) tampilan *bright field* untuk memudahkan perhitungan total spermatozoa (dokumentasi pribadi) ..... 81
- Gambar 22. Mekanisme antioksidan dalam regulasi jalur pensinyalan *Nrf2* (Begum *et al.*, 2021) ..... 84
- Gambar 23. Diagram batang level MDA semen *post thawing* dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* ..... 86
- Gambar 24. Diagram batang protein PRM1 semen *post thawing* dengan penambahan ekstrak *S. ilicifolium* ..... 90

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbedaan dan persamaan dengan penelitian terdahulu .....	7
Tabel 2. Kandungan nutrisi dari <i>S. ilicifolium</i> (Turner) C. Agardh .....	27
Tabel 3. <i>Total Phenolic Content</i> (TPC), <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC) dan $IC_{50}$ .....	28
Tabel 4. Kandungan fitokimia dari <i>S. ilicifolium</i> (Turner) C. Agardh .....	28
Tabel 5. Bobot segar, kering dan ekstrak makroalga coklat ( <i>S. ilicifolium</i> ) .....	54
Tabel 6. Kandungan antioksidan ekstrak makroalga coklat ( <i>S. ilicifolium</i> ) menggunakan metode DPPH .....	56
Tabel 7. Kualitas makroskopis dan mikroskopis semen segar .....	58
Tabel 8. Hasil pengujian viabilitas dan integritas membran semen segar .....	59
Tabel 9. Persentase motilitas, viabilitas dan integritas membran semen <i>post thawing</i> dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	61
Tabel 10. Hasil pengujian level fragmentasi DNA dan level ROS pada semen beku ( <i>post thawing</i> ) dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	73
Tabel 11. Hasil analisis korelasi antara parameter fragmentasi DNA dan PRM1 serta ROS dan MDA semen beku <i>post thawing</i> dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	74
Tabel 12. Hasil pengujian level MDA dan protein PRM1 pada semen beku ( <i>post thawing</i> ) dengan penambahan ekstrak <i>S. ilicifolium</i> .....	86

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji identifikasi spesies makroalga coklat .....	110
Lampiran 2. Jumlah produksi <i>straw</i> .....	112
Lampiran 3. Uji normalitas motilitas, viabilitas dan integritas membran.....	113
Lampiran 4. Uji homogenitas motilitas, viabilitas dan integritas membran .....	114
Lampiran 5. Uji ANOVA dan uji <i>Post Hoc</i> motilitas, viabilitas dan integritas membran .....	115
Lampiran 6. Uji normalitas dan homogenitas fragmentasi DNA .....	117
Lampiran 7. Uji ANOVA dan uji <i>Post Hoc</i> fragmentasi DNA .....	118
Lampiran 8. Uji normalitas dan homogenitas ROS .....	119
Lampiran 9. Uji <i>Kruskal Wallis</i> dan uji <i>Post Hoc</i> ROS.....	120
Lampiran 10. Uji normalitas dan homogenitas MDA.....	122
Lampiran 11. Uji ANOVA dan uji <i>Post Hoc</i> MDA .....	123
Lampiran 12. Uji normalitas dan homogenitas PRM1.....	124
Lampiran 13. Uji ANOVA dan uji <i>Post Hoc</i> PRM1 .....	125
Lampiran 14. Uji <i>Pearson Correlation</i> fragmentasi DNA dan protein PRM1 ...	126
Lampiran 15. Uji <i>Spearman's Rank Correlation</i> ROS dengan MDA.....	127