



**EFEKTIVITAS PENAMBAHAN EKSTRAK MESOCARP *Borassus flabellifer* PADA
PENGECER *BELTSVILLE THAWING SOLUTION* TERHADAP VIABILITAS
SPERMATOZOA ASAL KAUDA EPIDIDIMIS BABI**

*Effectiveness of Borassus flabellifer Mesocarp Extract in Beltsville Thawing Solution Diluents on
Spermatozoa Viability from Swine Cauda Epididymis*

Hermilinda Parera¹, Bernadus Ndoen¹, Victor Lenda¹, Muhammad Mirandy Pratama Sirat²

¹Department of Veterinary Science, Politeknik Pertanian Negeri Kupang
Jl. Prof DR Herman Yohanes Lasiana Kupang

²Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1, Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung 35145
E-mail: milindaparera81@gmail.com

ABSTRACT

*This study aimed to determine the effectiveness of adding various concentrations of palm fruit mesocarp (*Borassus flabellifer*) extract to Beltsville Thawing Solution (BTS) diluents on the viability of swines cauda epididymis spermatozoa at 13°C for 4 days. During the storage period, the metabolic activity of spermatozoa will produce free radicals which can reduce spermatozoa viability. *Borassus flabellifer* mesocarp extract contains antioxidants that can counteract free radicals. Testicular and epididymal samples from the 3-4 years old Duroc Landrace Swine Crossbreed. Swine cauda epididymis were obtained from the Oeba Abattoir, Kupang. Cauda epididymis spermatozoa were collected using a combination of incision, rinsing and suppression methods then collected and diluted using BTS and divided into four groups to be given various concentrations of *Borassus flabellifer* mesocarp extract (K0: without extract; K1: 0.01%; K2: 0.03%; and K3: 0.05 %) and preserved at 13°C for 4 days. Evaluation of spermatozoa viability was carried out microscopically. The results of cauda epididymis sperm viability were K0 = 43.57%; K1 = 54.81%; K2 = 50.52%; and K3 = 49.95%. Analysis of variance showed that the addition *Borassus flabellifer* mesocarp extract gave a significant difference ($P > 0.05$) to spermatozoa viability. The Duncan region test showed a significant difference ($P < 0.05$) between treatment K1 with treatments K0, K2 and K3 on the viability of spermatozoa. The conclusions of this study was the addition of *Borassus flabellifer* mesocarp extract at 0.01% concentration was the most appropriate dose to maintain the viability of swine cauda epididymis spermatozoa.*

Keywords: *Borassus flabellifer*, Cauda Epididymal, Mesocarp Extract, Spermatozoa, Swine.

PENDAHULUAN

Usaha pengembangan peternakan di daerah Nusa Tenggara Timur (NTT) terus dilakukan mengingat NTT memiliki potensi alam peternakan yang cukup besar untuk dikembangkan seperti ternak babi. Upaya yang dilakukan untuk meningkatkan populasi ternak babi dengan terus menerapkan berbagai kemajuan teknologi. Teknologi reproduksi yang sampai saat ini masih digunakan adalah inseminasi buatan (IB). Inseminator babi di Kupang masih menggunakan semen segar yaitu semen yang ditampung dari pejantan, dikemas dalam botol dan dibawa ke lokasi untuk langsung digunakan

dalam pelayanan inseminasi buatan. Semen segar ini tidak dapat bertahan lama lebih dari 24 jam, sehingga setiap akan melakukan pelayanan IB maksimal 1 jam sebelumnya dilakukan penampungan semen. Penggunaan semen segar dalam waktu yang lama memerlukan preservasi dengan pengencer dan temperatur tertentu agar motilitas dan daya hidup spermatozoa tetap terjaga. Semen babi berbeda dengan semen ternak lain karena semen babi sangat sensitif terhadap *cold shock*. Inovasi baru diperlukan dalam bidang reproduksi untuk mempertahankan kualitas semen yang dapat disimpan pada suhu lemari es, sehingga penampungan semen tidak dilakukan setiap akan memberikan pelayanan IB. Selama

proses penyimpanan pada suhu dingin di samping mengalami kejutan dingin, spermatozoa juga mengalami stres oksidatif atau terjadi serangan *Reactive Oxygen Species (ROS)*, maka dalam pengencer perlu ditambahkan antioksidan.

Sumber antioksidan dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan baik pada buah, akar maupun daunnya. Buah lontar merupakan tanaman khas yang banyak tumbuh di kabupaten Kupang berasal dari spesies *Borassus flabellifer* Linn. Buah lontar mengandung karbohidrat, protein, tanin, karotanoid. Senyawa β karoten 6217,48 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (Idayati *et al.*, 2014). Menurut Pryor *et al.*, (2000) β karoten merupakan salah satu senyawa yang memiliki kemampuan kerja sebagai senyawa antioksidan yang baik. Antioksidan sangat penting untuk menurunkan ROS yang dihasilkan oleh sel termasuk sel sperma yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Spermatozoa babi sangat rentan terhadap ROS karena ROS dapat merangsang reaksi akrosom dalam sel sperma melalui peroksidasi lipid membran dan aktivasi PLA (Basim *et al.*, 2009).

Sumber spermatozoa alternatif dapat diperoleh dari epididimis yang merupakan limbah rumah potong hewan karena memiliki kemampuan membuahi oosit yang sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi karena spermatozoa asal kauda epididimis memiliki motilitas, integritas membran plasma dan morfologi yang tidak berbeda dengan spermatozoa ejakulasi. Spermatozoa dari kauda epididimis tetap hidup dengan kualitas yang baik untuk jangka waktu antara 10-20 jam *postmortem* (Martinez-Pastor *et al.*, 2006).

Pengenceran semen dapat menggunakan bahan-bahan tertentu yang mampu memberi makanan dan memperpanjang masa hidup spermatozoa diluar tubuh. pengencer yang digunakan adalah *Beltsville Thawing Solution (BTS)*. Selama pengolahan dan penyimpanan semen, spermatozoa akan mengalami proses metabolisme seperti sel lainnya untuk mempertahankan hidupnya spermatozoa akan menghasilkan energi juga menghasilkan radikal bebas melalui reaksi peroksidasi lipid yang dapat merusak membran spermatozoa (Zaniboni *et al.*, 2006). Upaya untuk menghambat terjadinya kerusakan membran atau meminimalkan kerusakan membran sperma akibat peroksidasi lipid melalui pemberian selama proses penyimpanan dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan dalam pengencer. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dikaji lebih mendalam manfaat penambahan ekstrak mesocarp buah lontar terhadap daya hidup

(viabilitas) spermatozoa asal kauda epididimis babi.

MATERI DAN METODE

Koleksi dan Pengolahan Spermatozoa

Spermatozoa epididimis diperoleh dari testis yang merupakan limbah rumah pemotongan hewan Kupang. Koleksi semen dilakukan dengan cara *slicing* bagian cauda epididimis sedemikian rupa sehingga semen pada bagian cauda tersebut akan keluar. Epididimis dipisahkan dari testis dan dibilas dengan larutan NaCl fisiologis yang telah diberi 213iltrate213c (0,9% NaCl), kemudian kauda dipisahkan dari kaput dan korpus epididimis. Spermatozoa dikoleksi dengan cara membuat sayatan-sayatan pada kauda epididimis kemudian dibilas dengan larutan pengencer dengan penekanan bilas tekan (Rizal, 2005). Sebelum dibilas, tekan dengan larutan pengencer, spermatozoa disedot dengan pipet eritrosit untuk dihitung konsentrasinya. Spermatozoa hasil koleksi diencerkan dengan pengencer sesuai perlakuan. Pengencer yang digunakan adalah pengencer *Beltsville Thawing Solution (BTS)* dan pengencer tris sitrat fruktosa.

Pembuatan Ekstrak

Mesocarp buah lontar (*Borassus flabellifer*) sebanyak 2 kg dikeringkan pada oven dengan suhu 70°C, kemudian sampel dimaserasi selama 24 jam menggunakan pelarut ethanol setelah itu disaring, filtrat yang diperoleh di evaporasi sampai diperoleh ekstrak kental sebanyak 200 mL, kemudian diencerkan sesuai kebutuhan.

Variabel Kualitas Spermatozoa

Kualitas spermatozoa dievaluasi setelah koleksi (spermatozoa segar) serta setelah pengenceran dan preservasi. Kualitas spermatozoa yang dievaluasi pada tahap spermatozoa segar secara makroskopis yaitu warna dan derajat keasaman. Evaluasi terhadap spermatozoa yang telah diencerkan dan dipreservasi yaitu evaluasi terhadap persentase daya hidup spermatozoa

Analisis Data

Data hasil pengamatan secara makroskopis (warna dan pH) ditabulasi dan selanjutnya dianalisis menggunakan rata-rata serta diulas secara deskriptif, sedangkan data persentase viabilitas spermatozoa dianalisis secara kuantitatif menggunakan *two way analysis of varians (ANOVA)* dengan metode analisis regresi linear sederhana (Steel and Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Spermatozoa Kauda Epididimis Babi

Hasil penelitian menunjukkan secara makroskopis spermatozoa berwarna putih susu, konsistensi encer (Gambar 1) dengan derajat keasaman atau pH ± 7 . Gadea (2003) mengatakan pH semen babi $7,4 \pm 0,2$. Faktor-faktor yang mempengaruhi pH adalah umur, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, lingkungan dan kualitas pakan (Johnson *et al.*, 2000 dan Feradis, 2010). Rataan konsentrasi spermatozoa pada kauda epididimis babi adalah $280-300 \times 10^6$. Konsentrasi spermatozoa akan semakin meningkat setelah memasuki cauda epididimis, yakni sebesar $10-50 \times 10^9$ serta memiliki motilitas dan kemampuan membuahi oosit yang kurang lebih sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Senger, 1999). Rataan motilitas spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini yaitu $79,00 \pm 2,74\%$ dan masih berada pada kisaran persentase motilitas spermatozoa hasil penelitian Garner dan Hafez (2000) yaitu 80%.



Gambar 1. Konsistensi encer dan warna putih spermatozoa (tanda panah) asal kauda epididimis babi

Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah bangsa, individu, umur ternak, jumlah ejakulat dan perubahan temperatur (Shukla *et al.*, 1992; Johnson *et al.*, 2000). Persentase abnormal spermatozoa (Gambar 2) hasil penelitian tergolong rendah yaitu $11,5 \pm 2,33\%$ dan berada jauh dibawah standar maksimal abnormalitas yang dianjurkan yaitu 20% (Garner dan Hafez 2000; Johnson *et al.*, 2000).

Berdasarkan data sifat-sifat fisik spermatozoa segar epididimis babi yang diperoleh (Tabel 1) menunjukkan bahwa spermatozoa tersebut memiliki kualitas yang baik dan memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut, baik dalam bentuk semen cair-dingin maupun semen beku. Hal tersebut karena spermatozoa segar

memiliki persentase rataan spermatozoa motil $79,00 \pm 2,74\%$ dan spermatozoa abnormal $11,5 \pm 2,33\%$. Menurut beberapa peneliti, semen segar yang baik harus memiliki persentase spermatozoa motil 70% (Evans dan Maxwell, 1987), persentase spermatozoa abnormal 20% (Garner dan Hafez 2000; Johnson *et al.*, 2000), dan persentase Membran Plasma Utuh (MPU) 60% (Revell dan Mrode, 1994).

Tabel 1. Sifat fisik spermatozoa segar epididimis babi

Variabel	Rataan
Konsentrasi Spermatozoa	$280-300 \times 10^6 / \text{ml}$
Motilitas spermatozoa	$79,00 \pm 2,74 \%$
Abnormalitas spermatozoa	$11,5 \pm 2,33 \%$



Gambar 2. Abnormalitas ekor bengkok spermatozoa (tanda panah)

Tabel 2. menunjukkan hasil analisis varian terdapat interaksi yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara konsentrasi ekstrak mesoarp buah lontar dengan jangka waktu penyimpanan terhadap viabilitas spermatozoa asal cauda epididimis babi yang disimpan pada suhu 13°C . Dimana semakin lama penyimpanan semakin rendah viabilitas (daya hidup) spermatozoa cauda epididimis babi atau semakin lama penyimpanan daya hidup sperma makin rendah. Lama penyimpanan menyebabkan proses metabolisme terganggu akibat menurunnya produksi energi berupa ATP, sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Lama waktu penyimpanan spermatozoa berpengaruh terhadap daya hidup

spermatozoa, semakin lama waktu penyimpanan maka daya hidup spermatozoa semakin menurun disebabkan karena selama penyimpanan, spermatozoa tetap melakukan metabolisme yang menghasilkan reaksi oksidatif (Bebas *et al.*, 2015)

Tabel 2. Analisis variasi lama penyimpanan dengan konsentrasi ekstrak buah lontar.

Lama Preservasi (Hari)	Viabilitas (Daya Hidup)
1	81,17 ^f
2	79,92 ^f
3	68,50 ^e
4	55,50 ^d
5	37,25 ^c
6	18,75 ^a
7	6,92 ^b

Keterangan: Huruf yang berbeda kearah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata lama penyimpanan (P<0,05)

Pada saat proses pengenceran dan penyimpanan semen babi sangat peka terhadap perubahan temperatur karena lapisan lipid pada membran spermatozoa babi sangat tipis sehingga spermatozoa babi tidak tahan pada suhu rendah. Metabolisme spermatozoa selama penyimpanan akan menghasilkan reaksi antara spermatozoa dengan oksigen yang akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk akan memicu terjadinya peroksidasi lemak membran sehingga akan menurunkan daya hidup dan motilitas spermatozoa (Sikka, 1996).

Tabel 3. Uji Duncan Konsentrasi Ekstrak mesocarp buah lontar terhadap Viabilitas Spermatozoa cauda epididimis babi

Konsentrasi Ekstrak	Subset		
	1	2	3
Kontrol (K0)	43.57 ^a		
0,05% (K3)	49.95 ^a		
0,03% (K2)	50.52 ^a		
0,01% (K1)	54.81 ^b		
Sig.	1.000	.756	1.000

Adanya perbedaan yang nyata (P<0,05) antara perlakuan K1 dengan perlakuan K0, K2 dan K3 terhadap viabilitas spermatozoa asal cauda epididimis babi yang disimpan pada suhu 13°C. Uji Duncan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa dengan penambahan ekstrak mesocarp buah lontar pada K1 lebih tinggi dari K0, K2, dan K3 (P<0.05). Antioksidan yang

terkandung dalam ekstrak mesocarp buah lontar berupa vitamin C, alkaloid, tanin, dan flavanoid dapat dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat didalam sel, sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi peroksidasi lipid yang dapat menurunkan daya hidup spermatozoa (Aurich *et al.*, 1997). Pemberian konsentrasi ekstrak mesocarp buah lontar sebagai sumber antioksidan yang tepat, akan memberikan hasil yang maksimal dalam memutus reaksi rantai peroksidasi lipid pada membran spermatozoa (Bebas *et al.*, 2015)

Pada perlakuan K2 dan K3 daya hidup spermatozoa lebih rendah secara nyata (P<0,05) dibandingkan perlakuan K1. Hal ini membuktikan semakin tinggi konsentrasi ekstrak mesocarp buah lontar dalam pengencer semen BTS dapat mempersingkat daya tahan hidup spermatozoa asal cauda epididimis babi selama penyimpanan 13°C. Rahardianto *et al.* (2012) menyatakan bahwa pemberian larutan dengan konsentrasi yang lebih besar tidak sesuai sebagai media hidup karena sel spermatozoa hanya dapat melakukan metabolisme secara maksimal bila pengencer bersifat isotonik. Penambahan konsentrasi ekstrak mesocarp buah lontar akan mempertinggi konsentrasi alkaloid dan tanin dalam pengencer. Alkaloid dapat mengganggu aktivitas ATP-ase pada membran sel spermatozoa dibagian ekor. ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan kalium. Jika aktivitas ATP-ase terganggu, maka homeostatis ion natrium dan kalium akan terganggu sehingga konsentrasi Na⁺ intrasel meningkat, gradien Na⁺ melintasi membran sel akan mengalami penurunan (Ganong, 2001). Jika permeabilitas membran spermatozoa terganggu akan menyebabkan terganggunya transport nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoa untuk bertahan hidup dan pergerakannya (Salisbury dan Ross, 1995).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Simpulan penelitian ini adalah penambahan berbagai konsentrasi ekstrak mesocarp buah lontar (*Borassus flabellifer*) dan lama penyimpanan berpengaruh nyata (P<0.05) terhadap daya hidup spermatozoa asal cauda epididimis babi. Konsentrasi ekstrak *mesocarp* buah lontar 0,01% memberikan viabilitas spermatozoa asal cauda epididimis babi lebih tinggi dibandingkan kontrol, konsentrasi 0,03% dan 0,05%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan fertilisasi menggunakan semen cauda epididimis babi yang diberi pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS) dan ekstrak mesocarp buah lontar (*Borassus flabellifer*) konsentrasi 0,01%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada drh Vitri Ayu Kusuma dan Pihak Rumah Potong Hewan Kupang, Kepala Laboratorium Kesehatan Hewan Politani Kupang dan Teknisi Yonas Lino, Alumni mahasiswa D3 Kesehatan Hewan Politani Kupang; Maria Niron, Lidiersia Seu, Fransiskus Umbu Windi, Mateus Mado yang telah membantu penelitian ini, serta semua pihak yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aurich, J.E., U.S.H. Hoppe, and C. Aurich. 1997. Effect of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled stored stallion semen. *Theriogenology*. 40: 841-85.
- Awda, Basim J., M. Mackenzie-Bell, M.M. Buhr. 2009. Reactive Oxygen Species and Boar Sperm Function. *Biol. Reprod.* 81: 553-561
- Bebas W, Budiasa M K dan Ika Y Astutik. 2015. Penambahan Vitamin C pada Pengencer Spermatozoa Babi Landrace yang di simpan pada suhu 15°C. *Bul. Vet. Udayana*. 7(2): 179-185
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths. London.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta. Bandung
- Gadea, J. 2003. Pig Industry-Semen Extenders Used in the Artificial Insemination of Swine. A Review. *Spanish J. Agric. Research* 1(27): 17-27
- Ganong, W.F. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Garner, D.L dan Hafez, E.S.E., 2000. Spermatozoa and seminal plasma. Dalam: *Reproduction in Farm Animals*. B.Hafez/E.S.E. Hafez, Edisi ke 7. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. P : 165-167.
- Hafez, E.S.E. dan B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animal*, 7th edition. Baltimore : Lippincott Williams and Wilkins.
- Idayati, E., Suparmo., Purnama D. 2014. Potency of Mesocarp Bioactive Compounds in Lontar Fruit (*Borassus flabellifer* L.) as A Source of Natural Antioxidant. *Journal Agritech*, 34:3
- Johnson, L.A., K.F. Weitze, P. Fiser, W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of Boar Semen. *J. Anim. Sci.* 62: 143-172
- Martinez-Pastor, F., F. Martinez, V.G. Macias, M.C. Estes, E. Anel, R. M.R.F. Santos, A.J. Soler, P. De Paz, J. Garde and L. Anel. 2006. A pilot study on post thawing quality of Iberian red deer spermatozoa (epididymal and electroejaculated) depending on glycerol concentration and extender osmolality. *Theriogenology* 66: 1165 – 72
- Pryor WA., Stahl W., Roch CL. 2000. B-carotene From Biochemistry to Clinical Trials *Nutr.Rev.*58:39-53.
- Revell SG, Mrode RA. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim Reprod Sci* 36: 77-86.
- Rizal M. 2005. Efektivitas Berbagai Konsentrasi β -Karoten terhadap Kualitas Semen Beku Domba Garut. *Animal Production*, Vol.7, No. 1 Januari 2005:6-13.
- Salisbury, B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 1. Edisi IV. ITB, Bandung.
- Senger, P.L. 1999. The organization and function of the male reproduction system. In : *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conception, Inc., Pullman. Pp.. 32-57.
- Shukla, S.N., B.B. Singh, N.S. Tomar and B.S. Misra. 1992. Factors Affecting Spermatozoan Motility in Preserved Semen. *Indian Vet J.* 69 : 856 – 857
- Sikka SC. 1996. Oxidative Stress and Role of Antioxidant in Normal and Abnormal Sperm Function. *Frontiers in Bioscience*; 78-86 August 1.
- Steel, R.G.D. dan Torrie, J.H. (1993). *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Alih bahasa: B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama. Bogor.
- Zaniboni, L., R. Rizzi and S. Cerolini. 2006. Combined effect of DHA and α -tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology*. 65 (1): 18131827.