

**MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA SAPI ACEH  
SETELAH PEMBEKUAN MENGGUNAKAN PENGECER  
SITRAT KUNING TELUR DENGAN PENAMBAHAN  
EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH  
(*Hylocereus polyrhizus*)**

*Motility and Viability Spermatozoa Aceh Cattle after Freezing Using Yolk Citrate Diluent  
with Additional of Peels Red Dragon Fruit Extract  
(*Hylocereus polyrhizus*)*

Melisa Lola Anggraini<sup>1</sup>, Dasrul<sup>2</sup>, Juli Melia<sup>2</sup>, Triva Murtina Lubis<sup>3</sup>, Rosmaidar<sup>4</sup>, Hamdan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>3</sup>Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>4</sup>Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

E-mail: [melisaanggraini975@gmail.com](mailto:melisaanggraini975@gmail.com)

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan. Penelitian ini menggunakan semen segar sapi aceh yang dikoleksi menggunakan vagina buatan dan dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan pengencer dengan 5 kali ulangan. Kelompok perlakuan kontrol yaitu semen diencerkan dalam pengencer sitrat kuning telur tanpa penambahan ekstrak kulit buah naga merah (P0), kelompok perlakuan semen diencerkan dalam pengencer sitrat kuning telur ditambah ekstrak kulit buah naga merah 0,2% (P1), 0,4% (P2), 0,6% (P3) dan 0,8% (P4). Data dianalisis menggunakan uji *analysis of variance* (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah konsentrasi 0,0; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8% dalam pengencer sitrat kuning telur menghasilkan persentase motilitas adalah  $23,60 \pm 4,72$ ;  $26,60 \pm 5,94$ ;  $36,40 \pm 4,98$ ;  $45,40 \pm 4,56$  dan  $33,40 \pm 10,13$ . Persentase viabilitas spermatozoa adalah  $29,10 \pm 5,82$ ;  $35,34 \pm 5,85$ ;  $42,52 \pm 4,87$ ;  $51,76 \pm 7,13$  dan  $48,6 \pm 6,05$ . Penambahan ekstrak kulit buah naga merah konsentrasi 0,6% menghasilkan persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa yang lebih baik dibandingkan konsentrasi perlakuan lainnya. Simpulan penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur dapat meningkatkan persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan.

**Kata kunci** : sapi aceh, motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, ekstrak kulit buah naga merah

**ABSTRACT**

*The aim of this study was to determine the effect of addition peels red dragon fruit extract (*Hylocereus polyrhizus*) in the yolk citrate diluent to the motility and viability of the aceh cattle spermatozoa after freezing. This study used fresh semen of aceh cattle collected using artificial vagina and divided into 5 groups of diluent treatments with 5 replications. The control group of cement was diluted in the yolk citrate dilator without the addition of red dragon fruit skin extract (P0), semen treatment group was diluted in the yolk citrate diluent plus peels red dragon fruit extract 0.2% (P1), 0.4% (P2), 0.6% (P3) and 0.8% (P4). Data were analyzed by using analysis of variance (ANOVA) and continued by Duncan test. The results showed that the addition of peels red dragon fruit extract 0.0; 0.2; 0.4; 0.6 and 0.8% of yolk citrate diluent yields motility percentage is  $23.60 \pm 4.72$ ;  $26.60 \pm 5.94$ ;  $36.40 \pm 4.98$ ;  $45.40 \pm 4.56$  and  $33.40 \pm 10.13$ . Percentage of spermatozoa viability were  $29.10 \pm 5.82$ ;  $35.34 \pm 5.85$ ;  $42.52 \pm 4.87$ ;  $51.76 \pm 7.13$  and  $48.6 \pm 6.05$ . The addition of peels red dragon fruit extract 0.6% yields better percentage of motility and spermatozoa viability than other treatment doses. The conclusion of addition peels red dragon fruit extract in yolk citrate diluent can increase the percentage motility and viability spermatozoa of aceh cattle after freezing.*

**Keywords** : aceh cattle, spermatozoa motility, viability of spermatozoa, peel red dragon fruit extract.

**PENDAHULUAN**

Sapi aceh merupakan salah satu plasma nutfah sapi potong lokal yang ada di Indonesia. Sapi aceh memiliki keunggulan tersendiri, baik kemampuan adaptasi terhadap

kondisi lingkungan, iklim, dan cuaca yang buruk, serta kemampuan daya tahan terhadap beberapa penyakit terutama penyakit parasit (Bakhtiar dkk., 2015).

Masalah perkembangan dan pembibitan sapi aceh adalah masih terjadinya *inbreeding* dan manajemen pemeliharaan ternak yang tidak baik. Hasil survei yang telah dilakukan oleh Dinas kesehatan hewan dan perternakan Aceh (2016), terjadi penurunan populasi sapi aceh dalam 13 tahun terakhir yakni pada tahun 2002 sampai tahun 2015. Populasi sapi aceh pada tahun 2002 adalah 711.143 ekor, turun menjadi 671.086 ekor pada tahun 2010 dan pada tahun 2015 menjadi 580.287 ekor. Berdasarkan kenyataan tersebut, perlu dilakukan upaya peningkatan populasi sapi aceh secara berkesinambungan.

Salah satu cara untuk meningkatkan jumlah populasi sapi aceh adalah dengan aplikasi Inseminasi Buatan (IB). Aplikasi IB dalam peningkatan populasi sapi aceh masih menemukan banyak kendala, terutama menyangkut penyediaan semen beku secara berkesinambungan dan belum ditemukannya metode dan bahan pengencer yang tepat untuk mempertahankan kualitas spermatozoa setelah pembekuan (Aslam dkk., 2014).

Pembekuan spermatozoa merupakan proses penghentian kehidupan spermatozoa secara sementara untuk mengurangi proses metabolisme dengan tujuan mengurangi penggunaan energi. Masalah yang ditimbulkan dari proses pembekuan semen adalah stres terhadap cekaman dingin (*cold shock*) dan terbentuknya kristal es akibat proses pengeluaran air secara intraseluler (Toelihere, 1985).

Menurut Arifiantini dan Yusuf (2006), untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer seperti *buffer* dan krioprotektan yang dapat melindungi dan mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan dan *thawing*. Salah satu bahan pengencer yang dapat digunakan untuk semen sapi adalah pengencer sitrat kuning telur. Pengencer sitrat memiliki sifat *buffer* yang baik. Kuning telur mempunyai komponen berupa lipoprotein dan lesitin yang dapat mempertahankan dan melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Salisbury dan VanDermark, 1985).

Keterbatasan daya hidup spermatozoa selain disebabkan oleh *cold shock* juga disebabkan oleh terjadinya defisit energi dan kerusakan membran sel sebagai akibat dari peroksidasi lipid (Situmorang dkk., 2000). Upaya untuk meminimalkan kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid selama proses pendinginan dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan pada bahan pengencer.

Salah satu antioksidan alami terdapat pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Menurut Nurliyana dkk. (2010), aktivitas antioksidan kulit buah naga merah lebih besar daripada aktivitas daging buahnya, yaitu dalam 1 mg/ml kulit buah naga merah mampu menghambat  $83,48 \pm 1,02\%$  radikal bebas, sedangkan pada daging buah naga hanya mampu menghambat radikal bebas sebesar  $27,45 \pm 5,03\%$ . Kulit buah naga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kobalamin, fenolik, karoten, dan fitoalbumin (Jaafar dkk., 2009). Sehingga kulit buah naga merah berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber antioksidan alami.

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilihat kualitas semen sapi aceh setelah pembekuan menggunakan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

## MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 sampai Januari 2018 di Laboratorium Prossesing semen beku Balai Inseminasi Buatan Daerah Saree dan Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Pembuatan ekstrak etanol kulit buah naga merah dilaksanakan di Laboratorium Penelitian Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 ekor sapi aceh jantan sehat berumur 3 tahun yang minimal mempunyai motilitas massa (++) dan motilitas hidup diatas 70%. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, cawan petri, pipet tetes, spuit insulin, *object glass*, *cover glass*, *stopwatch*, *counter*, *filling and sealing*, labu Erlenmeyer, timbangan digital, *vacuum rotary evaporator*, blender, *cool top*, alat soklet, tabung reaksi, kertas saring, aluminium foil, kertas label, gelas ukur, pinset, gunting, indikator pH, rak tabung reaksi, *tissue*, mini straw (0,25 ml), kapas, sitrat kuning telur, eosin negrosin 2%, akuades, alkohol 70%, antibiotiok penisilin dan streptomisin, serta ekstrak etanol kulit buah naga merah.

Proses penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak etanol kulit buah naga merah dan penyiapan sitrat kuning telur. Tahap selanjutnya dilakukan koleksi semen segar dari satu ekor sapi aceh jantan menggunakan vagina buatan. Penampungan semen dilakukan pada pagi hari (pukul 08.00-09.00 WIB) satu kali dalam seminggu. Setelah penampungan dilakukan proses evaluasi semen segar mencakup pemeriksaan secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume, pH, warna, bau, dan konsistensi. Sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi pemeriksaan gerakan massa, konsentrasi, motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa. Dilakukan proses pembuatan pengencer (sitrat kuning telur dan penambahan ekstrak kulit buah naga merah). Semen segar yang diperoleh dibagi dalam 5 kelompok perlakuan. Perlakuan kontrol (P0) pengencer sitrat kuning telur tanpa penambahan ekstrak kulit buah naga merah, perlakuan 1 (P1) sitrat kuning telur ditambah ekstrak kulit buah naga merah 0,2%, perlakuan 2 (P2) sitrat kuning telur ditambah ekstrak kulit buah naga merah 0,4%, perlakuan 3 (P3) sitrat kuning telur ditambah ekstrak kulit buah naga merah 0,6% dan perlakuan 4 (P4) sitrat kuning telur ditambah ekstrak kulit buah naga merah 0,8%, kemudian semen dan pengencer dihomogenkan. Jumlah bahan pengencer semen dihitung dengan rumus:

$$V.P = \frac{V.S \times K.Sp \times M}{K.Sp/St} \times V.St$$

Keterangan: 1). Volume Pengencer (VP), 2). Volume Semen (VS), 3). Konsentrasi Spermatozoa (K.Sp), 4. Volume Straw (V.St), dan 5). Motilitas (M).

Semen yang telah diencerkan dan dikemas dalam mini straw (0,25 ml), kemudian diekuilibrasikan di dalam lemari pendingin (*cool top*) bersuhu 5°C selama 4 jam. Selanjutnya mini straw diletakkan di atas permukaan nitrogen cair (suhu berkisar -110°C) setinggi 2-3 cm di atas permukaan nitrogen selama 10 menit. Kemudian straw dimasukkan ke dalam nitrogen cair (suhu -196°C) dan disimpan dalam kontainer. Setelah disimpan selama 7 hari, masing-masing sampel diencerkan kembali (*thawing*). *Thawing* dilakukan dengan cara memasukkan straw ke dalam air bersuhu 37°C (di dalam penangas air) selama 30 detik. Parameter kualitas spermatozoa yang diamati setelah pembekuan adalah persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa.

### Persentase motilitas spermatozoa

Semen beku sesudah *dithawing* diteteskan pada objek gelas dengan pembesaran 40 × 10, diperiksa secara berurutan dengan menggeser bidang pandang dari kiri ke kanan untuk memperoleh 100 - 200 spermatozoa dengan memperhatikan gerakan sebagai berikut: 1). Gerakan progresif (P), 2). Gerakan sirkular/melingkar (C), 3). Necrospermia (N), dan 4). Gerakan reverse/mundur (R).

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{spermatozoa progresif}}{\text{jumlah keseluruhan spermatozoa}} \times 100\%$$

### Persentase hidup spermatozoa

Semen beku sesudah *dithawing* ditetaskan pada ujung objek gelas kemudian ditetaskan zat warna pada ujung gelas objek dan dicampurkan. Preparat ulas dibuat dengan meletakkan gelas objek lainnya diujung gelas objek pertama membentuk sudut 45° dan ditarik tanpa tekanan, lalu dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop. Diperiksa secara berurutan dengan menggeser bidang pandang dari kiri ke kanan untuk memperoleh 100 - 200 spermatozoa.

$$\% \text{ hidup} = \frac{\text{spermatozoa hidup}}{\text{jumlah keseluruhan spermatozoa}} \times 100\%$$

Jumlah spermatozoa yang hidup ditandai dengan adanya penyerapan zat warna sedangkan spermatozoa yang mati tidak menyerap zat warna.

### Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola searah. Data motilitas dan viabilitas yang diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) satu arah, dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Analisis data dilakukan dengan bantuan SPSS versi 20.0 *for Windows* (Steel dan Torrie, 1990).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan kualitas semen segar sapi aceh dari 5 kali ejakulat pejantan yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rata-rata ( $\pm$ SD) kualitas semen segar sapi aceh setelah koleksi.

| Parameter                          | Hasil Pengamatan     |
|------------------------------------|----------------------|
| <b>Makroskopis</b>                 |                      |
| Volume (ml)                        | 4,36 $\pm$ 0,77      |
| Warna                              | Krem keputih-putihan |
| Konsistensi                        | Sedang sampai Kental |
| pH                                 | 7,00 $\pm$ 0,00      |
| Bau                                | Amis (khas)          |
| <b>Mikroskopis</b>                 |                      |
| Gerak massa                        | ++                   |
| Motilitas (%)                      | 72,00 $\pm$ 4,47     |
| Konsentrasi (10 <sup>9</sup> / ml) | 1,18 $\pm$ 0,08      |
| Persentase spermatozoa hidup (%)   | 79,60 $\pm$ 3,85     |
| Abnormalitas (%)                   | 8,80 $\pm$ 1,79      |

Persyaratan semen segar yang layak diproses menjadi semen beku berdasarkan pernyataan Toelihere (1985) dan Balai Inseminasi Buatan Dirjen Peternakan yakni perkiraan motilitas minimal 70%, konsentrasi lebih dari 800 juta per milliliter semen, persentase hidup spermatozoa minimal 75%, abnormalitas tidak lebih dari 20% dan semen memiliki gerakan massa ++/+++. Berdasarkan hasil penilaian semen segar pada Tabel 1, dapat disimpulkan bahwa semen segar sapi aceh yang digunakan pada penelitian ini mempunyai kategori baik dan memenuhi syarat untuk digunakan sebagai sampel semen untuk dibekukan.

### Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan Menggunakan Pengencer Sitrat Kuning Telur dengan Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa setelah proses pembekuan merupakan penilaian termudah yang digunakan untuk melihat apakah semen yang dibekukan

layak digunakan untuk aplikasi IB. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan menggunakan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah berbagai dosis dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rata-rata ( $\pm$ SD) persentase motilitas spermatozoa sapi aceh setelah pengenceran sampai pencairan kembali berdasarkan tingkat dosis ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur

| Perlakuan  | Waktu Pengamatan              |                                |                                 |
|------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|            | Setelah Pengenceran           | Setelah Ekuilibrasi            | Setelah Pembekuan               |
| P0 (0,00%) | 69,00 $\pm$ 3,54 <sup>a</sup> | 53,80 $\pm$ 4,09 <sup>c</sup>  | 23,60 $\pm$ 4,72 <sup>d</sup>   |
| P1 (0,20%) | 69,40 $\pm$ 3,71 <sup>a</sup> | 57,80 $\pm$ 3,35 <sup>bc</sup> | 26,60 $\pm$ 5,94 <sup>dc</sup>  |
| P2 (0,40%) | 70,00 $\pm$ 4,47 <sup>a</sup> | 63,20 $\pm$ 4,09 <sup>ab</sup> | 36,40 $\pm$ 4,98 <sup>b</sup>   |
| P3 (0,60%) | 71,20 $\pm$ 4,38 <sup>a</sup> | 66,80 $\pm$ 3,49 <sup>a</sup>  | 45,40 $\pm$ 4,56 <sup>a</sup>   |
| P4 (0,80%) | 70,20 $\pm$ 4,38 <sup>a</sup> | 60,40 $\pm$ 5,90 <sup>b</sup>  | 33,40 $\pm$ 10,14 <sup>cb</sup> |

Ket: <sup>a,b,c,d</sup> Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Berdasarkan Tabel 2 di atas rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi aceh yang diencerkan dengan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah pada berbagai dosis mengalami penurunan selama proses pembekuan. Penurunan persentase motilitas spermatozoa terlihat dari tahap pengenceran, ekuilibrasi sampai pencairan kembali (*thawing*).

Persentase motilitas spermatozoa setelah proses pembekuan mengalami penurunan. Hal ini disebabkan cadangan energi yang dimiliki spermatozoa hanya sedikit untuk bergerak. Pada proses pembekuan, spermatozoa mengalami cekaman dingin sehingga mengalami destabilisasi membran. Destabilisasi membran akan meningkatkan permeabilitas membran terhadap ion-ion, termasuk ion kalsium sehingga akan berakibat terhadap meningkatnya ion kalsium dalam sitosol yang diikuti dengan meningkatnya ion kalsium dalam mitokondria. Peningkatan konsentrasi ion kalsium dalam mitokondria ini akan menurunkan sintesa ATP dalam mitokondria sehingga cadangan energi yang dapat digunakan untuk motilitas spermatozoa akan menurun (Simpson dan Russell, 1996). Lebih lanjut Einarsson (1992) menyatakan bahwa proses pendinginan (*cooling*), pembekuan (*freezing*) dan pencairan kembali (*thawing*) sangat mempengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup sel membran.

Pada pengamatan setelah pengenceran, penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa sapi aceh. Hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur belum mempengaruhi kondisi metabolisme dan fisiologis spermatozoa, sehingga tidak mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Hasil pengamatan setelah ekuilibrasi terlihat bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur berpengaruh secara nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa sapi aceh. Persentase motilitas spermatozoa kelompok P3 lebih tinggi dibandingkan kelompok P0, P1 dan P4, namun P3 tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan P2. Fakta ini membuktikan bahwa selama proses ekuilibrasi sudah terjadi interaksi antara komponen-komponen ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur dengan spermatozoa. Selain itu komponen-komponen ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur sudah mempengaruhi metabolisme dan kondisi fisiologis spermatozoa.

Persentasi motilitas spermatozoa pada pengamatan setelah pembekuan, dimana penambahan ekstrak kulit buah naga merah berbagai tingkat dalam pengencer sitrat kuning telur berpengaruh secara nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa sapi aceh. Persentase motilitas spermatozoa kelompok P3 lebih tinggi dibanding dengan kelompok P0, P1, P2, dan P4. Hasil ini membuktikan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah

dalam pengencer sitrat kuning telur dapat meningkatkan motilitas spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan.

Meningkatnya persentase motilitas spermatozoa sapi aceh setelah ekuilibrasi dan pembekuan menggunakan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah dibandingkan dengan menggunakan sitrat kuning telur saja (P0), disebabkan oleh kandungan bioaktif dalam ekstrak kulit buah naga merah yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk motilitas seperti karbohidrat, protein, lemak, kalsium, vitamin yang diperlukan untuk nutrisi spermatozoa. Karbohidrat, protein dan lemak berperan sebagai sumber energi untuk pergerakan spermatozoa (Hafez, 2000). Selain itu ekstrak kulit buah naga merah juga banyak mengandung vitamin C, vitamin E, alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan karoten, yang dapat bersifat sebagai antioksidan. Sebagaimana dilaporkan oleh Manuhuruk (2016), kapasitas antioksidan kulit buah naga merah adalah  $321,78 \pm 6,29$  mg/100 g. Antioksidan yang terkandung di dalam ekstrak kulit buah naga merah pada pengencer dapat mengikat radikal bebas yang terdapat dalam sel, sehingga dapat mencegah peroksidasi lipid yang dapat menurunkan motilitas selama proses pembekuan.

Hasil penelitian ini juga memperlihatkan bahwa persentase motilitas spermatozoa sapi aceh setelah ekuilibrasi dan pembekuan pada kelompok penambahan ekstrak kulit buah naga merah 0,8% (P4) lebih rendah dibandingkan dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah 0,6% (P3) dan penambahan ekstrak kulit buah naga merah 0,4% (P2). Hal ini diduga terjadi perubahan pH pada pengencer semen yang diberikan ekstrak kulit buah naga merah. Pemberian ekstrak kulit buah naga merah dengan dosis yang tinggi menyebabkan pH pengencer menjadi terganggu karena pH pada kulit buah naga merah bernilai 5,5 (Abdullah dan Abdullah, 2011). Dinyatakan Sumarsono (1998) spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH medium dari keadaan netral, terutama terhadap pH rendah.

### **Persentase Viabilitas Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan Menggunakan Pengencer Sitrat Kuning Telur dengan Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)**

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen karena berhubungan dengan daya hidup spermatozoa. Evaluasi persentase viabilitas spermatozoa biasanya ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna eosin yang dicampurkan pada spermatozoa. Apabila spermatozoa mati maka akan menyerap zat warna yang ada di sekitarnya sedangkan yang hidup tidak menyerap zat warna. Pada sel spermatozoa yang mati akan terjadi kerusakan membran plasmanya dan selanjutnya akan menyerap zat warna. Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pengenceran sampai pencairan kembali berdasarkan tingkat dosis ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur terdapat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rata-rata ( $\pm$ SD) persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pengenceran sampai pencairan kembali berdasarkan tingkat dosis ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur

| Perlakuan  | Waktu Pengamatan              |                                |                                |
|------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|            | Setelah Pengenceran           | Setelah Ekuilibrasi            | Setelah Pembekuan              |
| P0 (0,00%) | 71,08 $\pm$ 5,09 <sup>a</sup> | 60,74 $\pm$ 5,30 <sup>c</sup>  | 29,10 $\pm$ 5,82 <sup>d</sup>  |
| P1 (0,20%) | 72,92 $\pm$ 5,20 <sup>a</sup> | 62,60 $\pm$ 5,28 <sup>cb</sup> | 35,34 $\pm$ 5,86 <sup>dc</sup> |
| P2 (0,40%) | 75,20 $\pm$ 6,02 <sup>a</sup> | 67,08 $\pm$ 4,96 <sup>ba</sup> | 42,52 $\pm$ 4,87 <sup>cb</sup> |
| P3 (0,60%) | 78,22 $\pm$ 4,12 <sup>a</sup> | 69,04 $\pm$ 3,73 <sup>a</sup>  | 51,76 $\pm$ 7,14 <sup>a</sup>  |
| P4 (0,80%) | 78,02 $\pm$ 4,26 <sup>a</sup> | 68,94 $\pm$ 1,71 <sup>a</sup>  | 48,60 $\pm$ 6,05 <sup>ab</sup> |

Ket: <sup>a,b,c,d</sup> Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat rata-rata persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh yang diencerkan dengan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah berbagai konsentrasi mengalami penurunan selama proses pembekuan. Penurunan persentase viabilitas spermatozoa terlihat mulai tahap pengenceran, ekuilibrisasi sampai pencairan kembali.

Rendahnya persentase viabilitas spermatozoa setelah pencairan kembali dalam berbagai kelompok perlakuan kemungkinan disebabkan oleh terjadinya perubahan polaritas pengencer. Kondisi ini akan mempengaruhi destabilitas membran spermatozoa yang akan berakibat bertambahnya kematian sel. Selama proses pembekuan terjadi depolarisasi atom-atom atau molekul-molekul penyusun membran yang mengakibatkan destabilitas membran sehingga dapat menurunkan fungsi fisiologis membran (Fuller dan Shields, 1998).

Hasil pengamatan persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pengenceran tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) antar perlakuan. Temuan ini mengindikasikan bahwa konsentrasi ekstrak kulit buah naga merah yang ditambahkan dalam pengencer sitrat kuning telur belum sepenuhnya mempengaruhi metabolisme dan fisiologis spermatozoa.

Persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah dilakukan ekuilibrisasi menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ) antar perlakuan. Persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh pada kelompok P3 lebih tinggi secara nyata ( $P<0,05$ ) dari kelompok P0 (kontrol) dan kelompok P1, namun tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) dibandingkan dengan P2 dan P4. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah ke dalam pengencer sitrat kuning telur berpengaruh secara nyata terhadap peningkatan persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah ekuilibrisasi.

Persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan atau pencairan kembali (*thawing*) menunjukkan ada perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ) antar perlakuan. Persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh pada kelompok P3 lebih tinggi secara nyata ( $P<0,05$ ) dari kelompok P0 (kontrol) dan kelompok P1, namun tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) dibandingkan dengan P2 dan P4.

Terjadinya peningkatan persentase viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah ekuilibrisasi dan pembekuan menggunakan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah dibandingkan dengan kelompok kontrol (P0), kemungkinan disebabkan oleh aktivitas kandungan bahan bioaktif dalam ekstrak kulit buah naga merah yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk mempertahankan stabilitas dan permeabilitas sel seperti karbohidrat, protein, kalsium, vitamin C, vitamin E, flavanoid dan karoten. Menurut Putranti dkk. (2010), protein, berperan dalam kestabilan dan permeabilitas membran plasma spermatozoa. Protein akan membungkus membran plasma spermatozoa, sehingga fosfolipid membran spermatozoa hanya sedikit yang mengalami proses peroksidasi yang akan merusak membran sel spermatozoa. Kandungan mineral dalam ekstrak kulit buah naga merah seperti kalium, natrium dan klorida sangat diperlukan untuk menjaga integritas fungsional membran plasma spermatozoa dan bikarbonat berperan sebagai agen penyangga untuk mencegah penurunan pH semen selama proses penyimpanan (Purdy, 2006).

Ekstrak kulit buah naga merah juga banyak mengandung vitamin C, vitamin E, flavonoid dan karoten, yang berperan penting dalam mengoptimalkan laju fruktolisis sehingga kebutuhan energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa selama proses pembekuan dapat terpenuhi. Vitamin C, vitamin E, flavonoid dan karoten sebagai antioksidan dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat di dalam sel sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid yang dapat menghambat glikolisis dan motilitas. Chinoy dkk. (1991), melaporkan bahwa pemberian vitamin C yang dikombinasikan dengan kalsium ternyata dapat mempertinggi kadar  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  serta aktivitas ATPase dan *suksinat*

*dehidrogenase*, sehingga mengakibatkan terjadinya peningkatan metabolisme energi spermatozoa kelinci.

## PENUTUP

### Kesimpulan

Penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer sitrat kuning telur meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan. Penambahan ekstrak kulit buah naga merah 0,6 g/100 ml lebih baik dibandingkan 0,2 g/100 ml, 0,4 g/100 ml, dan 0,8 g/100 ml pengencer.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang daya fertilitas spermatozoa sapi aceh hasil pembekuan dalam pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. dan N. Abdullah. 2011. Quality characteristics and acceptability of three types of pitaya fruits in a consumer acceptance test. *Journal of Tourism Hospitality & Culinary Arts*. 3(1):89-98.
- Arifiantini, R.I. dan T.L. Yusuf. 2006. Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi frisen holstein. *Majalah Ilmiah Peternakan*. 9(3):145-152.
- Bakhtiar, Yumadi, dan Jamaliah. 2015. Kajian performans reproduksi sapi aceh sebagai informasi dasar dalam pelestarian plasma nutfah genetik ternak lokal. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 3(2):29-33.
- Chinoy, N.J., E. Sequeirina, and M.V. Narayana. 1991. Effects of vitamin C and calcium on the reversibility of fluoride-induced alterations in spermatozoa of the rabbits (abstr). *Floride*. 24:29-39.
- Diskewannak Aceh 2016. *Profil Sapi Aceh*. Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Provinsi Aceh, Banda Aceh.
- Einarsson, S. 1992. Concluding remarks. in: influence of thawing method on motility, plasma membran integrity and morphology of frozen stallion spermatozoa. bor. K., B.Colenbrander, A. Fazelli, J. Palleliet and L. Malmgren (Eds.). 48th. 1997. pp. 531-536.
- Fuller, G.M. and D. Shields. 1998. *Molecular Basic of Medical Cell Biology*. Prentice Hall International. Inc. USA.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals. 7th Ed.* Lea & Febiger, Philadelphia.
- Jaafar, R. Ali, M. Nazri, dan W. Khairuddin. 2009. Proximate analysis of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *American Journal of Applied Sciences*. 6:341-346.
- Manuhuruk, F.M. 2016. Efektivitas Penambahan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai Pewarna, Antioksidan, dan Antimikroba pada Sosis Daging Sapi selama Penyimpanan Dingin. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurliyana, R., Z.I Syed, S.K. Mustapha, M.R. Aisyah, and R.K. Kamarul. 2010. Antioxidant study of pulp and peel dragon fruits: a comparative study. *Int. Food Res. J.* 17:365-375.
- Purdy, P.H. 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rumin Research*. 63(3):215-225



- Putranti, O.D., Kustono, dan Ismaya. 2010. Pengaruh penambahan *crude tannin* pada sperma cair kambing peranakan etawa yang disimpan selama 14 hari terhadap viabilitas spermatozoa. *Buletin Peternakan*. 34(1):1-7.
- Simpson, P.B., and J.T. Russell. 1996. Mitochondria support inositol 1,4,5-tris-phosphate-mediated  $Ca^{2+}$  waves in cultured oligodendrocytes. *J. Biol. Chem.* 267:23467-23470.
- Situmorang, P., E. Triwulaningsih, A. Lubis, W. Caroline, dan T. Sugiarti. 2000. Pengaruh proline, carnitine terhadap daya hidup spermatozoa yang disimpan dalam suhu 5°C (*chilling semen*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 6(1):1-6.
- Steel, R.G.D. dan G. Torrie, 1990. *Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Sumarsono T. 1998. Peningkatan kualitas spermatozoa kerbau lumpur dengan penambahan asam askorbat dalam pengencer semen beku. *Tesis*. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa, Bandung.