

Suplementasi Perasan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Meningkatkan Kualitas Semen Sapi Limousin *Post Thawing*

Supplementation of Kelor Leaf (Moringa oleifera) Aqueous Extract Increase on Post-Thawed Limousin Bull Sperm Quality

Syuhuud Arumbinang Wajdi¹, Budi Utomo², Rimayanti², Erma Safitri^{2*}, Tri Wahyu Suprayogi², Wurlina²

¹Mahasiswa Magister Biologi Reproduksi, ²Divisi Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

*Corresponding author: erma-s@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini untuk mencari dosis terbaik dari perasan daun kelor pada pencampuran pengencer skim susu kuning telur pada kualitas semen sapi limousin *Post thawing* pada aspek motilitas, viabilitas dan kadar MDA. Lima perlakuan pada penelitian ini adalah pengencer susu skim kuning telur saja, penambahan 2,5% perasan daun kelor pada 4 ml pengencer susu skim kuning telur, 5% perasan daun kelor pada 4 ml pengencer susu skim kuning telur, 10% perasan daun kelor pada 4ml pengencer susu skim kuning telur, 20% perasan daun kelor pada 4ml pengencer susu skim kuning telur. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan. Hasil motilitas spermatozoa terbaik ditunjukkan pada P2 sebesar $43^b \pm 5,70$, angka viabilitas terbaik ditunjukkan pada P3 dengan angka $58,20^b \pm 8,72$ dan kadar MDA paling rendah ditunjukkan pada P4 dengan angka $5,434^a \pm 1,034$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah penambahan perasan daun kelor pada dosis 10% mampu meningkatkan kualitas semen sapi limousine *post thawing*.

Kata kunci: diluter, *Moringa oleifera*, Limousin, kualitas semen beku

Abstract

The purpose of this research was to determine the best dosage of *Moringa oleifera* Aqueous extract in egg yolk skim milk extender for post thawed Limousin Bull sperm quality on aspect viability, and the level of. The treatment was divided into five groups: egg yolk and skim milk diluter (P0), 2,5% *M. oleifera* aqueous extract in 4 ml egg yolk skim milk (P1), 5% *M. oleifera* aqueous extract in 4 ml egg yolk skim milk (P2), 10% *M. oleifera* aqueous extract in 4 ml egg yolk skim milk (P3), 20% *M. oleifera* aqueous extract in 4 ml egg yolk skim milk (P4). The sperm quality was observed post thawing. The data were analyzed using ANOVA and Duncant Test. The best sperm motility showed on P2 with $43^b \pm 5,70$, the best sperm viability showed on P3 with $58,20^b \pm 8,72$ and than the lowest level of malondialdehyde showed on P4 with $5,434^a \pm 1,034$. In conclusion addition of *M. oleifera* on dose 10% can increase quality of Limousin Sperm Post Thawed.

Keywords: diluter, *Moringa oleifera*, Limousin, frozen sperm quality

Received: 30 Januari 2021

Revised: 14 April 2021

Accepted: 12 Juni 2021

PENDAHULUAN

Program pembangunan nasional sektor peternakan memiliki peranan yang sangat penting dalam mencukupi kebutuhan pangan nasional. Peningkatan jumlah penduduk Indonesia mengharuskan tersedianya jumlah pangan khususnya sumber protein hewani asal

unggas, ruminansia kecil maupun ruminansia besar.

Ketersediaan daging sapi masih belum mencukupi kebutuhan masyarakat Indonesia, sehingga pemerintah melakukan impor daging sapi sebesar 35% dari kebutuhan daging sapi secara nasional (Ditjennak, 2010^a). Hal tersebut dikarenakan semakin meningkatnya kesadaran penduduk akan pentingnya protein hewani,

sehingga berakibat pada permintaan daging sapi yang meningkat.

Pemerintah tetap berusaha menyediakan kebutuhan konsumsi daging dari produksi peternakan sapi lokal secara mandiri. Salah satu kebijakan penting pemerintah, melalui Kementerian Pertanian adalah berupa swasembada daging sapi berbasis sumber daya domestik (Ditjennak, 2010^b). Kebijakan swasembada daging sapi diharapkan mampu mengurangi angka impor hingga 10%, sehingga mampu meningkatkan potensi sapi dalam negeri. Program dilakukan untuk meningkatkan jumlah populasi sapi lokal sehingga menjadi sumber daging sapi yang utama diantaranya adalah pengurangan pemotongan sapi lokal yang masih produktif dan memperluas jangkauan program kawin silang sapi betina lokal dengan inseminasi buatan (Ditjennak, 2010^c).

Salah satu upaya untuk meningkatkan reproduksi ternak adalah teknologi inseminasi buatan. Inseminasi buatan merupakan program yang memiliki peran penting dalam peningkatan efisiensi reproduksi dan membantu penyebaran bibit unggul secara merata. Keberhasilan program inseminasi buatan dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain, keterampilan inseminator, ketepatan waktu IB, deteksi berahi, *handling* semen dan kualitas semen (Susilawati, 2011).

Teknologi inseminasi buatan dapat memperbaiki mutu genetik ternak sapi dengan cara membuat semen beku yang berasal dari pejantan unggul. Proses pembekuan dan pencairan pada semen beku dapat menyebabkan kerusakan spermatozoa, sehingga apabila terjadinya kerusakan pada spermatozoa menyebabkan menurunnya kualitas dan daya fertilitas, oleh karena itulah spermatozoa harus tetap terjaga kualitasnya agar dapat menembus sel telur sehingga fertilisasi dapat terjadi (Hardijanto *et al.*, 2010).

Berbagai upaya untuk mempertahankan kualitas semen beku sampai saat ini terus dilakukan melalui penambahan berbagai zat ke dalam pengencer semen, salah satunya adalah senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan diduga memiliki fungsi menghambat dan

menetralisir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas. Flavonoid adalah senyawa yang termasuk dalam golongan antioksidan (Dewi *et al.*, 2018).

Flavonoid dapat ditemukan di berbagai macam tumbuhan, salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan antioksidan yaitu *Moringa oleifera* atau yang disebut kelor merupakan tumbuhan yang memiliki berbagai kegunaan yang dapat dimanfaatkan hampir disetiap bagiannya dan memiliki potensi khususnya dibidang pengobatan dan memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi, salah satunya adalah pada bagian daunnya (Leone *et al.*, 2015). Flavonoid mampu berikatan dengan reaksi (OH⁻) dari peroksidasi lipid radikal yang menyerang membran sel (Hamid, 2010). Flavonoid menyumbangkan ion hidrogen (H⁺) untuk berikatan dengan radikal bebas yang terbentuk. Berdasarkan latar belakang diatas penelitian ini ditujukan untuk melihat potensi daun kelor terhadap mempertahankan kualitas semen beku selama masa penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel

Penelitian ini menggunakan sapi limousin yang jantan dewasa dengan 5 kali pengambilan semen. Pengambilan sampel semen pada penelitian ini dilakukan pada sore yaitu pukul 16.00 - 17.40 WIB. Penampungan semen sapi minimal dilakukan dua orang petugas. Satu orang bertugas untuk mengendalikan sapi jantan yang akan diambil semennya dan petugas yang lainnya sebagai operator penampung semen. Sapi betina pemancing disiapkan yang diikat pada kandang penjepit tempat penampungan semen. Pejantan didekatkan pada sapi pemancing namun dicegah agar tidak menanikinya. Pejantan dijauh-dekatkan dari pemancing sebanyak kurang lebih 2 sampai 3 kali supaya merangsang libido lebih besar agar dapat menghasilkan semen yang lebih banyak.

Operator memeriksa suhu vagina buatan dengan rentang 42-45^oC, selanjutnya operator memposisikan diri di kanan belakang dari pemancing. Posisi tangan operator saat

memegang vagina buatan dengan posisi miring keatas sebesar 45°C. Preputium jantan dipegang tepat pada pangkal penis menggunakan tangan kiri dan arahkan masuk ke dalam vagina buatan saat pejantan naik dan melakukan gerakan ejakulasi. Semen yang tertampung pada tabung gelas sebanyak 5 mL, selanjutnya tabung dilepaskan dari corong karet vagina buatan dan selanjutnya semen diperiksa di laboratorium (Susilowati *et al.*, 2010).

Pembuatan perasan kelor

Pembuatan perasan daun kelor menggunakan daun tua yang didapat dari area sekitar Surabaya dan disiapkan selalu dengan kondisi fresh. Daun kelor dibersihkan terlebih dahulu dengan cara direndam dalam air bersih, kemudian timbang daun kelor sebanyak 3 gram kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortar dan dicampur dengan akuabides dengan perbandingan 1:3, kemudian daun kelor di peras menggunakan kain dan dipindahkan kedalam botol kaca. Cemar mikroba pada perasan ini dihindari dengan adanya penambahan antibiotika pada saat proses pengolahan semen. Perasan daun ini dapat dipastikan mengandung flavonoid (Leone *et al.*, 2015).

Pencampuran dengan pengencer

Pengencer yang digunakan pada penelitian ini adalah susu skim kuning telur, dan perasan daun kelor dicampurkan kedalam pengencer dengan dosis P1 = 2,5%, P2 = 5%, P3 = 10% dan P4 = 20% (Hammad, 2019). Pencampuran semen dan masing-masing pengencer digunakan perbandingan 1:10, sehingga 0,1 mL semen dicampurkan dengan 1 mL pengencer (Stevany, 2013). Semen yang telah dicampur dengan diluter dan perasan daun kelor siap untuk dibekukan, selanjutnya semen post thawing siap untuk diuji angka motilitas, viabilitas dan kadar MDA.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan persentase *post thawing motility* ditunjukkan pada Tabel 1. menunjukkan rerata paling baik ditunjukkan pada perlakuan P2 yaitu pada konsentrasi 5% perasan daun kelor dan rerata paling rendah terdapat pada perlakuan P4 yaitu konsentrasi 20% perasan daun kelor. Hasil yang didapat menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara P4 dan P2, dan tidak ada beda nyata ($p > 0,05$) antara P0 dan (P1, P2, P3). Perlakuan P1, P2, P3 dengan penambahan konsentrasi perasan daun kelor didapat nilai rata-rata sekitar 40%. Data hasil persentase hidup spermatozoa pada tiap kelompok perlakuan menunjukkan angka rata-rata hidup dan simpangan baku berturut-turut adalah P0 sebesar $39^{ab} \pm 2,23$, P1 sebesar $41^{ab} \pm 2,23$, P2 sebesar $43^b \pm 5,70$, P3 sebesar $41^{ab} \pm 8,21$, P4 sebesar $36^a \pm 4,18$.

Penurunan motilitas bisa disebabkan karena adanya superoksida yang terbentuk saat proses pembentukan ATP dalam sel. pada saat pembentukan ATP kemungkinan terjadi kebocoran atau pelepasan elektron sebesar 1–3% saat proses transport elektron dan elektron tersebut bereaksi dengan oksigen sehingga terjadi pembentukan superoksida (O_2^-). Superoksida tersebut kemudian dapat mengalami dismutasi menjadi H_2O_2 , salah satu senyawa ROS (Jereme *et al.*, 2015). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil ($\cdot OH$). Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel, sehingga sel mengalami kerusakan (Maanaria *et al.*, 2014).

Penambahan perasan daun kelor memberikan dampak pada nilai motilitas pada semen *post thawing*. Kandungan flavonoid memiliki peran penting yang dalam mengurangi dampak kerusakan sel yang disebabkan oleh ROS. Senyawa flavonoid berikatan dengan ROS dengan cara mendonorkan satu ion H^+ (Hamid, 2010).

Hasil pengukuran viabilitas semen pada pemeriksaan *post thawing* setelah diberikan masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa perbandingan antara P0 dan perlakuan lainnya (P1, P2, P3, P4) ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa (%) pada semua perlakuan

Perlakuan	Rata-rata \pm standard deviasi
P0	39 ^{ab} \pm 2,23
P1	4 ^{ab} \pm 2,23
P2	43 ^b \pm 5,70
P3	41 ^{ab} \pm 8,21
P4	36 ^a \pm 4,18

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

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa pada semua perlakuan

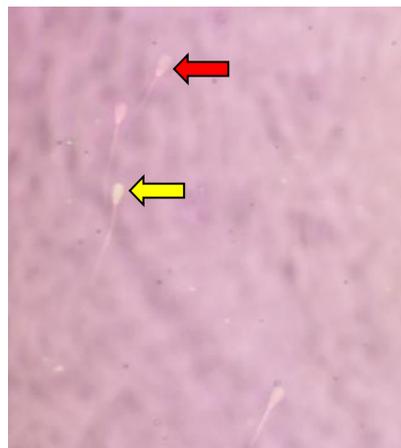
Perlakuan	Rata-rata \pm standard deviasi	
	Hidup	Mati
P0	43,25 ^a \pm 6,18	56,75 ^b \pm 6,18
P1	50,25 ^{ab} \pm 4,34	49,75 ^{ab} \pm 4,34
P2	53,60 ^{ab} \pm 3,97	46,40 ^{ab} \pm 3,97
P3	58,20 ^b \pm 8,72	41,80 ^a \pm 8,72
P4	54,25 ^{ab} \pm 15,90	45,75 ^{ab} \pm 15,90

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

Tabel 3. Data pengukuran kadar MDA

Ulangan	Rata-rata \pm standard deviasi
P0	6,326 ^{bc} \pm 0,477
P1	6,903 ^c \pm 0,643
P2	5,910 ^{ab} \pm 0,331
P3	5,844 ^{ab} \pm 0,389
P4	5,434 ^a \pm 1,034

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

**Gambar 1.** Viabilitas spermatozoa dengan pewarna eosin negrosin.

(\rightarrow) spermatozoa hidup, (\rightarrow) spermatozoa mati.

Dan identifikasi spermatozoa ditunjukkan pada Gambar 1. Dari data yang didapat menunjukkan peningkatan nilai viabilitas pada masing-masing dosis yang diberikan pada sperma sapi limousin. Nilai tertinggi ditunjukkan

pada perlakuan penambahan dosis perasan daun kelor sebanyak 10%. Terdapat beda signifikan ($p < 0,05$) antara P0 dan P3, sedangkan perbedaan tidak nyata ($p > 0,05$) ditunjukkan antara P0 dan P1, P2, P4. Data hasil persentase hidup

spermatozoa pada tiap kelompok perlakuan menunjukkan angka rata-rata hidup dan simpangan baku berturut-turut adalah P0 sebesar $43,25^a \pm 6,18$, P1 sebesar $50,25^{ab} \pm 4,34$, P2 sebesar $53,60^{ab} \pm 3,97$, P3 sebesar $58,20^b \pm 8,72$, P4 sebesar $54,25^{ab} \pm 15,90$. Menurunnya viabilitas spermatozoa disebabkan karena adanya *cold shock*, *osmotic stress*, dan krtalisasi pada saat pembekuan. Kerusakan tersebut mengakibatkan kerusakan *irreversible* pada struktur dan fungsi sel sehingga mengakibatkan menurunnya viabilitas sekitar 50% pada spermatozoa *post thawing* (Celeghini et al., 2007). Terjadinya *cold shock* mengakibatkan spermatozoa makin rentan terhadap peroksidasi lipid karena produksi ROS yang berlebih. Kadar ROS yang berlebih akan sangat merugikan untuk membran (Bucak et al., 2010).

Penambahan perasan daun kelor memiliki dampak yang baik untuk menanggulangi kerusakan sel yang disebabkan oleh ROS. Flavonoid yang terdapat pada perasan kelor berperan sebagai pemutus reaksi berantai oksidatif, dengan demikian, mengurangi stres oksidatif atau juga merupakan agen penetralisir antioksidan memutus rantai oksidatif dengan cara memberikan satu elektron H^+ sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil (Zheng dan Wang, 2009).

Ketika radikal hidroksil (OH^\cdot) berikatan dengan membran sel yang memiliki asam lemak tak jenuh ganda maka akan menghasilkan H_2O dan peroksid lipid radikal (LOO^\cdot), sehingga peran flavonoid berikatan dengan peroksid lipid radikal dan menyumbangkan ion H^+ , walaupun flavonoid kehilangan ion H^+ akan tetapi menjadikan senyawa yang tidak reaktif (Hamid, 2010).

Hasil pemeriksaan persentase kadar MDA semen sapi limousin pada pemeriksaan post thawing setelah diberikan perlakuan ditunjukkan pada Tabel 3. rata-rata paling tinggi ditunjukkan pada perlakuan P1 yaitu pada konsentrasi penambahan perasan daun kelor sebanyak 2,5%, Sedangkan rata-rata paling rendah ditunjukkan pada perlakuan P4 yaitu konsentrasi penambahan perasan daun kelor sebanyak 20% . Data hasil persentase kadar MDA pada tiap kelompok perlakuan

menunjukkan angka rata-rata hidup dan simpangan baku berturut-turut adalah P0 sebesar $6,326^{bc} \pm 0,477$, P1 sebesar $6,903^c \pm 0,643$, P2 sebesar $5,910^{ab} \pm 0,331$, P3 sebesar $5,844^{ab} \pm 0,389$, dan P4 sebesar $5,434^a \pm 1,034$.

Tingginya kadar MDA spermatozoa dan seminal plasma setelah pembekuan disebabkan karena adanya aktivitas ROS dan *cold shock* yang menyerang lipid pada membran spermatozoa pasca *thawing*. Pada P1 dengan kadar 2,5% penambahan perasan daun kelor menunjukkan kadar MDA yang lebih tinggi dibanding perlakuan P0 dan P0 menunjukkan kadar yang lebih tinggi dibanding P2, P3, dan P4. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Abdel et al., (2016) menunjukkan hasil penambahan perasan daun kelor dosis rendah menunjukkan kadar MDA yang lebih tinggi dibanding kontrol.

Kurang efektifnya kinerja flavonoid dimungkinkan karena terlalu rendahnya dosis, selain itu flavonoid juga dapat menjadi senyawa pro-oksidan pada kondisi tertentu. Flavonoid merupakan molekul yang mampu mendonorkan atom atau ion hidrogennya, dan hasil reaksinya menjadi flavonoid phenoxyl radikal ($Fl-O^\cdot$) dan nantinya flavonoid phenoxyl radikal dapat berikatan dengan radikal bebas yang lain sehingga dihasilkan *flavonoid quinones* yang memiliki sifat yang stabil. Senyawa fenol memiliki sifat *toxic* apabila dalam kadar yang tinggi (Wurlina et al., 2020).

KESIMPULAN

Penambahan perasan daun kelor dengan dosis 10% dapat mempertahankan kemampuan motilitas, viabilitas dan menurunkan kadar MDA pada semen *post thawing*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah menyediakan fasilitas penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel, K., Wael, K. E. I., Khalifa & Ayman, Y. E. (2016). Effect of Aqueous Extract of Moringa oleifera leaves or Arctium lappa Root on Lipid Peroxidation and Membrane Integrity of Ram Sperm Preserved at Cool Temperature. *Journal Animal and Poultry Production*, 7(12), 467-473.
- Bucak, M. N., Ateşşahin, A., & Yüce, A. (2010). Effect of Anti-Oxidants and Oxidative Stress Parameters on Ram Semen After the Freeze-Thawing Process *Small Ruminant Research*, 75(2-3), 128–134.
- Dewi, S. R., Ulya, N., Argo, B. D. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pleurotus ostreatus. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1-11.
- Ditjennak. (2010). Pedoman Teknis Produksi Peternakan Sapi Potong. Bagian Proyek Pembinaan Budidaya Ternak Pusat. Jakarta.
- Ditjennak. 2010^a. Pedoman Umum Program Swasembada Daging Sapi (2014). Direktorat Jenderal Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Ditjennak. 2010^b. Blue Print Swasembada Daging Sapi (2014). Direktorat Jenderal Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Ditjennak. 2010^c. Program Teknis Oprasional PSDS (2014). Direktorat Jendral Kementerian Pertanian. Jakarta
- Celeghini, E. C., de Arruda, R. P., de Andrade, A. F., Nascimento, J., Raphael, C. F & Rodriguez, P. H. (2007). Effect of That Bovine Sperm Cryopreservation Using Two Different Extenders Has On Sperm Membranes and Chromatin. *Animal Reproduction Science*, 104(2-4), 119-31.
- Hammad, M. E. R, Wafa, W. M., Gabr, A. A. & Elkishky, A. Y. (2019). Different Type and Levels of Moringa oleifera Leaf Extract as a Source of Antibiotic in Friesian Bull Semen Extender. *Journal of Animal and Poultry Production*, 10(3), 67 – 71.
- Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M. & Lawal, A. (2010). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(8), 142-51.
- Hardijantono, Suslowati, S., Sardjito, T., Hernawati, T., & Suprayogi, T.W.. (2010). Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Airlangga University Press. Surabaya
- Jereme, G. S., Chen, H. J. C., Semia, C., & Lavidis, N. A. (2015). Activation of hipotalamus-pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress. *Frontiers Neurosci*, 8(456), 1–6..
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2015). Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *International Journal of Molecular Science*, 16, 12791- 12835
- Maanaria, C. P., Suryantoa, E., & Pontoha, J. (2014). Aktivitas Penangkal Radikal Hidroksil Fraksi Flavonoid dari Limbah Tongkol Jagung pada Tikus Wistar. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 3(2), 134-138
- Susilowati, S., Hardijanto., Suprayogi, T. W., Sarjito, T., & Hernawati, T. (2010). Penuntun Praktikum Fisiologi dan Teknologi Reproduksi (IB). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Stevany, M. L. P. (2013). Kualitas Spermatozoa Domba Garut dengan Pemberian Pakan Limbah Tauge Dan *Indigofera* sp Pada Pengencer Tris Kuning Telur. Institiut Pertanian Bogor.
- Wurlina, Hariadi, M., Safitri, E., Susilowati, S. & Males, D. K. (2020). The effect of Crude Guava leaf Tannins on Motility, Viability,
- and Intact Plasma Membrane of Stored Spermatozoa of Etawa Crossbread Goats. *Vet World*, 13(3), 530-537.
- Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 49(11), 5165-5170.
