

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAN SPINASTEROL DAUN SENGGUGU (*Clerodendron serratum L.*) TERHADAP KUALITAS SPERMA MENCIT (*Mus musculus L.*)

Desak Made Malini
Universitas Padjadjaran
email korespondensi: desak_malini@yahoo.com

Abstrak

Tumbuhan senggugu (*C. serratum L.*) termasuk famili verbenaceae, merupakan salah satu tumbuhan yang cukup dikenal dimasyarakat sebagai tanaman obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun senggugu (*C. serratum L.*) terhadap kualitas sperma mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan percobaan dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri atas dua kelompok kontrol dan lima kelompok perlakuan dengan lama perlakuan 9 dan 18 hari. Setiap kelompok menggunakan 6 ekor mencit, sehingga jumlah mencit keseluruhan adalah 42 ekor. Parameter yang diamati adalah jumlah, motilitas, abnormalitas dan viabilitas sperma mencit. Data yang diperoleh dianalisis dengan Anava dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dilihat dari hasil daun senggugu (*C. serratum L.*) dapat menurunkan kualitas mencit.

Kata kunci : senggugu, mencit dan kulaitas sperma.

Abstract

Plant senggugu (C.serratum L.) belongs to the family Verbenaceae, which has been recognized by the public as a medicinal plant. One of them is that it can be used as a drug antifertility in men. The purpose of this study is to find out the effect of ethanol extract and spinasterol of Senggugu @.Serratum L.) leaves to the sperm quality of mouse (M. musculus) The study is conducted using complete random with 7X2 factor repeated 6 times. The treatment given to the ethanol extract is 250 mg/kg body weight, 500 mg/kg body weight and 1000 mg/kg body weight, as with spinasterol the amount is 26 mg/kg body weight and 52 mg/kg body weight, and as its controlling agent distilled water and DMSO solution is used. The treatment is given orally once a day within 9 and 18 days as much as 0,5 ml. Cauda epididymal sperm suspension was used to measure the quality of the sperm of mice. Data were analyzed by ANOVA followed by Duncan test. Based on observation and statistical analysis it has been found that the ethanol and spinasterol extract treatment of senggugu leaves using a different dosage has shown a significant effects to the parameters being studied namely increased abnormality of sperm and decreased in number of sperm, percentage of motolity and viability sperm.

Keyword : *Clerodendron serattum, senggugu, Mus musculus, Spermatozoa, Ethanol extract, Spinasterol*

Pendahuluan

Sumber daya alam yang terbatas dan pertambahan penduduk yang pesat adalah salah satu permasalahan bagi negara-negara yang sedang berkembang, termasuk Indonesia, yang mempunyai jumlah penduduk sebanyak 250 juta jiwa pada tahun 2012 dengan laju pertumbuhan penduduk 3,5 juta setiap tahun atau 1,49 persen setiap tahun (Badan Pusat Statistik, 2012). Untuk menekan laju pertumbuhan penduduk tersebut diperlukan upaya yang sistematis, terarah dan terukur. Salah satu cara untuk menekan jumlah penduduk adalah dengan penggunaan kontrasepsi melalui program Keluarga Berencana (KB). Program ini belum dapat berjalan secara optimal karena metode kontrasepsi pada wanita masih terdapat kelemahan, diantaranya adalah menimbulkan ketidaknyamanan dan pendarahan, sebaliknya partisipasi pria dalam program ini masih sangat rendah (1,1%). Keterbatasan pilihan metode kontrasepsi dijadikan salah satu alasan utama mengenai rendahnya partisipasi pria dalam KB. Sampai saat ini metode kontrasepsi pria yang umum dilakukan adalah vasektomi, kondom, dan *coitus interruptus* (Depkes, 2005). Semua metode kontrasepsi pria tersebut memiliki beberapa kelemahan, diantaranya pada vasektomi dapat menimbulkan *autoimmun* dan kemandulan seumur hidup (Yatim,1998), sedangkan pada kondom sering terjadi kebocoran sperma dan iritasi (Prawiroharjo, 1982). Oleh karena itu, perlu disediakan suatu alat kontrasepsi untuk pria yang aman, nyaman, terjangkau, dan reversibel.

Para peneliti di berbagai negara berusaha menemukan dan mengembangkan alat atau bahan

kontrasepsi pria, yang mampu menekan produksi spermatozoa, membuat *spermatozoa infertil*, mencegah *spermatozoa* matang, mencegah pengendapan spermatozoa, dan menyiapkan vaksin untuk melawan antigen spesifik pria. Salah satu hal yang sedang dikembangkan saat ini adalah penggunaan tanaman obat alami Indonesia sebagai alternatif antifertilitas pria (Depkes, 2005). Badan kesehatan dunia (WHO) menyarankan untuk mengembangkan metode pengaturan kesuburan pria yang aman, efektif dan reversibel dari tumbuhan yang diduga mengandung senyawa antifertilitas, karena bahan obat-obatan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan mempunyai toksisitas rendah, tidak menimbulkan efek samping, dan mudah diperoleh (Wang and Waites, 1993).

Senyawa-senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dapat digunakan sebagai medikamentosa pada pria yaitu metode kontrasepsi yang menggunakan bahan alam, obat atau bahan kimia yang bersifat secara temporer menghambat atau membuat *spermatogenesis* dan *spermiogram spermatozoa* di dalam *epididimis* terganggu, akibatnya spermatozoa yang dihasilkan oleh testis menjadi sedikit (*oligospermia*), berbentuk abnormal (*teratospermia*) dan immotil sehingga pada akhirnya akan menyebabkan pria menjadi infertil (Yatim,1994). Senyawa-senyawa golongan *alkaloid, flavonoid, steroid, isoflavonoid, tanin, triterpenoid* dan minyak atsiri dapat digunakan sebagai bahan antifertilitas tetapi yang paling banyak dan efektif digunakan sebagai obat kontrasepsi oral pada saat ini adalah dari

golongan *steroid* (Fransworth et al., 1975).

Salah satu tumbuhan yang memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai bahan antifertilitas pria dan sebagai penurunan kualitas sperma adalah tumbuhan senggugu (*Clerodendron serratum*). Tumbuhan *C. serratum* diketahui mempunyai aktivitas *pest control antifertility* dan *efek antinoseptik* atau anti kehamilan (Grainge and Ahmed, 1988). Bagian daun *C. serratum* mengandung senyawa C30 *sterol* (senyawa *spinasterol*), *diterpen klerodran* dan *apigenin (flavonoid)* (Julaeha, 2006). Menurut Krishna et al. (2007), daun *C. serratum* mengandung *stigmasterol*, *α spinasterol*, *luteolin 7-O glukuronida*, *apigenin*, *baicalin* dan *scutellarin 7-O glukuronida*. Pada ekstrak metanol daun *C. Serratum* juga ditemukan senyawa polifenol (flavonoid dan tanin), terpenoid, dan saponin (Mohamed et al., 2012),

Hasil penelitian Julaeha (2006) secara *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa C30 *sterol* mempunyai kemampuan paling tinggi dalam menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa, serta meningkatkan abnormalitas spermatozoa *Rattus norvegicus* apabila dibandingkan dengan apigenin dan diterpen klerodran. Sedangkan hasil penelitian Li et al. (2010) menunjukkan bahwa apigenin 25 mg/kg bb yang diberikan secara intraperitoneal dapat menurunkan motilitas dan morfologi sperma serta dapat menginduksi terjadinya apoptosis sel. Sedangkan hasil penelitian Diantini dkk, (2008) secara *in vivo*, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun senggugu yang diberikan pada mencit dan tikus secara oral dapat menurunkan motilitas dan viabilitas sperma serta menaikkan abnormalitas sperma.

Senyawa *spinasterol* yang terdapat pada tumbuhan senggugu termasuk kelompok *fitosterol* (*sterol* tumbuhan) yang secara alami terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan dan mempunyai struktur yang mirip dengan kolesterol pada hewan. Kemiripan struktur *fitosterol* dengan kolesterol menyebabkan *fitosterol* dapat menghambat dan menggantikan fungsi dari kolesterol sebagai prekursor dalam sintesis *testosteron* (Ryokkynen, 2006). Menurunnya kadar kolesterol akan mengakibatkan terjadi penurunan produksi *testosteron* oleh sel-sel *Leydig* dalam testis, karena salah satu fungsi *testosteron* adalah memelihara dan mempertahankan terjadinya *spermatogenesis* di dalam tubulus seminiferus. Penurunan konsentrasi *testosteron* akan mengakibatkan *spermatogenesis* terganggu dan jumlah sel-sel spermatozoa yang dihasilkan menurun (Arsyad, 1986).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengkaji apakah ada pengaruh ekstrak etanol dan *spinasterol* daun senggugu terhadap kualitas sperma mencit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol dan *spinasterol* daun senggugu terhadap kualitas sperma dengan menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus*).

Metode

Penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial (7 X 2). Rancangan ini terdiri dari dua faktor. Faktor pertama terdiri dari 7

perlakuan, yaitu 2 macam kontrol dan 3 macam dosis ekstrak etanol dan 2 macam dosis *spinasterol*. Faktor kedua terdiri dari dua macam perlakuan waktu, yaitu 9 hari dan 18 hari. Berdasarkan hasil uji pendahuluan disimpulkan, bahwa faktor pertama adalah perlakuan ekstrak etanol dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb, senyawa *spinasterol* dosis 26 mg/kg bb dan 52 mg/kg bb serta dua macam perlakuan kontrol, yaitu senyawa pelarut DMSO sebagai kontrol negatif dan akuades sebagai kontrol positif. Faktor yang kedua adalah dua macam perlakuan waktu, yaitu masing-masing 9 dan 18 hari. Setiap perlakuan diulang masing-masing 6 kali. Perlakuan diberikan dengan cara *gavage* menggunakan jarum sonde dalam volume 0,5 mL untuk masing-masing hewan uji jantan. Perlakuan diberikan satu kali setiap hari selama masa perlakuan (9 dan 18 hari). Sebelum diberikan kepada hewan uji, senyawa *spinasterol* yang telah tersedia dilarutkan terlebih dahulu dengan pelarut DMSO yang selanjutnya disebut sebagai larutan stok. Untuk membuat dosis yang diinginkan larutan stok dapat diencerkan dengan akuades sesuai dengan dosis yang digunakan. Perlakuan diberikan satu kali sehari secara oral sebanyak 0,5 ml setiap ekor. Selama perlakuan pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Pada akhir penelitian, mencit dikorbankan untuk diambil kauda epididimisnya. Kualitas sperma mencit jantan ditentukan dari jumlah, motilitas, morfologi, dan viabilitas sperma (jumlah sperma yang hidup).

Motilitas Sperma

Untuk menghitung jumlah sperma yang motil, kauda epididimis dimasukkan ke dalam gelas arloji yang telah berisi 1 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%), dipotong dengan menggunakan gunting kecil, tajam dan runcing. Kauda epididimis secara perlahan ditekan hingga semua cairan epididimis keluar dan tersuspensi dengan pelarut. Selanjutnya diaduk dengan gelas pengaduk sampai diperoleh suspensi yang homogen. Suspensi yang diperoleh ini selain digunakan untuk pengamatan motilitas, selanjutnya dapat juga digunakan untuk pengamatan jumlah, morfologi, dan viabilitas sperma. Untuk menjaga suhu tetap konstan, gelas arloji diletakkan di atas permukaan air dalam *waterbath* pada suhu 37°C. Untuk menghitung jumlah sperma yang motil, suspensi diteteskan pada kaca *hemasitometer* tipe *Improved Neubauer*, kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 200 kali. Jumlah spermatozoa yang motil dihitung dengan cepat berdasarkan kriteria sebagai berikut: kategori 0 (spermatozoa tidak bergerak sama sekali); kategori 1 (spermatozoa bergerak sangat lambat atau bergerak sedikit); Kategori 2 (spermatozoa bergerak ke depan dengan kecepatan sedang atau bergerak zig-zag dan berputar-putar), dan kategori 3 (spermatozoa bergerak cepat lurus ke depan). Pengamatan motilitas sperma dilakukan terhadap 100 sperma kemudian diulang sebanyak tiga kali untuk satu hewan uji dan hasilnya dirata-ratakan dan dinyatakan dalam persen. Persentase jumlah sperma yang motil ditentukan dengan cara menjumlahkan kategori 2 dan 3, dibagi dengan jumlah kategori 0, 1, 2 dan 3, dikalikan 100%.

Jumlah Sperma

Untuk menghitung jumlah sperma, sediaan sperma

yang dipakai adalah sperma dari kauda epididimis yang telah dibuat menjadi suspensi untuk pengamatan motilitas. Pada *hemositometer* tipe *Improved Neubauer* ditetaskan suspensi semen sebanyak 10 μ L, lalu ditutup dengan *cover glass* dan selanjutnya dengan menggunakan mikroskop cahaya dihitung jumlah sperma. Sperma yang dihitung adalah sperma yang matang dan jumlah sperma dinyatakan dalam satuan juta/mL. Untuk menghitung jumlah sperma, kepala sperma digunakan sebagai pedoman penghitungan.

Abnormalitas Sperma

Morfologi sperma diamati dari sediaan apusan sperma epididimis kauda yang dibuat dari suspensi untuk pengamatan motilitas. Sejumlah 0,5 mL suspensi difiksasi dengan 2 mL formaldehida 2% (NaCl) selama 10 menit, kemudian ditetaskan pada gelas objek dan dibuat *smear* dengan menggunakan gelas objek bersih dengan kemiringan 45 derajat. Selanjutnya dibiarkan mengering pada suhu ruang, kemudian diwarnai dengan pewarna eosin 5% selama 4 menit. Setelah kering dibilas dengan akuades. Pengamatan morfologi dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali terhadap 100 sperma dan diulangi sebanyak tiga kali, hasilnya dirata-ratakan dan dinyatakan dalam persen. Sperma yang memiliki morfologi normal adalah sperma yang mempunyai kepala berbentuk kait, dengan leher dan ekor yang lurus.

Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas sperma diamati dari sediaan apusan sperma epididimis kauda yang dibuat dari suspensi sperma untuk pengamatan motilitas. Analisis viabilitas dilakukan dengan pengecatan supravital, yaitu satu tetes sperma diletakkan di atas gelas objek, ditetesi dengan satu tetes larutan eosin, kemudian diaduk dan dibuat sediaan apusan. Selanjutnya dikering anginkan dan ditutup dengan gelas penutup. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali terhadap 100 sperma dan diulangi sebanyak tiga kali, hasilnya dirata-ratakan dan dinyatakan dalam

persen. Spermatozoa yang terwarnai merah menunjukkan spermatozoa yang mati, sedangkan spermatozoa yang hidup tidak terwarnai oleh zat warna eosin Y 0,5%.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan pengaruh perlakuan kontrol (akuades dan DMSO), ekstrak etanol dan spinasterol dari daun senggugu terhadap kualitas sperma epididimis yaitu jumlah, motilitas, abnormalitas, dan viabilitas sperma, dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil Analisis Variansi dan dilanjutkan dengan uji Duncan, diketahui bahwa perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol daun senggugu dan waktu memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah, motilitas, abnormalitas, dan viabilitas sperma.

Motilitas Sperma

Pada Tabel 1 tampak bahwa persentase motilitas sperma mencit yang paling tinggi disebabkan oleh perlakuan kontrol akuades dan DMSO, sedangkan yang paling rendah disebabkan oleh perlakuan ekstrak etanol 500 mg/kg bb dengan waktu perlakuan 18 hari dan 1000 mg/kg bb. Semua variasi dosis ekstrak etanol dan spinasterol dari daun senggugu yang diberikan menunjukkan perbedaan nyata lebih kecil jika dibandingkan dengan kontrol. Untuk perlakuan ekstrak etanol 1000 mg/kg bb menunjukkan adanya perbedaan nyata lebih rendah jika dibandingkan dengan 3 perlakuan lainnya, yaitu ekstrak etanol 250 mg/kg bb pada perlakuan waktu 9 hari dan spinasterol 26 mg/kg bb serta spinasterol 52 mg/kg bb pada perlakuan waktu 9 dan 18 hari. Persentase motilitas diantara ketiga perlakuan tersebut tidak berbeda nyata. Pada Tabel 1 juga dapat dilihat, bahwa hanya perlakuan ekstrak etanol 250 mg/kg bb yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara dua perlakuan waktu. Gambar 1 menunjukkan bahwa penurunan persentase motilitas sperma sejalan dengan meningkatnya dosis dan waktu perlakuan.

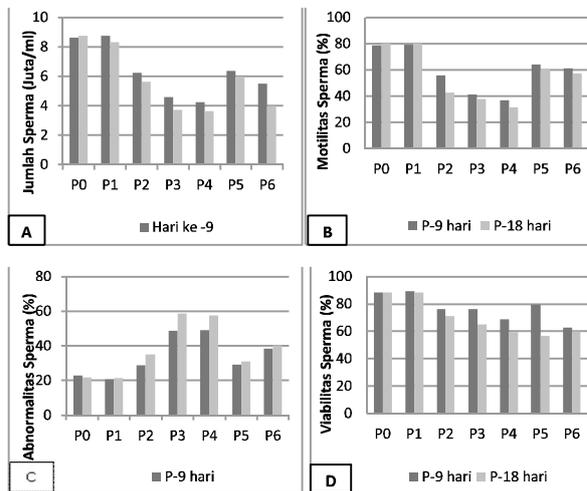
Tabel 1. Kualitas Sperma Epididimis Mencit (*M. musculus*) Jantan yang diberi Perlakuan Ekstrak Etanol dan Spinasterol Daun Senggugu *C. serratum*

Perlakuan	Waktu (hari)	Kualitas sperma (Rata-rata \pm SD)			
		Jumlah sperma (juta/ml)	Motilitas (%)	Abnormalitas (%)	Viabilitas (%)
Akuades (Kontrol positif)	9	8,62 \pm 0,90 c	78,97 \pm 9,57 d	22,83 \pm 2,65 a	88,27 \pm 4,08 e
	18	8,75 \pm 0,52 c	80,43 \pm 6,41 d	21,87 \pm 2,86 a	88,47 \pm 4,89 e
DMSO (Kontrol negatif)	9	8,74 \pm 0,69 c	79,23 \pm 8,49 d	20,73 \pm 2,12 a	89,27 \pm 5,44 e
	18	8,63 \pm 0,84 c	80,27 \pm 7,56 d	21,30 \pm 2,45 a	88,47 \pm 5,22 e
Ekstrak etanol 250 mg/kg bb	9	6,23 \pm 0,70 b	55,97 \pm 6,73 c	28,87 \pm 3,41 b	76,13 \pm 7,64 d
	18	5,62 \pm 0,10 b	42,67 \pm 7,38 b	35,17 \pm 3,53 cd	71,43 \pm 5,66 cd
Ekstrak etanol 500 mg/kg bb	9	4,57 \pm 0,66 a	41,23 \pm 6,17 b	48,83 \pm 5,61 e	76,37 \pm 7,02 d
	18	3,72 \pm 0,63 a	38,07 \pm 4,96 ab	58,57 \pm 8,50 f	65,27 \pm 5,66 bc
Ekstrak etanol 1000 mg/kg bb	9	4,26 \pm 0,83 a	37,13 \pm 5,47 ab	49,33 \pm 6,41 e	68,73 \pm 4,93 bcd
	18	3,65 \pm 0,50 a	31,63 \pm 4,95 a	59,47 \pm 6,57 f	56,57 \pm 6,19 a
Spinasterol 26 mg/kg bb	9	6,38 \pm 0,71 b	64,33 \pm 6,06 c	29,13 \pm 3,32 b	79,77 \pm 4,12 d
	18	5,98 \pm 0,64 b	60,97 \pm 7,78 c	31,03 \pm 3,86 b	59,33 \pm 5,45 ab
Spinasterol 52 mg/kg bb	9	5,51 \pm 0,10 b	61,42 \pm 6,47 c	38,40 \pm 4,94 d	62,93 \pm 4,07 abc
	18	3,99 \pm 0,57 a	57,57 \pm 8,64 c	40,17 \pm 4,41 d	59,87 \pm 6,41 ab

Keterangan: Analisis variansi yang dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95% ($P < 0,05$). Huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata.

Jumlah Sperma

Pada Tabel 1 tampak, bahwa jumlah sperma paling tinggi disebabkan oleh perlakuan kontrol akuades dan DMSO, sedangkan paling rendah oleh perlakuan ekstrak etanol 1000 mg/kg bb, ekstrak etanol 500 mg/kgbb dan spinasterol 52 mg/kg bb dengan waktu perlakuan 18 hari. Semua variasi dosis ekstrak etanol dan spinasterol yang diberikan menunjukkan perbedaan yang nyata lebih kecil jika dibandingkan dengan kontrol. Jumlah sperma akibat perlakuan ekstrak etanol 1000 mg/kg bb berbeda nyata lebih kecil apabila dibandingkan dengan 3 perlakuan lainnya yaitu ekstrak etanol 250 mg/kg bb dan spinasterol 26 mg/kg bb, dengan waktu perlakuan 9 dan 18 hari, serta spinasterol 52 mg/kg bb dengan waktu perlakuan 9 hari, tetapi antara ketiga perlakuan tersebut tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Pada Tabel 1 juga dapat dilihat, bahwa hanya perlakuan spinasterol 52 mg/kg bb yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara dua perlakuan waktu. Pada gambar 1 ditampilkan, bahwa semakin tinggi dosis dan waktu perlakuan maka semakin rendah jumlah sperma mencit.



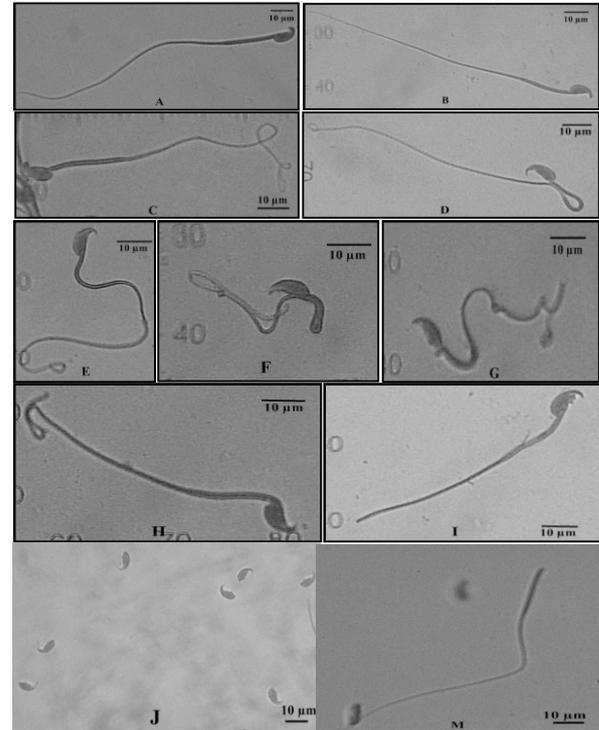
Gambar 1. Kualitas Sperma Epididimis Mencit (*M. musculus*) Jantan yang diberi Perlakuan Ekstrak Etanol dan Spinasterol Daun Senggugu ©. serratum)

Keterangan: (A) jumlah sperma, (b) motilitas sperma, (c) abnormalitas sperma, (d) viabilitas sperma. P0=akuades, P1=DMSO, P2=ekstrak etanol 250 mg/kg bb, P3=ekstrak etanol 500 mg/kg bb, P4=ekstrak etanol 1000 mg/kg bb, P5=spinasterol 26 mg/kg bb, P6=spinasterol 52 mg/kg bb.

Abnormalitas

Pada Tabel 1 terlihat bahwa persentase jumlah abnormalitas sperma tertinggi disebabkan oleh ekstrak etanol 500 dan 1000 mg/kg bb pada perlakuan waktu 18 hari, sedangkan terendah disebabkan oleh perlakuan kontrol akuades dan DMSO. Semua variasi dosis perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol yang diberikan menunjukkan perbedaan yang nyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan ekstrak etanol 1000 mg/kg bb menunjukkan perbedaan yang nyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan 3 perlakuan, lainnya yaitu ekstrak etanol 250 mg/kg bb, spinasterol 26 mg/kg bb dan spinasterol 52 mg/kg bb baik pada perlakuan 9 hari maupun pada 18 hari, sedangkan diantara ketiga perlakuan tersebut tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata.

Pada Tabel1 juga dapat dilihat bahwa pada perlakuan ekstrak etanol 250, 500 dan 1000 mg/kg bb menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara dua perlakuan waktu. Gambar 1 menunjukkan, bahwa semakin tinggi dosis perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol serta makin lama waktu perlakuan maka semakin tinggi pula abnormalitas sperma mencit. Pada epididimis mencit ditemukan beberapa macam morfologi sperma, diantaranya adalah sperma normal, kepala patah, ekor yang patah, dan ekor yang menggulung (Gambar 2.).



Gambar 2. Morfologi Sperma yang ditemukan pada Epididimis Kauda Mencit (*M. musculus*) Perlakuan Kontrol, Ekstrak Etanol dan Spinasterol dari Daun Senggugu dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran Mikroskop 10x 40

Keterangan: sperma normal (A, B), ekor menggulung (C, D, E, F, G, H), ekor patah (I), dan kepala putus (J, K).

Viabilitas mencit jantan

Pada Tabel 1 juga dapat dilihat, bahwa persentase jumlah viabilitas sperma tertinggi disebabkan oleh perlakuan kontrol dan DMSO, sedangkan persentase jumlah viabilitas sperma yang paling rendah disebabkan oleh perlakuan ekstrak etanol 1000 mg/kg bb dan spinasterol 26 serta 52 mg/kg bb pada perlakuan waktu 18 hari. Semua variasi dosis perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol yang diberikan mengakibatkan persentase viabilitas sperma berbeda nyata lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Pada Tabel 4 juga tampak bahwa pada perlakuan ekstrak etanol 500 dan 1000 mg/kg bb serta spinasterol 26 mg/kg bb menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara dua perlakuan waktu. Persentase jumlah viabilitas spermatozoa pada perlakuan waktu 18 hari lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan waktu 9 hari. Gambar 4.5. menunjukkan bahwa penurunan viabilitas sperma sejalan dengan meningkatnya dosis dan waktu perlakuan, semakin tinggi dosis ekstrak etanol dan spinasterol dan semakin lama perlakuan waktu, maka semakin rendah viabilitas sperma mencit.

Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus, sedangkan spermiogenesis (pematangan sperma) terjadinya di dalam epididimis secara bertahap sejak dari kaput epididimis, kemudian ke bagian korpus dan apabila sperma sampai di bagian kauda epididimis, spermatozoa sudah menjadi matang. Sperma memerlukan perubahan-perubahan supaya mampu melakukan fertilisasi. Pematangan tersebut bergantung pada sekresi epididimis (Sarifuddin, 2004). Pengamatan kualitas sperma pada kauda epididimis yang mencakup jumlah, motilitas, abnormalitas, dan viabilitas sperma, menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol daun senggugu pada mencit jantan menurunkan kualitas spermatozoa yang dihasilkan.

Terganggunya proses spermatogenesis merupakan salah satu faktor penyebab turunnya jumlah sperma yang diproduksi oleh mencit, selain itu proses pelepasan spermatid dari sel Sertoli atau spermiation juga merupakan faktor kunci dalam menentukan jumlah sperma karena apabila terjadi kegagalan spermiation, sperma tidak dilepaskan dari sel Sertoli tetapi akan dipertahankan dan difagosit. Hal ini diduga karena konsentrasi testoteron jumlahnya menurun. Penurunan sekresi testoteron ini disebabkan oleh menurunnya konsentrasi kolesterol sebagai prekursor sintesis testoteron akibat perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol. Tumbuhan senggugu mengandung senyawa kimia spinasterol, termasuk golongan fitosterol, yang diduga secara efektif dapat menurunkan penyerapan kolesterol yang berasal dari makanan. Struktur fitosterol mirip dengan kolesterol pada hewan, tetapi berbeda pada substitusi rantai samping pada posisi C24, fitosterol mengandung gugus etil (-CH₂-CH₃) pada rantai cabang (Silalahi, 2006). Kemiripan struktur dengan kolesterol, dapat menyebabkan fitosterol diubah menjadi pregnenolon, senyawa antara dalam sintesis testoteron, dan selanjutnya akan masuk ke dalam sintesis testoteron. Penyerapan fitosterol di dalam usus sangat rendah, akibatnya sintesis pregnenolon juga rendah dan pada akhirnya akan mengakibatkan sintesis testoteron juga akan rendah.

Fitosterol sangat berbeda dengan kolesterol hewan dalam hal absorpsinya oleh usus. Kadar kolesterol hewan yang tinggi dalam makanan bisa meningkatkan kolesterol darah sebaliknya fitosterol hanya diabsorpsi dalam jumlah minimum di dalam usus halus. Penyerapan fitosterol di dalam saluran pencernaan manusia hanya sekitar 5% atau seperenam dari tingkat penyerapan kolesterol (Heinemann *et al.*, 1993). Sedangkan pada tikus penyerapan β -sitosterol sekitar 4% (Sanders *et al.*, 2000). Walaupun demikian fitosterol mampu menghentikan atau memperlambat penyerapan kolesterol dari makanan serta kolesterol yang diproduksi hati. Pada proses penyerapannya di dalam usus, fitosterol berkompetisi dengan kolesterol dengan cara menggantikan kolesterol di dalam misel yang akan diserap usus. Kolesterol yang tidak tergabung ke dalam misel tidak akan diabsorpsi dan diekskresikan dari tubuh melalui empedu ke feses sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan penyerapan kolesterol di dalam tubuh (Sanders *et al.*, 2000).

Motilitas sperma memegang peranan penting dalam fertilisasi. Persentase motilitas spermatozoa di

bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan termasuk ke dalam infertil. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa perlakuan ekstrak etanol dan spinasterol daun senggugu dosis tinggi, menyebabkan penurunan persentase motilitas spermatozoa sampai dibawah 40%, sehingga dapat menyebabkan gangguan atau infertilitas. Penurunan persentase sperma motil berkaitan erat dengan konsentrasi hormon testoteron. Hormon testoteron berperan penting dalam spermatogenesis dan maturasi spermatozoa di epididimis (Robaire dan Hermo, 1988). Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa adanya gangguan terhadap sekresi testoteron dapat menyebabkan motilitas spermatozoa juga menjadi terganggu.

Penurunan motilitas spermatozoa juga berkaitan erat dengan meningkatnya persentase sperma abnormal, hal ini dapat dilihat dari persentase abnormalitas pada dosis tinggi, persentase abnormalitas sperma lebih dari 50% (Tabel 1). Morfologi sperma yang abnormal atau adanya kelainan, akan menghambat pergerakan spermatozoa atau pergerakan sperma menjadi lemah, bergerak di tempat, berputar-putar atau bergerak mundur. Hormon testoteron sangat diperlukan selama tahap transformasi atau spermiogenesis (Zhang, 2003) dan maturasi spermatozoa di epididimis (Handayani, 2001). Konsentrasi testoteron menurun akan mengakibatkan spermiogenesis akan terganggu, maturasi spermatozoa terganggu sehingga dihasilkannya abnormalitas spermatozoa, akibatnya fungsi epididimis sebagai tempat pematangan sperma juga terganggu yaitu sel-sel epitel epididimis akan mengalami regresi fungsi dan struktur. Regresi fungsi yang terjadi pada sel epididimis dapat menyebabkan gangguan terhadap sekresi yang dihasilkan oleh sel epididimis yang dibutuhkan untuk perubahan morfologi akrosom (Johnson & Everitt, 1990), sehingga akan dihasilkan morfologi spermatozoa yang kurang normal. Spermatozoa yang memiliki abnormalitas morfologik kemungkinannya tidak fertil (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Abnormalitas spermatozoa yang terjadi pada penelitian ini diantaranya berupa sperma patah pada leher dan ekor, selain itu ditemukan juga ekor melingkar ganda, ekor menggulung dan keriting (Gambar 4.6). Menurut WHO, ekor sperma yang bergulung dapat disebabkan oleh adanya pengaruh hipoosmotik di dalam epididimis. Keadaan ini mungkin disebabkan adanya gangguan proses absorpsi oleh sel-sel epitel duktus epididimis atau karena terdapat gangguan terhadap sekresi gliserolfosforin kolin. Sedangkan gliserolfosforin kolin diketahui berfungsi menjaga keseimbangan osmotik di dalam duktus epididimis. Selain itu, keutuhan membran plasma juga harus diperhatikan. Keutuhan membran plasma adalah salah satu indikator yang menunjukkan kemampuan spermatozoa dalam melakukan penetrasi terhadap oosit saat fertilisasi. Kerusakan pada membran plasma spermatozoa akan mengakibatkan terganggunya transfer aktif zat-zat yang menjadi sumber bagi spermatozoa seperti glukosa, asam amino dan asam lemak. Akibat terganggunya mekanisme ini, maka spermatozoa akan kekurangan energi sehingga daya hidupnya akan menurun, demikian juga dengan motilitasnya. Rusaknya membran plasma juga akan mengganggu keseimbangan ion-ion yang esensial bagi -

spermatozoa (Correa dan Zavos, 1994).

Semen mamalia yang mempunyai fertilitas tinggi ditunjukkan dengan persentase spermatozoa hidup yang tinggi dengan morfologi normal (Martinez *et al.*, 1996). Motilitas akan berlangsung dengan baik jika ditopang oleh banyak hal diantaranya adalah morfologi dari spermatozoa itu sendiri. Morfologi yang baik adalah kepala berbentuk seperti kait dengan besaran yang normal, ekor panjang tidak melingkar ataupun ganda. Ketersediaan sumber energi *Adenosin Tri Phosphat* (ATP) merupakan faktor yang sangat penting dalam motilitas sperma.

Selain karena pengaruh hormon testosteron, terjadinya penurunan motilitas spermatozoa kemungkinan disebabkan oleh senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada daun senggugu, yang diduga dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase pada membran sel spermatozoa dibagian tengah ekor. Enzim ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion natrium dan kalium. Jika aktivitas enzim ATP-ase terganggu, maka homeostasis ion natrium dan kalium akan terganggu sehingga konsentrasi Na⁺ intrasel meningkat, gradien Na⁺ melintasi membran sel akan menurun sehingga pengeluaran Ca²⁺ juga akan mengalami penurunan (Ganong, 2001). Apabila ion Ca²⁺ berkurang maka membran akan kehilangan kemampuannya untuk mengangkut bahan-bahan terlarut ke dalam sitoplasma (Salisbury dan Ross, 1985). Terganggunya permeabilitas membran sperma akan menyebabkan terganggunya transpor nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoa untuk pergerakannya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan spinasterol menyebabkan terjadinya penurunan viabilitas sperma epididimis kauda dengan presentase viabilitas terendah 59,33% (Tabel 2). Menurunnya viabilitas spermatozoa epididimis kauda dalam penelitian ini diduga akibat adanya gangguan pada keseimbangan hormonal selama spermatogenesis. Kemungkinan lain menurunnya viabilitas spermatozoa ini karena adanya hambatan dalam epididimis sebagai tempat pematangan spermatozoa. Di dalam epididimis ini disekresi zat yang penting dalam menunjang proses pematangan spermatozoa seperti ion (Ca, Na, K, Cl), substrat (protein, asam sialat, glikogen, asam laktat, fosfolipid) dan enzim (LDH, fosfatase asam dan fosfatase basa). Apabila ketiga unsur tersebut tidak tersedia dalam jumlah cukup, maka proses pematangan spermatozoa akan terganggu, akibatnya kualitas spermatozoa akan menurun. Secara fungsional epididimis sangat tergantung pada hormon testosteron. Sebagaimana diketahui, testosteron diperlukan untuk daya hidup spermatozoa dalam epididimis (Arsyad, 1986). Karena adanya gangguan kerja hormon akibat pemberian ekstrak etanol dan spinasterol dari daun senggugu, akan menyebabkan daya hidup spermatozoa menurun sehingga banyak spermatozoa yang mati. Pokharkar *et al.* (2010), melaporkan bahwa *C. serratum* merupakan salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat India sebagai antispermisida.

Simpulan

Senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol

dan spinasterol daun senggugu dapat menurunkan kualitas sperma, yaitu dapat menurunkan motilitas, jumlah, dan viabilitas sperma mencit, dan meningkatkan abnormalitas sperma kauda epididimis. Penurunan kualitas sperma tergantung pada besarnya dosis dan lamanya waktu pemberian perlakuan. Semakin tinggi dosis ekstrak etanol dan spinasterol yang diberikan, semakin menurun kualitas sperma kauda epididimis mencit.

Daftar Pustaka

- Arsyad, K. M. 1986. *Kemungkinan Pengembangan Kontrasepsi Pria*, Majalah Medika, 12 (4).
- Badan Pusat Statistik, 2012, *Statistik Kesejahteraan Rakyat*, Survei Sosial Ekonomi Nasional. BPS, Jakarta.
- Diantini, A., D.Herdiana dan A.Subarnas. E. Julaha. 2008. *Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Etanol Daun Senggugu (Clerodendron serratum L.) Pada Mencit dan Tikus Jantan*. Farmaka. Vol 6, No 3.
- Fransworth, N.R., A.S.Bingel and Cordell. 1975. *Potential Value of Plants as Source of New Antifertility Agents* I. J. Pharmaceut. Sci. 64: 535-588.
- Ganong, W.F.2001. *Review of Medicinal Physiology*. University of California, San Fransisco.
- Graine, M., and S.Ahmed. 1988. *Handbook of plant with Pest-control Properties*, New York; John Willey and Sons.
- Guyton, A.C. 1996. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Alih bahasa Dr Petrus Adrianto). EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Li, H., Zhang, M., Yan, F., Zhang, Z. and Li, Z. (2010) *Effect of apigenin on the reproductive system in male mice*. Health, 2, 435-440.
- Mohamed, A.J., Elsnoussi Ali Hussin Mohamed, Abdalrahim F. A. Aisha, *Anim Reprod Sci*, 2008 Apr;105(1-2):23-51.
- Nair, A.G.R., T.N.C.Vedantham, and S.S.Subramanian. 1984. *Crystalline components of Clerodendron serratum*. Current Science. 45 (10): 391.
- Pokharkar, R.D., R.K. Saraswati, Kotkar S., 2010. *Survey of plant having antifertility activity from western Ghat area of Maharashtra state*. J. Herbal Medicine and Toxicology 4(2) 71-75.
- Prawiroharjo, 1982, *Prince Henry's Institute of Medical Research*, 3 Monash Medical Centre, Clayton, Victoria, 3168, Australia
- Ryokkynen, A. 2006. *Effects of Phytoestrogens on The Reproduction and Weight Regulation of Mammals*. PhD Dissertations in Biology, University of Joensuu. 82 pp.
- Sagi, M. 1994. *Embryologi Perbandingan pada Vertebrata*, Yogyakarta. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Salisbury, G.W. and N.L. Van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan inseminasi Buatan pada Sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sanders, D.J., H.J.Minter, D.Howes, P.A.Hepburn. 2000. *The Safety Evaluation of Phytosterol Esters Part:6. The Comparative Absorption and Tissue Distribution of Phytosterols in The Rat*. Food Chem Toxicol. 38: 485-491.
- Sutasurya, L. A., 1988. *Evaluasi Bahan Anti Fertilitas Alami Melalui Pengukuran Organ-organ Reproduksi*. Seminar Hasil Penelitian Pangan dan Gizi, Ilmu Hayati dan Bioteknologi PAU, Yogyakarta.
- Wang, G. and G.M.H.Waites. 1993. *Research Strategy of the World Health Organization Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility and Need for Sperm Function Assay*. In: Oshima and Henry Ed. Current Topics in Andrology. Japan Society of Andrology.
- Whittaker, M.H., V.H.Frankos, A.P.M.Wolterbeek, D.H.Waalkens-Berendsen. 1999. *Two-generation Reproductive Toxicity Study of Plant Stanol Esters in Rats*. Regul Toxicol Pharmacol. 29: 196-204.
- Wrobel, K.H. 1998. *Male Reproductive System*. In: H.D.Dellman, and J.A.Eurell (Eds). *Textbook of Veterinary Histologi*. 5th ed. Williams and Wilkins, Pennsylvania.
- Yatim, W. 1994. *Reproduksi dan Embryologi. Fisiologi komparatif pada hewan domestika dan laboratorium serta manusia*. Penerjemah Keman, S. UI-Press Jakarta. P. 239-245. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Zhang, Fu-Ping; Pakarainen, Tomi; Poutanen, Matti; Toppari, Jorma; & Huhtaniemi, Ilpo. 2003. *The Low Gonadotropin-Independent Constitutive Production of Testicular Testosterone is Sufficient to Maintain Spermatogenesis*. PNAS. Vol. 100. No. 23. 13692-13697.