

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KEMBANG SEPATU (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA, BERAT BADAN, DAN BERAT TESTIS TIKUS JANTAN WISTAR (*Rattus norvegicus*)

Nabila S. Petta¹⁾, Edwin de Queljoe¹⁾, Rooije R.H. Rumende¹⁾

¹⁾Program Studi Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi Manado

Email: nabilla.petta@gmail.com; edwin_de_queljoe@yahoo.co.id; rooije.rumende@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kembang sepatu terhadap jumlah spermatozoa tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan 24 ekor tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi atas beberapa kelompok dimana kelompok 1 sebagai kelompok kontrol tanpa perlakuan, kelompok 2, 3 dan 4 sebagai kelompok perlakuan dengan dosis secara berturut-turut 3,6 mg/ml; 7,2 mg/ml; dan 14,4 mg/ml. Perlakuan diberikan secara oral sekali sehari sebanyak 1 ml selama 50 hari sesuai siklus spermatogenesis. Variabel yang diamati yakni jumlah sel spermatozoa, berat badan, dan berat testis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kembang sepatu dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa, serta menyebabkan adanya perbedaan berat badan dan berat testis namun, berdasarkan hasil analisis varians, ekstrak etanol daun kembang sepatu tidak dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa, berat badan dan berat testis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) secara signifikan.

Kata Kunci: Sel spermatozoa, Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), Tikus jantan Wistar (*Rattus norvegicus*)

THE INFLUENCE OF THE ETHANOL EXTRACTS OF GRANTING HIBISCUS (*Hibiscus Rosa-sinensis* L.) AGAINST THE NUMBER OF SPERMATOZOA, WEIGHT AND THE WEIGHT OF THE TESTES MALE WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

This research's objective is to know the influence of injecting ethanol extract from a hibiscus into a number of common male rats (*Rattus norvegicus*). This research uses the approach of complete randomized design (CRD) onto 24 common white rats (*Rattus norvegicus*) that is divided into groups, where group 1's approach is control without treatment, groups 2, 3, and 4's approach is with treatment, with consecutive doses being 3.6 mg/ml; 7.2 mg/ml; and 14.4 mg/ml. The treatment is induced orally as large as 1cc per day for a total of 50 days following the spermatogenesis cycle. The variables that are being observed are the amount of spermatozoon cells, body weight, and testicle weight. The results of this research indicates that ethanol extract from hibiscuses, from a quantity perspective, can decrease spermatozoon cells, and it may also influence the body weight and testicle weight of the subject, in this case are common rats (*Rattus norvegicus*) but, from the mathematical results from Analysis Of Variance, ethanol extract from the leaves of a hibiscus cannot decrease the amount of spermatozoon, body weight, and testicle weight of a common white rat (*Rattus norvegicus*).

Keywords: Spermatozoon Cells, Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), Common (white) rat (*Rattus norvegicus*)

PENDAHULUAN

Reproduksi adalah kemampuan makhluk hidup untuk menghasilkan keturunan yang baru. Tujuan reproduksi yaitu untuk mempertahankan jenisnya dan melestarikan jenis agar tidak punah. Jika

mahluk hidup tidak dapat bereproduksi maka kelangsungan generasi makhluk hidup tersebut terancam dan punah (Priatma *et al.*, 2010).

Infertilitas adalah gangguan dari sistem reproduksi yang terjadi pada organ reproduksi atau sel spermatozoa yang

diproduksi tidak berkualitas (WHO, 2016). Apabila ada gangguan pada sistem anatomi reproduksi atau sel spermatozoa yang dihasilkan tidak berkualitas, maka dampak yang terjadi pada pria dewasa tidak akan mendapatkan keturunan, yang ditandai dengan kegagalan kehamilan setelah 12 bulan atau lebih, dan telah melakukan hubungan sanggama atau hubungan suami istri (*coitus*) tanpa menggunakan alat kontrasepsi secara teratur, namun tetap mengalami kegagalan kehamilan (WHO, 2016; Cavallini and Beretta, 2015). Dari semua pasangan yang aktif secara seksual, sekitar 12 – 15 % pasangan suami istri mengalami gangguan fertilitas atau infertilitas (Parekattil and Agarwal, 2012). Penyebab infertilitas dari pria diantaranya spermatogenesis abnormal, kelainan anatomi, *ejaculation retrograde*, stress, mengalami infeksi menular pada sistem reproduksi, mengonsumsi alkohol dan nikotin secara berlebihan, dan juga faktor pekerjaan serta ketidakmampuan sel spermatozoa dalam melakukan penetrasi ke sel telur (Saragih, 2014). Penyebab infertilitas dari wanita diantaranya berupa masalah pada vagina yaitu vaginitis, masalah di serviks atau mulut rahim yaitu servicitis, dan juga pada uterus, tuba falopii, dan masalah pada daerah ovarium yaitu kista ovarium (Saragih, 2014). Beberapa tanaman di Indonesia telah diteliti dan dilaporkan, hasil penelitian menunjukkan beberapa tanaman memiliki kemungkinan untuk dikembangkan sebagai bahan obat kontrasepsi diantaranya biji saga, meniran, teh hitam, daun sirih, dan pacing (Muslichah dan Wiratmo, 2013; Harlis, 2012; Delfita,

2014; Mudayatiningsih *et al*, 2015; Sari *et al*, 2012).

Berdasarkan penelitian Agoes (2010), tanaman kembang sepatu mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain senyawa flavonoid, saponin dan polifenol pada daunnya, sedangkan bunga kembang sepatu (*H. rosa-sinensis* L.) mengandung senyawa polifenol, dan akar kembang sepatu (*H. rosa-sinensis* L.) juga memiliki senyawa kimia antara lain tanin, saponin, skopoletin, cleomiscosin A, dan cleomiscosin C. senyawa metabolit sekunder pada tanaman kembang sepatu (*H. rosa-sinensis* L.) dapat dijadikan sebagai bahan antifertilitas yakni senyawa flavonoid, saponin, dan polifenol (Agoes, 2010). Penelitian ini bertujuan Mengidentifikasi jumlah konsentrasi ekstrak etanol daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) yang berpengaruh terhadap jumlah sel spermatozoa serta melihat pengaruhnya terhadap penurunan berat badan dan berat testis tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.).

METODE PENELITIAN

Penyiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan uji yang dibagi menjadi 4 kelompok dimana setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan galur wistar (*R. norvegicus*) yang dipelihara dalam kandang berbahan plastik dan ditutup dengan kawat kasa dan diberi pakan berupa pelet.

Tabel 1. Pembagian Kelompok Hewan Uji

No	Hewan Uji	Perlakuan hari ke-1 hingga hari ke-50
1.	Kelompok 1 (Kontrol)	Tidak diberi perlakuan
2.	Kelompok 2 (P Ks 2)	Ekstrak etanol daun kembang sepatu 3,6 mg/tikus/hari sebanyak 1 mL
3.	Kelompok 3 (P Ks 4)	Ekstrak etanol daun kembang sepatu 7,2 mg/tikus/hari sebanyak 1 mL
4.	Kelompok 4 (P Ks 8)	Ekstrak etanol daun kembang sepatu 14,4 mg/tikus/hari sebanyak 1 mL

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu

Sebanyak 450 gr daun kembang sepatu yang sudah dikering anginkan dan sudah diblender. Daun kembang sepatu yang sudah dalam bentuk serbuk kemudian, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara, sampel direndam dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:4 atau hingga sampel terendam sempurna dan melewati batas tinggi sampel di dalam beaker gelas. Sampel direndam selama tiga hari dan diaduk setiap hari sekali selama lima menit. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring dan filtrat yang didapatkan dipindahkan pada cawan petri dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40 ° C. Setelah 24 jam ekstrak dikeluarkan dari oven dan disimpan di dalam lemari pendingin (Depkes RI, 2014).

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu

Ekstrak daun kembang sepatu ditimbang dengan menggunakan tiga konsentrasi yaitu 3,6 mg, 7,2 mg, dan 14,4 mg. Setelah itu, masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan larutan CMC 1%, ditutup dengan aluminium foil dan disonifikasi selama 30 menit (hingga homogen). Setelah homogen, suspensi ekstrak etanol daun kembang sepatu dipindahkan ke dalam 3 botol berwarna gelap, ditutup dan disimpan di dalam lemari es.

Perlakuan Hewan Uji

Ekstrak etanol daun Kembang sepatu diberikan secara oral dengan menggunakan sonde dengan dispo 1 mL yang dimasukkan melalui mulut secara perlahan-lahan untuk menghindari terjadinya refluks muntah. Sebelum diberi perlakuan, hewan uji dipuaskan atau tidak diberi makan dan minum terlebih dahulu selama kurang lebih 6 jam. Hewan uji yang terdiri dari 4 kelompok diberikan perlakuan yang berbeda-beda. Kelompok 2, 3 dan 4 diberikan perlakuan sesuai dosis masing-masing kelompok yaitu 3,6 mg/tikus/hari sebanyak 1 mL, 7,2 mg/tikus/hari sebanyak 1 mL, dan

14,4/tikus/hari sebanyak 1 mL mg setiap hari sebanyak 1 mL, sedangkan kelompok 1 hanya diberikan pakan biasa berupa pelet atau pakan tikus (Depkes RI, 2014).

Perhitungan Jumlah Sel Spermatozoa

Perhitungan jumlah sel spermatozoa dilakukan dengan cara memipet sperma dengan menggunakan pipet khusus eritrosit sampai skala 0,5. Kemudian sperma diencerkan dengan larutan pengencer sampai tanda 101 (Pengenceran 200x) lalu dikocok sampai homogen. Larutan sperma di kocok dan di buang 3 tetes, kemudian ditetaskan pada kamar hitung yang sudah ditutup dengan menggunakan *cover glass*. Sediaan tersebut dibiarkan sebentar agar sel-sel spermatozoa mengendap, sehingga memudahkan perhitungan. Pemeriksaan dilakukan dengan 5 lapang pandang pada kamar hitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x (WHO, 2015).

Berdasarkan Soehadi dan Winars (1987), perhitungan jumlah spermatozoa dilakukan dengan cara mengalikan jumlah sel spermatozoa yang terhitung dalam 5 kotak dengan pengenceran (200x) dan dikalikan dengan faktor *Neubauer*. Konsentrasi spermatozoa = $N \times 200 \times 10.000$. Dimana, N adalah jumlah sel spermatozoa yang terhitung dalam 5 kotak, 200 adalah pengenceran dan 10.000 adalah faktor *Neubauer* (Soehadi dan Winars, 1987).

Analisis Data

Analisis data yang digunakan yaitu menggunakan perhitungan ANOVA atau *Analisis of Variance* dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

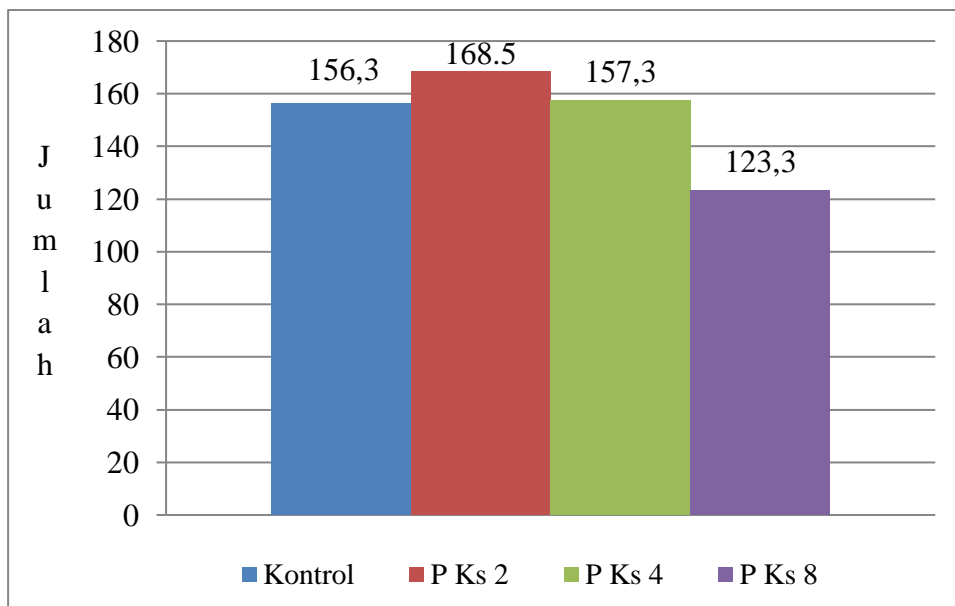
Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Terhadap Penurunan Jumlah Sel Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)

Setelah pemberian ekstrak etanol daun Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-*

sinensis L.) dengan dosis 3,6 mg/mL; 7,2 mg/mL; dan 14,4 mg/mL pada tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) selama 50 hari, terdapat perbedaan hasil perhitungan jumlah sel spermatozoa pada semua kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Menurut asumsi peneliti, diakibatkan oleh adanya pengaruh ekstrak daun kembang sepatu yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat menurunkan jumlah sel spermatozoa pada tikus jantan galur wistar (*R. novergicus* L.), hal tersebut juga sesuai dengan apa yang dikemukakan oleh Hyacinth (2012) dan Putri (2015) bahwa penurunan jumlah sel spermatozoa diduga disebabkan karena adanya kandungan zat aktif saponin, flavonoid, dan fenol, yang banyak berperan sebagai spermisidal. Adanya jumlah sel spermatozoa yang lebih tinggi dan lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol, penyebab yang mungkin terjadi adalah dosis pemberian yang masih rendah, karena pada

dosis yang paling tinggi yakni 14,4 mg/mL terlihat penurunan jumlah spermatozoa, bila dibandingkan dengan dosis lainnya yakni dosis ekstrak etanol daun Kembang sepatu 3,6 mg/mL yang tidak menunjukkan penurunan jumlah sel spermatozoa (Gambar 1).

Berdasarkan hasil penelitian Kammoun *et al.* (2007) dan Putri (2015), Senyawa saponin memiliki aktivitas spermisidal yang paling baik pada dosis yang rendah bila dibandingkan dengan agen atau senyawa spermisidal lainnya. Kebanyakan senyawa spermisidal yang terkandung di dalam ekstrak tanaman bekerja dengan cara menginduksi disrupsi membran plasma, agen atau senyawa tersebut juga mampu menyebabkan inhibisi enzim spesifik pada membran sel spermatozoa seperti akrosin dan hyaluronidase yakni enzim penting dalam proses fertilisasi (Gambar 1).



Gambar 1. Diagram Hasil Perhitungan Sel Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)

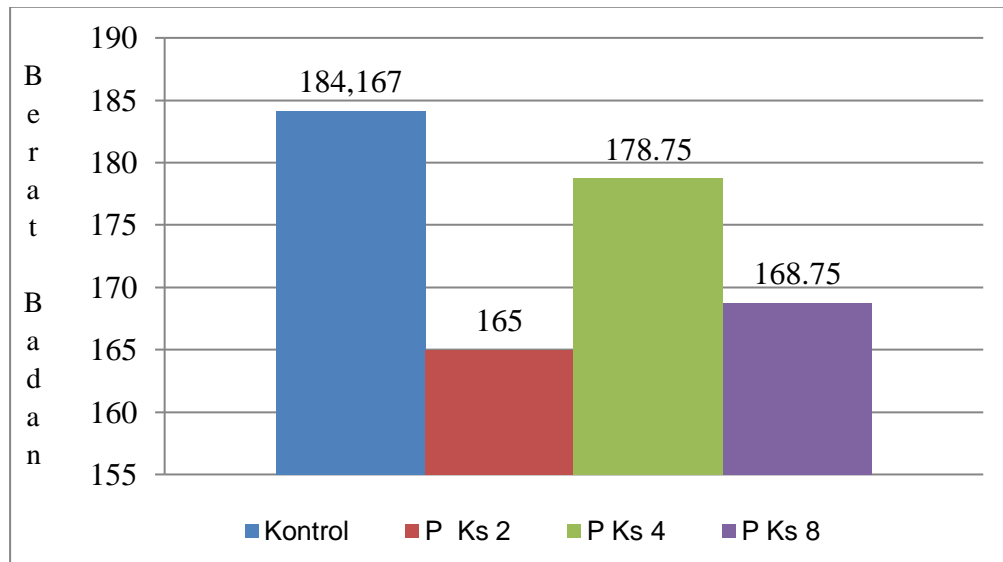
Namun, hasil perhitungan menggunakan *The ANOVA Procedure* menunjukkan hasil yang berbeda yaitu, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hal tersebut diketahui dari nilai atau *value* yang tertera yaitu $p > 0.01$.

Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Terhadap Penurunan Berat Badan Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)

Dari hasil perhitungan berat badan, menunjukkan adanya perbedaan berat badan pada kelompok tikus kontrol dan kelompok

tikus yang diberi ekstrak daun Kembang sepatu. Menurut asumsi peneliti, hal tersebut diakibatkan oleh adanya perbedaan perlakuan pada objek penelitian yakni tikus jantan galur wistar (*Rattus. novergicus L.*) Hal tersebut juga sesuai dengan apa yang dikemukakan oleh Maula (2014) dan Putri (2015) bahwa

adanya perbedaan perhitungan berat badan yang terjadi baik pada tikus kontrol dan tikus yang mendapat perlakuan ekstrak etanol daun Kembang sepatu kemungkinan terjadi karena adanya perbedaan pemberian konsumsi pakan harian (Gambar 2).



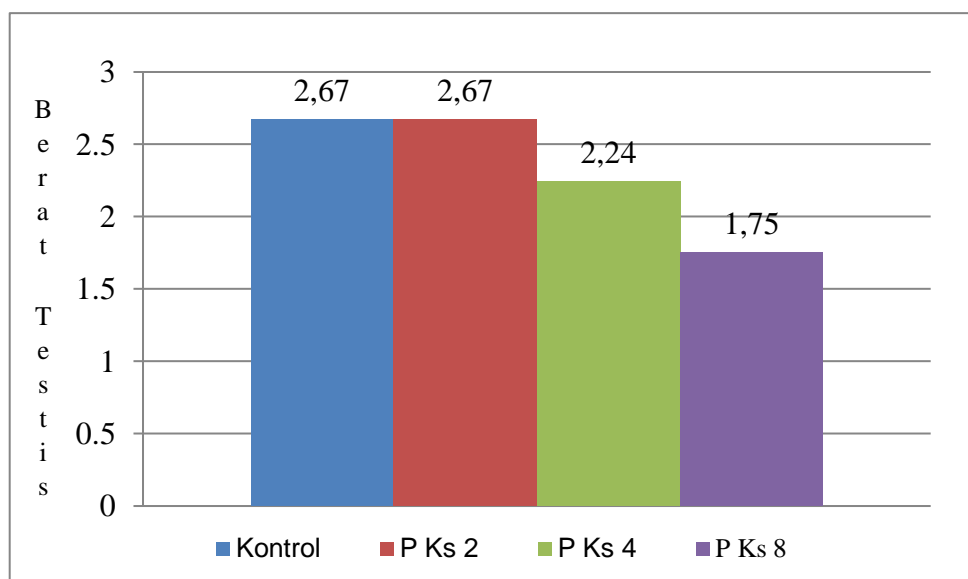
Gambar 2. Diagram Hasil Perhitungan Berat Badan Tikus Jantan Galur Wistar

Namun, dilihat dari hasil perhitungan *The ANOVA Procedure*, tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antar kelompok perlakuan yaitu $p > 0,01$.

Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) Terhadap Penurunan Berat Testis Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus L.*)

Dari hasil perhitungan berat testis, menunjukkan adanya perbedaan berat testis pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus yang diberi ekstrak daun Kembang sepatu. Menurut asumsi peneliti, hal tersebut diakibatkan oleh adanya perbedaan perlakuan pada objek penelitian yakni tikus jantan galur wistar (*Rattus novergicus L.*).

Hal tersebut kemungkinan terjadi karena adanya senyawa aktif yakni berupa senyawa saponin yang terkandung di dalam daun tanaman kembang sepatu, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh (Gupta *et al*, 2005; Putri, 2015) menyatakan bahwa dengan pemberian senyawa saponin yang diisolasi dari tanaman *Albizia lebbeck* pada tikus jantan memberikan penurunan berat testis, yang kemungkinan juga berhubungan dengan jumlah sel spermatid dan sel spermatozoa yang ada pada jaringan. Penurunan pada jumlah sel germinal terutama pakiten dan spermatosit sekunder pada tikus yang diberikan senyawa saponin dari tanaman *A. lebbeck* mengakibatkan penurunan berat testis (Gambar 3).



Gambar 3. Diagram Hasil Perhitungan Berat Testis

Namun, dilihat dari hasil perhitungan *The ANOVA Procedure*, tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan nilai yaitu, $p > 0,01$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak etanol daun kembang sepatu yang berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel spermatozoa tikus jantan galur wistar yakni pada konsentrasi 7,2 mg/ml dan 14,4 mg/ml. ekstrak etanol daun kembang sepatu yang berpengaruh terhadap penurunan berat badan tikus jantan galur wistar yakni pada konsentrasi 3,6 mg/ml dan 14,4 mg/ml. ekstrak etanol daun kembang sepatu yang berpengaruh terhadap penurunan berat testis tikus jantan galur wistar yakni pada konsentrasi 7,2 mg/ml dan 14,4 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*, hal 73-76. Salemba Medika: Jakarta.
- Cavallini, G., and G. Beretta. 2015. *Clinical Management of Male Infertility*. Germany, Publisher: Springer International Publishing.
- Delfita, R. 2014. Potensi Antifertilitas Ekstrak Teh Hitam Pada Mencit (*Mus musculus L.*) Jantan. *Jurnal Sainstek* **6(2)**: 181 – 188.
- Depkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-5. Depkes: Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Gupta, R.S., R. Chaudhary, R.K. Yadav, S.K. Verma and M.P. Dobhai. 2005. Effect of Saponins of *Albizia lebbeck (L.) Benth* bark on the Reproductive System of Male Albino Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **96(1-2)**: 31–36.
- Harlis, W.O. 2012. Uji Potensi Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) Terhadap Spermatogenesis Tikus (*Rattus norvegicus L.*). *WD Harlis//Paradigma*, **16(1)**: 39 – 46.
- Hyacinth, A.A. 2012. Evaluation of Spermicidal Property of Aqueous Ethanolic Extract of *Lawsonia inermis L.* Leaves. *Annals of Biological Research*, **3(8)**:3846-3848.
- Kammoun, S., A. Saad, M. Ajina, M.M, Trabelsi. 2007. Spermicidal Activity of Extract from *Cestrum parqui*. *Contraception*, **75**: 152–156.

- Maula, I.F. 2014. Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas. L*) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novvergicus*) Galur Sprague Dawley secara *in vivo*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Mudayatiningsih, S., S.D. Endang, S. Hastuti dan D.T.N Isnaeni. 2015. Ekstrak Daun Sirih (*Piper Bettle. L*) Dan Kualitas Spermatozoa Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Informasi Kesehatan Indonesia*. **1(2)**: 127 – 136.
- Muslichah, S., D.H. Wiratmo dan A.F. Fifteen. 2014. Potensi Biji Saga (*Abrus precatorius*) Sebagai Kontrasepsi Pria. *Pharmacy*. **11(2)**.
- Parekattil, S. and A. Agarwal. 2012. *Male Infertility: Contemporary Clinical Approaches, Andrology, ART and Antioxidants*. ISBN 978-1-4614-3335-4.
- Priatma, A., Dedi, A. Mursalin dan B.B. Philipus. 2010. Sistem Reproduksi pada Manusia dan Hewan. Singkawang, November 2010.
- Putri, R.D. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Pacing (*Costus spiralis*) terhadap Diameter Tubulus Seminiferus, Motilitas, dan Spermisidal pada Tikus Jantan Strain Sprague-Dawley [Skripsi]. Jakarta Institutional Repository: UIN Syarif Hidayatullah.
- Saragih, C. F. 2014. Analisis Faktor-faktor Penyebab Infertilitas di RS Jejaring Departemen OBGIN FK USU periode Januari 2012 sampai Desember 2013. Medan: FK USU.
- Sari, I.P., R. Siti dan M.R. Dicky. 2012. Infusa Daun Pacing (*Costus speciosus*, Koen.) Sebagai Penghambat Jumlah dan Kualitas Sel Spermatozoa Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan Balb/C. *Trad. Med. Journal*. **18(1)**: 59-66.
- Soehadi, K., dan H. Winars. 1987. Arah Pemeriksaan Laboratorium Andrologi. Universitas Airlangga, Surabaya.
- World Health Organization. 2015. *WHO Laboratory Manual for The Examination and Processing of Human Semen. 6th Edition*. WHO Press, Switzerland.
- World Health Organization. 2016. *Infertility Definitions and Terminology. 5th Edition*. WHO Press, Switzerland.