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

**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* L.)**

**Nabila S.Petta\*, Edwin de Queljou\*\*, Rooije R.H.Rumende\*\***

**\*Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi \*\*Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi**

**Email: nabilla.petta@gmail.com**

**Abstrak**

Sel spermatozoa adalah sel kelamin jantan yang memiliki bulu cambuk dan dihasilkan dalam proses spermatogenesis. Untuk dapat membuahi sel telur, jumlah sel spermatozoa yang dihasilkan harus baik. Jumlah sel spermatozoa merupakan unsur penting untuk evaluasi kesuburan pria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kembang sepatu terhadap jumlah spermatozoa tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus* L.). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan 24 ekor tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) 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 cc 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 dari segi kuantitas, serta menyebabkan adanya perbedaan berat badan dan berat testis dari tikus jantan wistar (*Rattus norvegicus* L.) namun, berdasarkan hasil perhitungan *The Anova Procedure* ekstrak etanol daun kembang sepatu tidak dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa secara signifikan, serta berat badan dan berat testis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

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

**ABSTRACT**

*The spermatozoon cell is the male sex cell which has flagellum and is the product of the spermatogenesis process. In order to fertilize the egg sell, the number of spermatozoon cells must be large. The number of spermatozoon cells is the key factor in the evaluation of a male’s fertility. 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 L.). This research uses the approach of complete randomized design (CRD) onto 24 common white rats (Rattus norvegicus L.) 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 L.) but, from the mathematical results from The Anova Procedure ethanol extract from the leaves of a hibiscus cannot decrease the amount of spermatozoon cells significantly, also the body weight and testicle weight of a common white rat (Rattus norvegicus L.) does not change significantly either.*

*(Key Words: Spermatozoon Cells, Hibiscus (Hibiscus rosa-sinensis L.), Common (white) rat (Rattus novergicus L.)*

**PENDAHULUAN**

Reproduksi adalah kemampuan makhluk hidup untuk menghasilkan keturunan yang baru. Tujuan reproduksi yaitu untuk mempertahankan jenisnya dan melestarikan jenis agar tidak punah. Jika makhluk 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 dhasilkan tidak berkualitas (WHO, 2016). Apabila ada gangguan pada sistem anatomi reproduksi atau sel spermtozoa 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 servisitis, 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 hasil penelitian Agoes (2010), tanaman kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), 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 novergicus* L.).

**METODE**

**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 gram 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 konsentrasi 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%. Kemudian, masing-masing mulut labu ukur 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 dipuasakan 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 diteteskan 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 penulisan 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 x 200 x 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 *Analisys 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* L.)**

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* L.) 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 (2013) 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. Diagram Hasil Perhitungan Sel Spermatozoa Tikus Jantan Galur Wistar

 (*Rattus novergicus* L.)

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* L.)**

Dari hasil perhitungan berat badan, menunjukan 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.).

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, menunjukan 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.).

 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 testsi 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.*,* Beretta*,* G. 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.

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.

Mudayatiningsih, S., S.D, Endang., S, Hastuti., 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., A.F, Fifteen. 2014. Potensi Biji Saga (*Abrus precatorius*) Sebagai Kontrasepsi Pria. *Pharmacy*. **11(2).**

Parekattil, S. *and* Agarwal, A. 2012. *Male Infertility: Contemporary Clinical Approaches, Andrology, ART and Antioxidants*. [ISBN](https://en.wikipedia.org/wiki/International_Standard_Book_Number) [978-1-4614-3335-4](https://en.wikipedia.org/wiki/Special%3ABookSources/978-1-4614-3335-4).

Priatma, A., Dedi., Mursalin, A., Philipus B.B. 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.](http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/)

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., 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., Winars, H. 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.