

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN LOLA KAHORI (*Erythrina variegata* L.) TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus* L.)

Sri Dewi Kusumawati¹⁾, Edwin De Queljoe¹⁾, Fatimawali¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Family Planning Program (KB) is a program organized by the government with the aim to control the rate of the growth of the population. However, as this far male participation in family planning programs are still relatively low when compared with women's participation due to the lack of alternative treatment, one of them is Lola Kahori (*Erythrina variegata* L.), which is a medical plant that has been used empirically as antifertility. This study aims to determine the effect of ethanol extract of Lola Kahori leaves on the spermatogenesis of male white rat. Extraction was used with 96% of ethanol solvent. The observation of spermatogenesis was using the Johnson score on testicular test of male white rat testis, which had been treated with Lola Kahori leaf ethanol extract with concentration of 200mg, 400mg, 800mg, respectively. The statistic result test showed there is no effect of Lola Kahori leaf ethanol extract against spermatogenesis of male white rat, but as observation and graphically showed a decrease in spermatogenesis of male white rats (*Rattus norvegicus* L.) which had been treated.

Keywords : Lola Kahori (*Erythrina variegata* L.), Family Planning (KB), Spermatogenesis, Male White Rat (*Rattus norvegicus* L.)

ABSTRAK

Program keluarga berencana (KB) merupakan program yang diselenggarakan oleh pemerintah dengan tujuan untuk mengendalikan laju pertumbuhan penduduk. Namun, selama ini partisipasi laki-laki dalam program keluarga berencana masih relatif rendah bila dibandingkan dengan keikutsertaan perempuan karena kurangnya pilihan alternatif. Saat ini banyak masyarakat yang beralih memanfaatkan tumbuhan sebagai salah satu alternatif pengobatan, salah satunya adalah tumbuhan Lola Kahori (*Erythrina variegata* L.) yang merupakan tumbuhan berkhasiat obat yang telah digunakan secara empiris sebagai antifertilitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Lola Kahori terhadap proses spermatogenesis tikus putih jantan. Ekstraksi digunakan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pengamatan spermatogenesis dilakukan dengan menggunakan penilaian skor Johnson terhadap preparat sayatan testis tikus putih jantan yang sebelumnya telah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol daun Lola Kahori dengan konsentrasi 200mg, 400mg dan 800mg. Hasil uji statistik menunjukkan tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Lola Kahori terhadap proses spermatogenesis tikus putih jantan, namun secara pengamatan dan grafik terlihat adanya penurunan pada proses spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang telah mendapatkan perlakuan.

Kata kunci : Lola Kahori (*Erythrina variegata* L.), Keluarga Berencana (KB), Spermatogenesis, Tikus Putih Jantan

PENDAHULUAN

Program keluarga berencana (KB) merupakan program yang diselenggarakan oleh pemerintah dengan tujuan untuk mengendalikan laju pertumbuhan penduduk. Rendahnya partisipasi laki-laki dalam program Keluarga Berencana dikarenakan oleh terbatasnya pilihan kontrasepsi laki-laki yang dapat digunakan. Sampai saat ini metode kontrasepsi laki-laki hanya kondom, vasektomi dan penyuntikan hormon (Priastini, 2010).

Lola kahori (merupakan tumbuhan yang termasuk famili *Laguminosae* yang tersebar luas di Indonesia yang dalam penelitian berkelanjutan yang dilakukan oleh Herlina *et al* (2008) ditemukan bahwa ekstrak metanol dari daun Lola kahori menunjukkan adanya aktivitas antifertilitas terhadap spermatozoa tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L) secara in vitro. Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang belum dilakukan oleh peneliti sebelumnya, yaitu melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Lola kahori terhadap proses spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar sebagai alternatif antifertilitas pada laki-laki.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan yaitu pada bulan Agustus-Desember 2016 di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Penelitian Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Alat dan Bahan

Alat

Timbangan analitik, sudip, cawan petri, ayakan 200 Mesh, oven, labu ukur 100 mL, gelas ukur, gelas beker, corong gelas, pipet, batang pengaduk, hot plate, kertas saring, sarung tangan lateks merek sensi gloves, masker merek sensi mask, botol minum, gunting, blender merek miyako, sonde lambung, pinset anatomi, gunting anatomi, pisau anatomi, papan bedah parafin, dispo 3 cc, mikroskop, objek gelas, kaca penutup, kandang tikus putih jantan galur wistar, lemari pendingin merek LG, botol pot salep, botol berwarna gelap.

Bahan

Tikus putih jantan galur wistar 24 ekor, daun lola kahori, etanol 96%, etanol 70%, formalin 9,1 %, aquades, Hematoksilin-Eosin (HE), Albumin meyer, CMC 1%, pangan tikus putih jantan galur wistar yaitu pelet AD2, aluminium foil merek klin pak, kertas label.

Prosedur Kerja

Penyiapan hewan uji

Tabel 1. Kelompok perlakuan hewan uji

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

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lola Kahori

Daun lola kahori yang digunakan diambil di daerah kampus UNSRAT. Sebanyak 450 gram serbuk daun lola kahori 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 3 hari dan diaduk setiap hari sekali selama 5 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.

Pembuatan Larutan CMC 1%

Sebanyak 1 g serbuk CMC di masukkan ke dalam gelas beaker yang berisi aquades 50 mL, kemudian dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya larutan CMC dipindahkan ke labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan aquades hingga tanda tera.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Lola Kahori

Disiapkan berbagai alat dan bahan yang akan digunakan. Ekstrak ditimbang masing-masing sebanyak 3 konsentrasi (3,6 mg, 7,2 mg, dan 14,4 mg) untuk pembuatan 100mL yaitu 0,36 g, 0,72 g dan 1,44 g kemudian dimasukkan ke dalam 3 labu ukur berukuran 100 mL. Setelah itu masing-masing labu ukur yang sudah berisi ekstrak ditambahkan larutan CMC 1% hingga tanda tera. Kemudian masing-masing mulut labu ukur ditutup dengan aluminium foil dan disonifikasi selama 30 menit (hingga homogen). Setelah homogen, suspensi ekstrak etanol daun lola kahori dipindahkan ke dalam 3 botol berwarna gelap, ditutup dan disimpan di dalam lemari es. Larutan ekstrak suspensi 100 mL yang sudah jadi digunakan untuk kurang lebih 15 hari perlakuan.

Perlakuan Hewan Uji

Ekstrak etanol daun lola kahori diberikan secara oral dengan menggunakan sonde dengan dispo 1 mL yang dimasukkan melalui mulut sampai ke lambung, dimasukkan secara perlahan-lahan untuk menghindari terjadinya refluks muntah. Sebelum diberi perlakuan, hewan uji dipuaskan 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-

Pengambilan Sampel Testis

Pada hari ke-51 sebelum mengambil sampel testis, berat badan hewan uji ditimbang terlebih dahulu kemudian dicatat. Kemudian tikus dibius dengan memasukkan tikus ke dalam toples yang telah berisi uap eter pekat. Bagian bawah perut tikus selanjutnya dipotong melintang hingga terlihat epididimis dan testis. Selanjutnya, dua buah organ testis diambil dan ditimbang dan dimasukkan ke dalam larutan formalin 9,1% untuk keperluan pemeriksaan spermatogenesis (Anas *et al.*, 2009).

Pemeriksaan Spermatogenesis

Penilaian spermatogenesis dilakukan dengan berdasarkan penilaian skor spermatogenesis Johnsen pada tubulus seminiferus preperat testis tikus putih jantan galur wistar dengan pengamatan mikroskopis pada perbesaran 400x. Pengamatan dan pemberian skor dilakukan pada lima lapangan pandang tiap preperat. Skor dari lima lapangan pandang dirata-rata, sehingga didapatkan skor untuk masing-masing tikus. Skor masing masing tikus kemudian digabungkan untuk menjadi rerata skor kelompok. Hasil rerata skor masing masing kelompok kemudian dibandingkan, diolah menggunakan pengujian Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji LSD (*least difference significance*) apabila pada uji sebelumnya terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna pada taraf kepercayaan 95%. Adanya perbedaan yang signifikan atau bermakna ditandai dengan

masing kelompok yaitu 3,6 mg, 7,2 mg, dan 14,40 mg setiap hari sebanyak 1 mL, sedangkan kelompok 1 hanya diberikan pakan biasa berupa pelet..

nilai signifikansi kurang dari 0,05 atau $p < 0,05$ (Anas *et al.*, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penilaian Skor Johnson

Tabel 2. Penilaian skor Johnson

No	Nama Perlakuan	Skor Johnson					LPrerata
		LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	
1	Kontr ol A	9	9	9	9	9	9
2	Kontr ol B	9	9	9	9	9	9
3		8	9	8	9	9	8,6
4	PL ₂ B	9	9	9	9	9	9
5	PL ₂ E	9	9	8	8	8	8,4
6	PL ₄ A	9	9	9	9	8	8,8
7	PL ₄ C	8	8	8	8	8	8
8	PL ₈ C	7	8	8	8	7	7,6
	PL ₈ F						

Keterangan :

- LP₁ = Lapang pandang pertama
- LP₂ = Lapang pandang kedua
- LP₃ = Lapang pandang ketiga
- LP₄ = Lapang pandang keempat
- LP₅ = Lapang pandang kelima
- LPrerata = Lapang pandang rata-rata

Hasil Analisis Data Statistik

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Spermatogenesis	1	2	7.00
	2	2	5.50
	3	2	4.00
	4	2	1.50
	Total	8	

Test Statistics^{a,b}

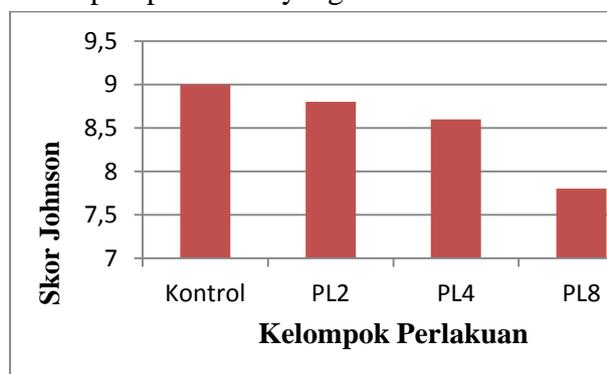
	Spermatogenesis
Chi-Square	5.775
df	3
Asymp. Sig.	.123

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Gambar 1. uji Kruskal-Wallis

Pada hasil uji statistik yang menggunakan analisa Kruskal-Wallis pada aplikasi SPSS versi 21 antara perlakuan dan hasil spermatogenesis didapatkan hasil yang menunjukkan nilai chi square < 10 yaitu 5,775 dan Sig > 0,005 yaitu 0,123. Artinya adalah tidak ada perbedaan secara statistik di antara keempat perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa variasi keragaman di antara keempat perlakuan tidak cukup untuk menyatakan bahwa ada perbedaan di antara keempat perlakuan tersebut sehingga tidak dilanjutkan dengan analisa LSD (*least difference significance*) untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki hasil yang bermakna diantara kelompok perlakuan yang lain.



Gambar 2. Grafik Pengamatan Mikroskopik Perbesaran 400 kali (Berdasarkan Skor Johnson)

Namun dari hasil pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran 400x terlihat adanya penurunan di tiap perlakuan yang diamati, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun lola kahori memiliki potensi menurunkan aktivitas spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar. Hal ini diduga karena daun lola kahori mengandung senyawa kimia alkaloid dan tanin yang menurut Priastini (2010) golongan alkaloid adalah golongan yang dapat mempengaruhi spermatogenesis dengan cara menekan sekresi hormon yang diperlukan untuk berlangsungnya spermatogenesis. Jenis alkaloid yang terdapat pada daun lola kahori yang memiliki aktivitas mampu menghambat proses spermatogenesis belum diketahui, namun diduga jenis alkaloid yang bersifat polarlah yang berperan dalam aktivitas ini. Hal ini berhubungan dengan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu pelarut etanol yang bersifat universal dan dapat menarik senyawa yang bersifat polar hingga semipolar. Adapun hormon yang mungkin dihambat oleh alkaloid dalam proses spermatogenesis adalah testosteron, LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*).

Menurut Kaspul (2007) alkaloid bersifat kompetitif terhadap reseptor FSH pada tubulus simeniferus yaitu sel sertoli. Sel sertoli mempunyai reseptor untuk hormon FSH dan hormon steroid testosteron, dengan demikian alkaloid dapat berikatan dengan sel sertoli. Hal ini menyebabkan FSH tidak dapat berikatan dengan sel reseptornya, yang terikat dengan reseptor FSH adalah alkaloid, sehingga pelepasan FSH dari hipofisis akan terganggu. Widiyani (2006) menjelaskan, hormon LH berfungsi

merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron, sedangkan FSH berfungsi merangsang spermatogenesis dan pembentukan protein pengikat androgen ABP (*Androgen Binding Protein*) oleh sel Sertoli. Apabila produksi FSH terhenti atau berkurang, maka spermatogenesis menjadi terhenti pula, dan akibatnya jumlah sel-sel spermatogenik juga menjadi berkurang.

Tanin merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang menurut Susetyarini (2003) dapat menyebabkan penggumpalan spermatozoa. Pemberian senyawa aktif tanin ditunjang dengan senyawa aktif alkaloid dapat menghambat pembentukan sel spermatogonia menjadi spermatosit, spermatid menjadi spermatozoa mengalami hambatan. Winarno (1997) dalam Purwoistri (2010) juga menambahkan bahwa tanin dapat mengganggu proses perjalanan spermatozoa, yaitu dengan menggumpalkan spermatozoa sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup spermatozoa, akibatnya spermatozoa tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat tercegah. Maka dari itu adanya penurunan aktivitas spermatogenesis pada pengamatan secara mikroskopik dengan perbesaran 400x diduga akibat dari adanya senyawa metabolit sekunder alkaloid dan tanin pada daun lola kahori.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun lola kahori dapat mempengaruhi proses spermatogenesis yaitu dengan menurunkan aktivitas spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar, namun secara statistik ekstrak etanol daun lola kahori tidak memberikan pengaruh yang bermakna

dalam menyebabkan penurunan terhadap spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun lola kahori terhadap proses spermatogenesis pada dosis yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai jenis kandungan kimia yang terdapat pada daun lola kahori yang berperan penting dalam menurunkan aktivitas atau proses spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimunca, C. 1996. Kemungkinan Pemanfaatan Ekstrak Buah Pare sebagai Bahan Kontrasepsi Pria. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. (112): 12-14
- Anas, Y . Faozi, I dan Suharjono. 2015 . *Potensi Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas [Alpinia galanga (L.) Swartz.]* ISBN: 978-602-19556-2-8. Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai *Alternatif Medicine* Tahun 2015 Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Ariens EJ, Mutschler E, Simonis AM. 1986. *Toksikologi umum pengantar*. Diterjemahkan Wattimena YR, Widianto MB. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Cheng, C.Y and Mruk, D.D. 2010. *The Biology of Spermatogenesis: The Past, Present and Future*. Phil. Trans. R. Soc. B (2010) 365, 1459–1463. The Mary M. Wohlford Laboratory for Male Contraceptive Research, Population Council, 1230 York Avenue, New York, NY 10065, USA
- Halim, V.S., Soegihardjo, C.J., Rizal, G.M . 2004 . Pengaruh ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) terhadap spermatogenesis mencit jantan dewasa dan uji kualitatif kromatografi lapis tipis. *Majalah Farmasi Indonesia*, 15(3), 136 – 143, 2004 . Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Haryono., Pertiwi. D. S., Susanto. D.I., dan Ismawati. D. 2003. *Pengambilan Pektin dari Ampas Wortel dengan Ekstraksi Menggunakan Pelarut HCl Encer*. Seminar Tjipto Utomo Itenas, Bandung.
- Herlina, T., Julaeha, E ., Supratman, U., dkk . 2008 . Potensi Tumbuhan *Erythrina* Sebagai Antifertilitas . *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol.7 No.2: Universitas Padjajaran
- Hess R.A., L.R. de Franca. 2009. *Spermatogenesis and Cycle of The Seminiferous Epithelium in Molecular Mechanism in Spermatogenesis*. Edited by C.Y. Cheng. Landes Bioscience and Springer, London.
- Kaspul. 2007. Kadar Testosteron Tikus Putih *Rattus novergicus L* Setelah Mengonsumsi Buah Terong Tukak (*Solanum torvum Sw*). *Jurnal Bioscientiae*. 4(1): 1-8
- Laimeheriwa, C. 2014 .*Uji Efektivitas Etanol Daun Lidah Mertua (Sansevieria trifasciata Prain) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar Rattus novergicus L. Yang Diinduksi Sukrosa*. FMIPA UNSRAT, Manado.
- Lu FC. 1995 . *Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Edisi ke-2. Diterjemahkan oleh Edi Nugroho. 1995.87-99. UI Press, Jakarta.
- Priastini, R. 2010 . *Tanaman Obat Alami Indonesia Sebagai Alternatif Antifertilitas Laki-Laki . Artikel Penelitian*. Bagian Biologi FK Ukrida, Jakarta
- Robinson, D.R. 1979. *Eicosanoids, Inflammation, and Antiinflammatory Drugs*. Clin Exp Rheumathol
- Purwoistri, R.F. 2010. *Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Spermatogenesis dan Tebal Epitel Tubulus Simeniferus Testis Mencit Mus musculus Jantan*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang

- Sudjadi. 1986 . *Metode Pemisahan*. Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Suherman KS. 1995. *Farmakologi dan terapi. Edisi IV*. 439-55,762-6. Bagian Farmakologi FKUI, Jakarta.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara : Surabaya.
- Susetyarini, E. 2003. *Efek Senyawa Aktif Daun Beluntas Terhadap Kadar Testosteron Tikus Putih Rattus novergicus Jantan. Tesis Tidak Diterbitkan*. Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Sono, O.P.,*et al* . 1987 . *Arah Pemeriksaan Laboratoris Andrologi* . Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
- Tjitrosoepomo, G. 2001. *Morfologi Tumbuhan*. UGM Press, Yogyakarta.
- Warara, S ., Queljoe, E.D ., Simbala, H . 2016 . Identifikasi Senyawa Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Lola Kahori (*Erythrina Variegata L.*) Dari Tidore Kepulauan Menggunakan Metode BSLT . *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 5 No. 3 AGUSTUS 2016 ISSN 2302 – 2493. FMIPA : Manado.
- Widiyani, T. 2006. Efek Antifertilitas Ekstrak Akar Som Jawa (*Talinum Paniculatum* Gaertn.) Pada Mencit (*Mus Musculus L.*) Jantan. *Bul. Penel. Kesehatan*, Vol. 34, No. 3, 2006:119 - 128
- Winarno, M.W ., dan Sundari, D . 1997 . *Informasi Tanaman Obat Untuk kontrasepsi Tradisional* . Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.