



UNIPA Surabaya

# STIGMA Journal of Science

Journal Homepage: <http://digilib.unipasby.ac.id>



## PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUNGA, DAUN DAN AKAR KEMBANG SEPATU (*Hibiscus rosa sinensis*) TERHADAP HISTOLOGI TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)

D. Febrianti<sup>1</sup> dan Sukarjati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

<sup>2</sup>Staf Pengajar Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

### INFO ARTIKEL

#### Riwayat artikel

Diterima/ Received  
25 Agustus 2015

Disetujui/Accepted  
04 September 2015

#### Kata kunci:

Ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) histologi testis Mencit (*Mus musculus*)

#### Keywords:

flower extract, leaves, and roots of hibiscus (*Hibiscus rosa sinensis*) testicular histology mice (*Mus musculus*)

### ABSTRAK / ABSTRACT

Kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) merupakan salah satu tanaman herbal. Pada bagian bunga memiliki kandungan flavonoid, pada bagian daun mengandung saponin dan flavonoid sedangkan pada bagian akar mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa flavonoid, saponin, dan tanin ini merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antifertilitas untuk kaum pria. Hal inilah yang mendorong penulis untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) terhadap histologi testis mencit (*Mus musculus*). Sampel penelitian ini adalah testis mencit sebanyak 27 ekor dengan berat badan 20-30 gram, berumur 2,5 bulan. Mencit di bagi 3 kelompok, masing-masing kelompok dibagi 3 perlakuan. Adapun perlakuan yang diberikan adalah ekstrak bunga, ekstrak daun, dan ekstrak akar kembang sepatu dengan konsentrasi 0mg/kg bb, 150 mg/kg bb dan 300 mg/kg bb. Pemberian ekstrak dilakukan 35 hari lamanya. Pada hari ke 37 mencit di bedah untuk diambil cauda testisnya untuk diamati histologi testis pada mencit. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan acak kelompok (RAK). Pengamatan histologi testis mencit meliputi jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid, dan sel leydig dengan menggunakan mikroskop. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) Satu arah. Hasil dari penelitian ini menunjukkan ada pengaruh ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu terhadap jumlah sel spermatogonia ( $P < 0,05$ ), jumlah sel spermatosit ( $P < 0,05$ ), jumlah sel spermatid ( $P < 0,05$ ) dan jumlah sel leydig ( $P < 0,05$ ). Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun dengan konsentrasi 300 mg/kg bb adalah perlakuan yang optimal dalam menurunkan jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit, jumlah sel spermatid dan jumlah sel leydig.

Hibiscus (*Hibiscus rosa sinensis*) is one of the herbs. In the flower contains flavonoids, on the leaves contain saponins and flavonoids, while at the roots contain flavonoids, saponins and tannins. Flavonoids, saponins and tannins is a compound that serves as antifertilitas for men. This has led the authors to conduct research on the effects of extracts of flowers, leaves, and roots of hibiscus (*Hibiscus rosa sinensis*) on the histology of the testes of mice (*Mus musculus*). The sample was testes of mice as much as 27 animals weighing 20-30 grams, 2.5 month old. Mice in the 3 groups, each divided into 3 treatment groups. The treatment given is the flower extract, extract of leaf and root extracts of hibiscus with a concentration of 0mg / kg bw, 150 mg / kg bw and 300 mg / kg bw. The extract is done 35 days. On day 37 mice in surgery for cauda testes taken for histology observed in mice testes. This study was an experimental study using a randomized block design (RAK). Histological observation testes of mice include the number of spermatogonia cells, cell spermatocyte, spermatid cells and Leydig cells using a microscope. Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) One direction. Results from this study showed no effect of extracts of flowers, leaves, and roots of hibiscus on the number of spermatogonia cells ( $P < 0.05$ ), the number of spermatocytes cells ( $P < 0.05$ ), the number of spermatid cells ( $P < 0.05$ ) and the number of Leydig cells ( $P < 0.05$ ). Results of this study we can conclude that the leaf extract at a concentration of 300 mg / kg bw is the optimal treatment in reducing the number of cells spermatogonia, spermatocyte cell count, number of spermatid cells and Leydig cell number.

### PENDAHULUAN

Di Indonesia, keterlibatan laki-laki dalam keluarga berencana khususnya dalam pengaturan jumlah anak selama ini masih dirasakan kurang.

Program KB selama ini masih memfokuskan kepada metode KB untuk perempuan, sedangkan terhadap konteks pengendalian fertilitas laki-laki masih

sangat kurang. Selama ini metode kontrasepsi untuk laki-laki yang tersedia hanya kondom atau dengan cara operasi (vasektomi). Terdapat petunjuk bahwa vasektomi bersifat irreversibel, sedangkan kelemahan utama dalam penggunaan kondom adalah efek psikis karena daya sensitivitas kurang (Adimunca, 1996).

Dilihat dari jenis kelamin, metode kontrasepsi perempuan yang digunakan jauh lebih besar dibanding dengan metode kontrasepsi laki-laki. Metode kontrasepsi perempuan sebesar 93,66%, sementara metode kontrasepsi laki-laki hanya sebesar 6,34%. Ini menunjukkan bahwa partisipasi laki-laki dalam menggunakan alat kontrasepsi masih sangat kecil. Penggunaan alat kontrasepsi masih dominan dilakukan oleh perempuan (Depkes, 2014).

Kontrasepsi yang ideal harus memenuhi beberapa syarat-syarat sebagai berikut: 1) dapat dipercaya, 2) tidak menimbulkan efek yang mengganggu kesehatan, 3) daya kerjanya dapat diatur menurut kebutuhan (reversibel), 4) tidak dapat menimbulkan gangguan sewaktu coitus, 5) tidak memerlukan motivasi terus menerus, 6) mudah penggunaannya, 7) murah harganya sehingga dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat. Sedangkan alat kontrasepsi yang ideal untuk pria harus dapat mencegah terjadinya fertilitas, aman, mempunyai kinerja cepat, tanpa efek samping, dan tidak mempengaruhi potensi seks dan libido. Para peneliti terus melakukan riset agar dapat menemukan metode kontrasepsi ideal tersebut. Salah satu yang sedang dikembangkan saat ini adalah penggunaan tanaman obat alami Indonesia sebagai alternatif antifertilitas pria (Depkes, 2006).

Badan kesehatan dunia WHO (World Health Organization) telah membentuk suatu kelompok kerja untuk mencari dan mengembangkan metode pengaturan kesuburan suami. Mandat yang diberikan kepada kelompok kerja tersebut adalah mengembangkan metode pengaturan kesuburan yang aman, efektif dan dapat diterima, serta memonitor keamanan dan keefektivitasannya. Salah satu strategi penelitian yang dilakukan oleh kelompok kerja WHO adalah mengembangkan kontrasepsi melalui bahan atau zat dari tumbuh-tumbuhan yang diduga mempunyai bahan aktif yang bersifat antifertilitas (Yurnadi dkk, 2001).

Di Indonesia ada 18 jenis tanaman obat yang berpotensi sebagai antifertilitas pria. Beberapa tanaman tersebut antara lain: bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*), pare (*Momordica charantia*), biji papaya (*Carica papaya*), kunyit (*Curcuma domestica*), biji oyong (*Luffa acutangula Roxb*), daun manggis (*Garcinia mengostana*), tapak dara (*Catharantus roseus*), biji kapas (*Gossypium hirtusum*), biji klabet (*Foenigraeci semen*), cantel (*Andropogon sorghum*), beluntas (*Pluchea indica*), sitawar (*Costus speciosus*), akar som jawa (*Talinum paniculatum*) dan gandarusa (*Justicia gandarussa*). (Depkes, 2006). Tanaman tersebut dapat menghambat pertumbuhan spermatozoa (spermatogenesis), menggagalkan pematangan sperma, menghambat transportasi sperma melalui degenerasi saluran sperma, dan menghalangi penyimpanan spermatozoa (Jannah 2009).

*Hibiscus rosa sinensis* memiliki manfaat yang menjanjikan. Bunga, daun, dan akar mengandung hibisetin likosid (flavonoid) sebagai anti spermatogenesis, menguntungkan untuk kontrasepsi pria. Selain mengandung hibisetin likosid dan mengandung kalsium oksalat, daun juga mengandung beberapa jenis alkaloid. Namun, masih banyak kandungan-kandungan lain yang masih belum ditemukan (Margaretha, 2008).

Bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) mengandung polifenol dan flavonoid. Pada daun mengandung saponin, polifenol dan flavonoid. Sedangkan pada akar mengandung saponin, tanin dan flavonoid (Anonim, 2000).

Saponin dapat menyebabkan gangguan pengaturan gen pada inti sel yang nantinya akan menghambat produksi hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH. Hormon testoteron yang dihasilkan oleh sel leydig memerlukan LH untuk merangsang produksinya. Adanya hambatan pada sekresi LH menyebabkan sel leydig dalam testis tidak dapat memproduksi hormon testoteron secara optimal, sehingga kadar testoteron bebas dalam darah menurun (Nandari, 2006).

Kandungan flavonoid bersifat estrogenik sehingga dapat mempengaruhi sistem hormonal serta dapat menyebabkan gangguan pada proses ovulasi dan fertilitas. Zat aktif yang bersifat estrogenik tersebut dapat mengganggu proses sekresi FSH oleh kelenjar hipofisis. Terganggunya sekresi FSH oleh hipofisa dapat mengganggu

pertumbuhan serta perkembangan sel-sel folikel dan mencegah terjadinya ovulasi. (Widyawati, 2010)

Tanin dapat menggumpalkan spermatozoa dan sekresi hormon reproduksi, yaitu hormon testosteron sehingga proses spermatogenesis terganggu (Susetyarini, 2011).

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah Penelitian Eksperimental Sungguhan. Penelitian ini bertujuan menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab akibat dengan cara mengenakan satu atau lebih kondisi perlakuan kepada satu atau lebih eksperimental dan memperbandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan itu.

Dalam hal ini yang akan diteliti penulis adalah pengaruh ekstrak bunga, ekstrak daun dan ekstrak akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) terhadap histologi testis yang meliputi spermatogonia, spermatosit, spermatid, dan sel leydig pada mencit jantan (*Mus musculus*).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak kelompok (RAK). Penelitian ini terdiri dari 2 faktor yaitu: 1) Faktor I: jenis ekstrak ; 2) Faktor II: dosis ekstrak.

### Pembuatan ekstrak

Daun, bunga dan akar kembang sepatu dikering anginkan untuk menjadi simplisia. Saat simplisia sudah kering, dihaluskan dengan cara blender untuk daun dan bunga, sedangkan untuk akar diambil kulitnya terlebih dahulu kemudian digiling atau ditumbuk hingga halus.

Setelah semua simplisia halus, kemudian membuat ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Halusan simplisia dibungkus menggunakan kain putih yang tipis kemudian diikat. Setelah diikat di masukkan kedalam toples/wadah dan direndam dengan menggunakan pelarut etanol 70% selama  $\pm$  3 hari. Setelah 3 hari air ekstrak dipisahkan dari ekstraknya kemudian didestilasi selama  $\pm$  8 jam dengan suhu maksimum 70 °c Kemudian hasil destilasi dioven selama  $\pm$  2 hari.

## Pemberian perlakuan

### 1) Jenis Ekstrak

Jenis ekstrak meliputi ekstrak daun (A), ekstrak bunga (B), dan ekstrak akar (C). Dosis ekstrak yang digunakan adalah 0 mg/kgBB (1), 150 mg/kgBB (2) dan, 300 mg/kgBB (3). Diberi perlakuan pada mencit yaitu dengan 9 perlakuan yaitu 3 kelompok sebagai kontrol dan 2 kelompok diberi konsentrasi berbagai ekstrak yang diberikan secara oral dengan menggunakan alat pengekok oral (sonde). Masing – masing perlakuan diberi 3 kali ulangan.

Tabel kombinasi perlakuan pada mencit :

Dosis	Ekstrak daun (A)	Ekstrak bunga (B)	Ekstrak akar (C)
1(0 mg/kgbb)	A1	B1	C1
2 (150 mg/kgbb)	A2	B2	C2
3 ( 300mg/kgbb)	A3	B3	C3

### 2) Prosedur pembuatan dosis ekstrak

Dalam penelitian ini ekstrak akan dilarutkan dengan aquades. Suspensi ekstrak kembang sepatu pada konsentrasi 150 mg/kg bb ekstrak ditimbang 152,1 mg kemudian dicampurkan aquades sampai volumenya 40 ml dan untuk konsentrasi 300 mg/bb ekstrak ditimbang 306,3 mg dan dicampur aquades sampai 40 ml.

Perlakuan mencit diberikan secara oral dengan menggunakan sonde sekali sehari selama 35 hari sebanyak 1 ml setiap mencit padasemua perlakuan. sedangkan kelompok kontrol diberikan air.

### Pembuatan Preparat Histologis Testis dengan Metode Parafin

Pada hari ke-36, tikus dibius dengan eter, kemudian dibedah. Diambil bagian testis lalu dibuat preparasi. Jaringan testis yang telah diambil, difiksasi dalam larutan Bouin dan dibiarkan selama kurang lebih 24 jam. Kemudian dilakukan pencucian, yaitu mencuci organ dengan alkohol 70% yang dilakukan berulang-ulang selama kurang lebih 30 menit. Hal ini bertujuan agar warna kuning (larutan Bouin) berkurang atau tampak jernih. Jaringan didehidrasi dalam larutan alkohol bertingkat dari alkohol 70%, 80%, 96% dan alkohol absolut selama kurang lebih 1 jam untuk menarik molekul air yang keluar dari jaringan. Selanjutnya jaringan dijernihkan dengan larutan benzil benzoat selama

24 jam, lalu dalam benzol sebanyak 2 kali 15 menit sampai jaringan tampak jernih atau transparan (Ilyas, 2007).

Infiltrasi dengan parafin dalam beberapa tahap, yaitu jaringan direndam dalam parafin I selama 30 menit, parafin II selama 60 menit, dan parafin III selama 90 menit. Infiltrasi dilakukan dalam oven dengan suhu 56°C-58°C. Perlakuan berikutnya adalah penanaman jaringan yang telah diinfiltrasi dalam parafin cair lalu diletakkan dalam kotak kertas sesuai dengan ukuran masing-masing jaringan yang akan ditanam. Kotak kertas yang telah berisi jaringan dimasukkan dalam lemari es dan dibiarkan membeku (Kusmana, 2001).

Pemotongan jaringan setebal 3-6µm dengan menggunakan pisau mikrotom putar dan hasil irisan ditempelkan pada kaca objek. Preparat pada kaca objek dipanaskan sampai jaringan mengembang dengan sempurna. Sebelum jaringan diwarnai, sediaan direndam dalam xilol selama 5 menit sebanyak 2 kali. Hal tersebut bertujuan agar sisa parafin yang masih melekat pada jaringan dapat dihilangkan. Xilol dihilangkan dengan merendam jaringan pada larutan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi turun secara bertahap (100%, 90%, 80%, dan 70%) masing-masing selama 3 menit. Untuk pewarnaan dilakukan dengan hematoxilin dan eosin (HE). Jaringan yang telah diwarnai dijernihkan dengan xilol selama 5 menit agar jaringan tampak lebih cerah. Pada tahap akhir, jaringan testis pada kaca objek diberi entelan dan ditutup dengan kaca penutup sehingga dapat dilakukan pengamatan (Woforst, 2007).

Parameter pengamatan pada tubulus seminiferus testis meliputi jumlah sel-sel spermatogenik, hasil akhir diamati dengan mikroskop dan dipotret kemudian dihitung jumlah sel-sel spermatogonia, spermatisit dan spermatid.

#### **Pengamatan Jumlah Spermatogonia, Spermatisit, Spermatid, dan Sel Leydig**

Perhitungan dilakukan dengan mengamati preparat histologi dari irisan testis. Langkah-langkah perhitungan yang pertama adalah pemilihan tubulus seminiferus yang baik dan bulat dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x, kemudian difoto. Pengamatan dilanjutkan dengan mengamati preparat dengan perbesaran 200x, kemudian difoto. Pada perbesaran ini preparat

dibagi menjadi 4 bagian, tiap bagian diambil satu tubulus seminiferus yang sesuai untuk dihitung sel spermatogonium, spermatisit primer, spermatid dan sel leydig di dalamnya. Setelah mendapatkan tubulus seminiferus yang sesuai dilakukan perhitungan di bawah perbesaran 400x. Pada mikroskop akan tampak sel spermatogonium, spermatisit primer, spermatid dan sel leydig yang terpisah sehingga dapat dihitung. Perhitungan dilakukan dengan melihat melalui mikroskop pada preparat dan dengan mengambil foto tubulus seminiferus yang akan dihitung sel spermatogonium, spermatisit primer, spermatid dan sel leydig. Sel yang bertumpuk diambil salah satunya yang berwarna lebih gelap. Satu sediaan preparat dilakukan pengamatan 3 lapangan pandang dengan 3 kali pengulangan.

#### **Metode analisis data**

Data diuji dengan uji F (ANOVA) taraf 5 % pada penelitian ini. Jika ada pengaruh pemberian ekstrak daun, bunga dan akar kembang sepatu terhadap histologi testis pada mencit, maka dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan. Data diuji dibantu dengan menggunakan SPSS 16.

#### **HASIL PENELITIAN**

Data rata-rata jumlah sel spermatogonia yang telah diberi perlakuan ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Tabel 1. Rata-rata jumlah sel spermatogonia yang telah diberi perlakuan pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Konsentrasi	Bunga	Daun	Akar
0 mg	97,9 <sup>a</sup>	97,9 <sup>a</sup>	97,9 <sup>a</sup>
150 mg	30,9 <sup>b</sup>	30,03 <sup>b</sup>	46 <sup>cd</sup>
300 mg	27 <sup>e</sup>	22,8 <sup>e</sup>	31,8 <sup>e</sup>

Keterangan : Huruf yang sama dalam satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang tidak berbeda sedangkan huruf yang berbeda pada satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang berbeda.

Berdasarkan tabel pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 0mg/BB tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Hal ini berdasarkan uji LSD. Sedangkan pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 150 mg/BB dan 300 mg/BB berpengaruh terhadap jumlah sel spermatogonia hal ini berdasarkan uji Anova ( $p < 0,05$ ). Sedangkan untuk uji LSD pada konsentrasi 150 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,892$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar berbeda secara signifikan ( $p = 0,031$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar berbeda secara signifikan ( $p = 0,023$ ). Pada konsentrasi 300 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,514$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,457$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,174$ ).

Data rata-rata jumlah sel spermatisit yang telah diberi perlakuan ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Tabel 2. Rata-rata jumlah sel spermatisit yang telah diberi perlakuan pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Konsentrasi	Bunga	Daun	Akar
0 mg	94,56 <sup>a</sup>	94,56 <sup>a</sup>	94,56 <sup>a</sup>
150 mg	32,76 <sup>b</sup>	32,43 <sup>b</sup>	41,56 <sup>b</sup>
300 mg	27 <sup>c</sup>	27,46 <sup>c</sup>	37,33 <sup>c</sup>

Keterangan : Huruf yang sama dalam satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang tidak berbeda sedangkan huruf yang berbeda pada satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang berbeda.

Berdasarkan tabel pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 0mg/BB tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Hal ini berdasarkan uji LSD. Sedangkan pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 150 mg/BB dan 300 mg/BB berpengaruh terhadap jumlah sel spermatisit hal ini berdasarkan uji Anova ( $p < 0,05$ ). Sedangkan untuk uji LSD pada konsentrasi 150 mg ekstrak bunga dan

ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,973$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,374$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,356$ ). Pada konsentrasi 300 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,962$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,299$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,320$ ).

Data rata-rata jumlah sel sel spermatid yang telah diberi perlakuan ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Tabel 3. Rata-rata jumlah sel sel spermatid yang telah diberi perlakuan pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Konsentrasi	Bunga	Daun	Akar
0 mg	285,33 <sup>a</sup>	285,33 <sup>a</sup>	285,33 <sup>a</sup>
150 mg	60,76 <sup>b</sup>	72,1 <sup>c</sup>	68,66 <sup>de</sup>
300 mg	43,93 <sup>f</sup>	67,24 <sup>g</sup>	52,76 <sup>hi</sup>

Keterangan : Huruf yang sama dalam satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang tidak berbeda sedangkan huruf yang berbeda pada satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang berbeda.

Berdasarkan tabel pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 0mg/BB tidak berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Hal ini berdasarkan uji LSD. Sedangkan pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 150 mg/BB dan 300 mg/BB berpengaruh terhadap jumlah sel spermatid hal ini berdasarkan uji Anova ( $p < 0,05$ ). Sedangkan untuk uji LSD pada konsentrasi 150 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,657$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,756$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,892$ ). Pada konsentrasi 300 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,366$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p = 0,758$ ), ekstrak daun

dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,545$ ).

Data rata-rata jumlah sel leydig yang telah diberi perlakuan ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Tabel 4. Rata-rata jumlah sel leydig yang telah diberi perlakuan pada berbagai konsentrasi (mg/kg BB).

Konsentrasi	Bunga	Daun	Akar
0 mg	60,66 <sup>a</sup>	60,66 <sup>a</sup>	60,66 <sup>a</sup>
150 mg	17,7 <sup>b</sup>	23,22 <sup>b</sup>	33,44 <sup>b</sup>
300 mg	13 <sup>c</sup>	19,44 <sup>c</sup>	22,77 <sup>c</sup>

Keterangan : Huruf yang sama dalam satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang tidak berbeda sedangkan huruf yang berbeda pada satu kolom dan baris menunjukkan hasil yang berbeda.

Berdasarkan tabel 4 pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 0mg/BB tidak berbeda nyata ( $p<0,05$ ). Hal ini berdasarkan uji LSD. Sedangkan pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada konsentrasi 150 mg/BB dan 300 mg/BB berpengaruh terhadap jumlah sel leydig hal ini berdasarkan uji Anova ( $p<0,05$ ). Sedangkan untuk uji LSD pada konsentrasi 150 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,580$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,128$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,312$ ). Pada konsentrasi 300 mg ekstrak bunga dan ekstrak daun tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,519$ ), ekstrak bunga dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,333$ ), ekstrak daun dan ekstrak akar tidak berbeda secara signifikan ( $p=0,737$ ).

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan Anova taraf 5% tentang potensi ekstrak bunga, daun dan akar kembang sepatu terhadap penurunan spermatogenesis mencit menunjukkan adanya penurunan populasi sel

spermatogenik yang terjadi pada semua dosis yang diberikan. Penurunan ini meningkat seiring meningkatnya dosis ekstrak bunga, daun dan akar kembang sepatu yang diberikan pada mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan coba. Pada perlakuan bunga, daun dan akar kembang sepatu dengan konsentrasi kontrol, 150mg/kg bb dan 300mg/kg bb menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Pada penelitian ini diketahui bahwa pemberian ekstrak bunga, daun dan akar kembang sepatu pada dosis 300 mg/kg bb mampu menurunkan jumlah sel spermatogonium. Penurunan jumlah sel spermatogonium kemungkinan disebabkan oleh adanya zat aktif flavonoid yang diduga berperan dalam menurunkan jumlah sel spermatogonia.

Temuan tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut sesuai pendapat Herdiningrat (2002), senyawa antifertilitas pada prinsipnya bekerja dengan 2 cara, yaitu melalui efek sitotoksik atau sitostatik dan melalui efek hormonal yang menghambat laju metabolisme sel kelamin dengan cara mengganggu keseimbangan sistem hormon. Diduga kandungan flavonoid, saponin, dan tanin pada bunga, daun dan akar pada kembang sepatu bekerja sebagai senyawa antifertilitas.

Menurut Malik (2012) ekstrak kembang sepatu mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin yang dapat digunakan sebagai antifertilitas maupun antispermatogenik. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan senyawa-senyawa bioaktif tumbuhan yang memberikan efek antifertilitas. Untuk mendapatkan senyawa bioaktif tersebut salah satunya dengan proses ekstraksi.

Flavonoid diketahui dapat merangsang pembentukan estrogen pada mamalia, dan dari strukturnya ada keserupaan keruangan dengan hormon estrogenik. Flavonoid dapat menghambat banyak reaksi oksidasi, baik enzim maupun nonenzim. Dengan terhambatnya sejumlah reaksi enzimatik di dalam tubuh, maka hal ini akan menghambat sejumlah proses perkembangan sel di dalam tubuh, termasuk sel kelamin saat oogenesis. (Robinson, 1991) Senyawa flavonoid yang memiliki aktifitas, seperti estrogen, diduga dapat menekan fungsi hipofisis anterior untuk mensekresikan FSH dan LH (Middleton *et al.*, 2000 dalam Suartha, 2005).

Flavonoid mampu menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  pada organ testis dengan cara mencegah aktifnya magrotag pada sekitar sel sertoli yang memproduksi sitokin proinflamasi sehingga dengan adanya antioksidan menunjukkan kembalinya struktur jaringan epitel pada organ testis dan magrotag pada sel sertoli dapat dicegah pengaktifannya (Singh, *et al.*, 2006).

Saponin digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid, dan digunakan sebagai estrogen kontraseptif. (Anni Nurliani, 2007) Salah satu senyawa yang digolongkan dalam saponin, yaitu momordikosa K dan L bersifat sitotoksik dan sitotoksik terhadap sel terutama terhadap sel yang sedang mengalami perkembangan, seperti pada saat oogenesis (proses pembentukan ovum) (Nurhuda dkk, 1995). Anisimov *et al* (1978) menyatakan, bahwa aktivitas saponin triterpenoid dapat mengganggu proses mitotik gel telur dan mengakibatkan gagalnya pemasakan set telur dan kebuntingan.

Selain itu, potensi antifertilitas juga dapat ditimbulkan oleh sifat sitotoksik dari senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak kulit kayu durian. Tanin diketahui dapat menghambat pertumbuhan tumor (Robinson, 1991). Tanin bersifat sitotoksik terhadap sel tumor, diduga sitotoksik juga terhadap sel ovum.

Spermatogenesis merupakan proses pembentukan sperma yang berlangsung dalam testis. Rangkaian pembelahan selama spermatogenesis menyebabkan tahapan perkembangan spermatogonia menjadi spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan berakhir dengan spermatozoa dengan bentuk khas yaitu mempunyai kepala, leher dan ekor (Johnson and Everitt, 1988)

Tahapan spermatozoa disebut spermatogenesis, tahapan ini terbagi menjadi dua yaitu tahap pertama disebut spermatocytogenesis yang dimulai dari spermatogonia berkumpul ditepi membrane basal. Spermatogonia bermigrasi ke arah sentral di antara sel-sel Sertoli. Sel-sel Sertoli mempunyai membran yang kuat berlekatan satu sama lain. Sel sertoli secara berangsur-angsur membesar untuk membentuk suatu spermatosit primer. Spermatosit primer membelah menjadi spermatosit sekunder. Pembelahan meiosis kedua terjadi, di mana kedua kromatid berpisah pada

sentromer. Tahap kedua yaitu perkembangan spermatid menjadi spermatozoa, tahapan ini disebut tahap spermiogenesis (Syahrum, 1994).

Proses spermatogenesis merupakan proses yang berlangsung melalui serangkaian tahapan yang sangat terkoordinasi. Proses ini sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang mampu menembus system barrier pada jaringan penyusun testis (Johnson and Everitt, 1988).

Bahan kimia yang mampu menembus system barrier dan mempengaruhi spermatogenesis adalah bahan kimia yang memiliki kelarutan tinggi terhadap lemak (Zenick and Clegg, 1989).

Spermatogenesis merupakan proses yang diregulasi oleh hormon reproduksi, yaitu gonadotrophin dan testoteron. Gonadotrophin maupun testoteron merupakan hormon yang memiliki waktu paruh beberapa hari sehingga apabila sediaan hormon ini diberikan pada hewan uji tetap dapat memunculkan pengaruh sampai beberapa saat setelah paparan dihentikan (Johnson and Everitt, 1995; Hafez and Hafez, 2000; Chedrese, 2009)

Menurut Sukmaningsih (2011), mekanisme pretest ikuler menghambat spermatogenesis melalui poros hipotalamus, hipofisis dan testis. Jumlah glutamat yang berlebih dalam otak akan menimbulkan gangguan pada *hipotalamus*. Akibatnya sekresi LH dan FSH menurun. LH yang menurun akan menghambat sel leydig dalam menghasilkan testosteron. Sedangkan kurangnya sekresi FSH dapat mempengaruhi sel sertoli dalam menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) untuk mengikat testosteron. Akibatnya proses spermatogenesis terganggu sehingga produksi sperma menurun.

Penurunan jumlah sel spermatid diakibatkan oleh adanya zat alkaloid dan flavonoid yang berperan menghambat enzim aromatase yaitu enzim yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormon testosteron. Tingginya konsentrasi testosteron akan menyebabkan umpan balik negatif ke hipofisis yaitu tidak melepaskan FSH atau LH, menghambat proses mitosis dan proses spermatogenesis (Winarno, 1997).

Testosteron adalah hormon utama yang diproduksi oleh sel leydig sebagai hasil rangsangan dari Luteinizing Hormon (LH) dari hipofisis anterior,

yang sangat dibutuhkan dalam spermatogenesis. Dalam tubulus seminiferus, testosteron berfungsi mengontrol spermatogenesis pada pembelahan meiosis dan juga spermiogenesis. Penurunan kadar testosteron tentunya akan mengganggu spermatogenesis (Greenspan dan Baxter, 1998).

#### KESIMPULAN

1. Ada pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) terhadap penurunan jumlah sel spermatogonia, spermatosit, spermatid, dan sel leydig mencit (*Mus musculus*).
2. Ada perbedaan pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada mencit dengan konsentrasi 150 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB terhadap penurunan jumlah sel spermatogonia, spermatosit dan spermatid mencit (*Mus musculus*).

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adnan. 2008. *Perkembangan Hewan*. [Skripsi]. Makassar : Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Makassar.
- Emara, Prames. 2010. *Spermatogenesis pada mencit (Mus musculus)*, in press.
- Johnson, M.H & B.J. Everitt, 1995. *Essential Reproduction*. 3rd ed. Blackwell Sci. Publ. Oxford.
- Kriswiyanti, Eniek. 2007. *Studi variasi ukuran serbuk sari kembang sepatu (hibiscus rosa-sinensis) dengan warna bunga berbeda*. [Skripsi]. Jimbaran : Jurusan Biologi, FMIPA, Universtias Udayana.
- Kustantinah. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Larasaty, Widya. 2013. *Uji antifertilitas ekstrak etil asetat biji jarak pagar pada tikus putih jantangalur spraguedawley secara in vitro*. [Skripsi]. Jakarta : Jurusan farmasi, fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Malik, Abd. 2012. *Efek Ekstrak Terpurifikasi Kembang Sepatu pada Organ Aorta Tikus Terisolasi dan Penetapan Kadar Fenolik serta*

*Flavonoid Totalnya*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

- Ollero M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K. 2001. *Pengamatan morfologi sperma mencit (Mus musculus)*, in press.
- Priastini, Rina. *Tanaman obat alami Indonesia sebagai alternatif antifertilitaslaki-laki*. [Skripsi]. Jakarta : Jurusan Biologi, FMIPA, UKRIDA.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB, Bandung.
- Supriyono, Rachmat. *Efek pemberian ekstrak bunga kembang sepatu ( Hibiscus rosa sinensis) terhadap gambaran histologi ovarium mencit (Mus musculus)*. [Skripsi]. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Susetyarini, Eko. 2012. *Jumlah sel spermiogenesis tikus putih yang diberi tanin daun beluntas (pluchea indica) sebagai sumber belajar*. [Skripsi]. Malang : Jurusan Biologi FKIP, Universitas Muhammadiyah Malang.
- Tritianingsih. 2006. *Tekhnik pembuatan simplisia dan ekstrak. Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*, in press.
- Tritianingsih. 2006. *Tekhnik pembuatan simplisia dan ekstrak. Laporan Pelaksanaan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*, in press.
- Zenic, H. and E.D. Clegg, 1989. *Assesment of Reproductive Toxicology : A Risk Assesment Approach*. In : *Principles and Method of Toxicology*. 2nd Ed. Raven Press, Ltd. New York.