

POTENSI EKSTRAK DAGING BUAH LERAK (*Sapindus rarak*), PEGAGAN (*Centella asiatica*), BIJI MIMBA (*Azadirachta indica A.Juss*) SERTA CAMPURAN KETIGA EKSTRAK TERHADAP MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA MARMUT (*Cavia porcellus*) SECARA IN VITRO

Sukarjati*, IAK Pramushinta*, Erni Widyaswati

¹Program Studi Biologi, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

²Program Studi Farmasi, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

³Program Studi Biologi, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

*Email: iak.pramushinta@unipasby.ac.id

Abstrak

Spermisida merupakan bahan yang dapat mematikan spermatozoa. Spermisida yang beredar di kalangan masyarakat mengandung *Nonoxynol-9* yang apabila digunakan dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan iritasi mukosa vagina dan penis. Indonesia mempunyai beragam tanaman yang berpotensi sebagai antifertilitas diantaranya lerak, pegagan dan mimba. Sampel penelitian ini adalah spermatozoa marmut sebanyak 5 ekor marmut jantan dewasa kelamin berumur 3 bulan yang diambil dari cauda epididimis dan vas deferens. Marmut dibagi menjadi 5 perlakuan dengan masing masing ulangan di inkubasi selama 1, 10, dan 30 menit dan dilakukan ulangan setiap waktu inkubasinya sebanyak 5 kali. Adapun perlakuan dalam penelitian ini yaitu kontrol, 200 µl suspensi spermatozoa + 50 µl ekstrak daging buah lerak 0,9 %; 200 µl suspensi spermatozoa + 50 µl ekstrak pegagan 0,9 %; 200 µl suspensi spermatozoa + 50 µl ekstrak biji mimba 0,9 %; 200 µl suspensi spermatozoa + 50 µl ekstrak campuran ketiga ekstrak 0,9 %. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengamatan pada penelitian ini adalah motilitas spermatozoa marmut kategori a, a+b dan viabilitas spermatozoa marmut dengan menggunakan mikroskop. Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan *One Way Anova*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daging buah lerak, pegagan, biji mimba dan campuran ketiga ekstrak berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa marmut kategori a, a+b dan viabilitas spermatozoa marmut. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah campuran ketiga ekstrak lebih berpotensi dalam menurunkan motilitas spermatozoa kategori a maupun a+b dan viabilitas spermatozoa marmut dibandingkan dengan ekstrak tunggal.

Kata kunci : Ekstrak Daging Buah Lerak (*Sapindus rarak*), Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*), Ekstrak Biji Mimba (*Azadirachta indica A.Juss*), Spermatozoa Marmut (*Cavia porcellus*), Motilitas, Viabilitas

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kepadatan penduduk yang tinggi. Menurut Bappenas (2018) jumlah penduduk di Indonesia menurut umur dan jenis kelamin tahun 2019 mencapai 267 juta jiwa. Indonesia merupakan negara dengan populasi penduduk terbesar ke 4 setelah Negara Cina, India, dan Amerika Serikat dengan laju pertumbuhan penduduk sebesar 1,49 % setiap tahunnya. Dengan tingginya laju pertumbuhan penduduk tersebut maka akan berpengaruh pada tingkat kesejahteraan dan kehidupan penduduk (BKKBN, 2015). Dalam hal ini pemerintah melakukan upaya untuk menekan dan mengendalikan jumlah penduduk dengan program Keluarga Berencana (KB). salah satu metode kontrasepsi adalah dengan penggunaan spermisida.

Spermisida merupakan bahan yang dapat melumpuhkan dan mematikan spermatozoa. Spermisida dikatakan ideal yaitu dapat dengan cepat menghambat mobilisasi spermatozoa, bebas dari efek pemakaian jangka panjang, serta tidak mengakibatkan iritasi pada mukosa vagina maupun penis, dan tidak beracun (Shah *et al.*, 2008). *Nonoxynol-9* (N-9) merupakan salah satu agen spermisida yang banyak beredar di masyarakat, namun penggunaannya sebagai spermisida dapat menimbulkan inflamasi

dan iritasi pada vagina, sehingga perlu dicari pengembangan senyawa alternatif lain terutama kontrasepsi vagina yang aman. Salah satu cara pengembangan obat-obatan kontrasepsi yang ideal yaitu dengan memanfaatkan bahan alternatif dari bahan-bahan alam karena relatif aman dan mudah didapat.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati dengan jumlah spesies tanaman 25.000-30.000 (Dewoto, 2007). Diantaranya selain sebagai tanaman obat juga ada yang berpotensi sebagai antifertilitas. Beberapa tanaman yang berpotensi sebagai antifertilitas yaitu lerak, pegagan, dan biji mimba (Depkes., 2006).

Lerak merupakan tanaman yang dapat tumbuh pada dataran rendah maupun tinggi yang mempunyai nama latin *Sapindus rarak*. Lerak mempunyai kandungan antara lain yaitu saponin, alkaloid, steroid, antrakuinon, tanin, fenol, flavanoid dan minyak atsiri. Kandungan saponin dalam lerak yaitu jenis saponin triterpenoid. Diperkuat oleh penelitian Herawati *et al* (2012) yang menunjukkan bahwa kandungan saponin dalam daging buah lerak dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa secara *in vitro*. Saponin bekerja dengan cara mengikat lipid dan lipoprotein pada membran spermatozoa, hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya pelonggaran pada membran sel spermatozoa dan gangguan pada inti sel sehingga mengakibatkan penurunan integritas membran spermatozoa, integritas membran spermatozoa mengganggu fungsi membran sel dalam mengatur transport molekul yang masuk ke dalam maupun ke luar sel (Shah *et al.*, 2008). Kerusakan membran sel tersebut mengakibatkan transport molekul terhambat yang mengakibatkan metabolisme sel terganggu. Akibatnya fertilisasi spermatozoa terhambat (Dubey *et al.*, 2010).

Pegagan atau dengan nama latin *Centella asiatica* merupakan tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat. Pegagan mengandung alkaloid, fitosteron, sesquiterpen, alkaloid, sterol, dan tannin. Penggunaan pegagan telah terbukti bekerja baik sebagai antifertilitas dalam mengurangi jumlah spermatozoa pada mencit jantan (Sihombing 2015). Senyawa tannin dan alkaloid mempunyai sifat sitotoksik yang dapat mengakibatkan spermatozoa dapat rusak. Kerusakan spermatozoa diantaranya dapat terjadi pada ekornya, akibatnya dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Tannin bersifat sebagai astringent, sehingga dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel sperma. Tannin akan menyebabkan terjadinya pengerutan pada membran sel, sehingga mengganggu fungsi membran sel dalam mengangkut zat makanan atau nutrisi. Jika zat makanan berkurang maka metabolisme sel akan terganggu akibatnya energi juga berkurang. Jika metabolisme sel dalam menghasilkan energi terganggu maka dapat menyebabkan motilitas spermatozoa juga menurun, karena motilitas spermatozoa memerlukan energi. (Handayani *et al.*, 2018).

Alkaloid yang berasal dari tanaman diduga dapat mengganggu aktivitas enzim ATP-ase membran sel pada bagian tengah ekor spermatozoa. Homeostasis internal ion natrium dan kalium dipertahankan oleh adanya enzim ATP-ase. Terganggunya permeabilitas membran disebabkan akibat terganggunya homeostasis ion natrium dan kalium yang disebabkan karena aktivitas enzim ATP-ase yang terganggu. Jika permeabilitas membran sperma terganggu maka akan menyebabkan terganggunya transport nutrient. Akibatnya metabolisme sel dalam menghasilkan energi juga terganggu. Jika energi yang diperlukan untuk pergerakan spermatozoa tidak terpenuhi, maka akan terjadi penurunan motilitas spermatozoa (Ashfanani *et al.*, 2010).

Mimba atau *neem* (*Azadirachta indica A. Juss*) merupakan jenis tanaman tropis yang telah lama dimanfaatkan sebagai obat secara tradisional. Biji *Azadirachta indica A. Juss* (Neem) telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk anti-diabetes, spermisida, anti bakteri, dan penyembuhan luka (Roop *et al.*, 2005), selain itu senyawa pada tanaman mimba berpotensi sebagai anti-fertilitas, baik pada hewan jantan maupun betina (Auta dan Hassan.,2016). Efek ekstrak beberapa bagian dari tanaman mimba juga diketahui dapat mempengaruhi fungsi reproduksi pada hewan jantan (Assif, 2013). Penelitian lisanti (2016) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mimba dan biji mimba berpengaruh terhadap penurunan kualitas spermatozoa dan kerusakan testis yang signifikan. Kandungan senyawa dalam biji mimba sebagai antifertilitas hampir sama dengan pegagan maupun lerak. Namun pegagan tidak mengandung saponin. Saponin telah lama diketahui dapat berfungsi sebagai spermisida alami dan kandungan saponin tertinggi terdapat pada buah lerak.

Spermisida dikatakan berhasil yaitu selain dapat mencegah fertilisasi juga harus memenuhi syarat aman, tidak toksik, dan tidak menimbulkan iritasi jika digunakan dalam jangka waktu yang lama. Berdasarkan penelusuran pustaka masih sedikit informasi tentang ekstrak campuran lerak, pegagan dan biji mimba tentang pengaruhnya terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa marmut. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian efektivitas ekstrak daging buah

lerak (*Sapindus rarak*), pegagan (*Centella asiatica*), dan biji mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) serta campuran ketiga ekstrak terhadap kualitas sperma marmut secara in vitro yang dilihat dari motilitas dan viabilitas spermatozoa.

METODE

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis Rancangan Acak Lengkap (RAL). Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah marmut jantan dewasa kelamin yang berumur 3 bulan, diperoleh dari peternakan marmut di daerah Jambangan Surabaya. Sampel yang digunakan adalah 5 ekor marmut, terdiri dari 5 perlakuan dengan waktu pengamatan 1 menit, 10 menit, dan 30 menit dan setiap waktu pengamatan di ulang sebanyak 5 kali ulangan di ulang sebanyak 5 kali. Simplisia buah lerak, pegagan dan biji mimba di beli dari toko simplisia.

Pembuatan Ekstrak

Daging buah lerak, pegagan, dan biji mimba yang kering dihaluskan dengan cara di blender. Setelah semua bahan telah di blender dan halus, kemudian serbuk simplisia dibungkus dengan kain dan dimaserasi. Serbuk daging buah lerak ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimaserasi menggunakan pelarut methanol 80 % sebanyak 1000 ml dan di aduk hingga homogen, lalu didiamkan selama 3 hari dan sering diaduk. Pembuatan ekstrak pegagan dan biji mimba yaitu dengan menimbang ekstrak pegagan dan biji mimba sebanyak 100 gram kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 80 % sebanyak 1000 ml dan di aduk hingga homogen, lalu didiamkan selama 3 hari dan sering diaduk. Setelah 3 hari masing-masing air ekstrak dipisahkan dari ekstraknya dan selanjutnya didestilasi dengan suhu 70°C, selanjutnya hasil destilasi di kering anginkan.

Persiapan Hewan Coba

Sebelum menyiapkan hewan coba, tempat pemeliharaan hewan coba terlebih dahulu disiapkan seperti kandang berbentuk segi empat, beralaskan sekam dilengkapi dengan penutup dari kawat kasa dan botol minum yang berisi air bersih, tempat makan marmut, pakan marmut, kemudian marmut diaklimatisasi pada suhu ruangan. Periode ini dilakukan selama 7 hari dengan tujuan agar marmut bisa beradaptasi dengan kondisi lingkungan.

Pengambilan Semen

Marmut jantan dibius menggunakan kloroform, kemudian dibedah dan diambil kedua testisnya. Selanjutnya kauda epididimis dan dibagian vas deferens dipelurut dengan hati-hati dan ditampung di gelas arloji yang berisi larutan *washing sperm* kemudian dimasukkan kedalam mikrotube.

Pembagian Kelompok Perlakuan

Perlakuan dalam penelitian ini sebanyak 5 perlakuan yaitu ; (1) perlakuan kontrol tanpa diberi ekstrak apapun, (2) Suspensi spermatozoa 200 μ l + 50 μ l ekstrak daging buah lerak 0,9 %, (3) Suspensi spermatozoa 200 μ l + 50 μ l ekstrak pegagan 0,9 %, (4) Suspensi spermatozoa 200 μ l + 50 μ l ekstrak biji mimba 0,9 %, dan (5) Suspensi spermatozoa 200 μ l + 50 μ l ekstrak campuran ketiga ekstrak 0,9 % (0,3 % ekstrak daging buah lerak + 0,3 % ekstrak pegagan + 0,3% ekstrak biji mimba). Masing masing perlakuan di inkubasi dalam mikrotube 1,5 ml dan diamati dengan rentang waktu 1, 10, dan 30 menit.

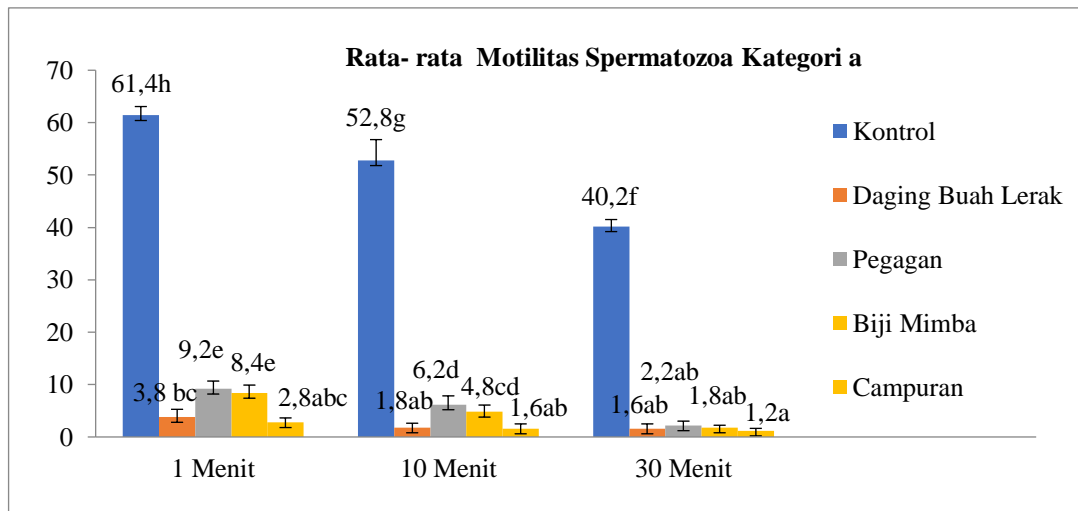
Perlakuan Penelitian

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan masing- masing perlakuan ke atas objek glass dan kemudian di tutup dengan cover gelas dan diamati dibawah mikroskop dengan dengan perbesaran 400 kali dengan perhitungan 100 spermatozoa. Motilitas spermatozoa dihitung dengan kriteria penilaian (A) bergerak cepat lurus (B) bergerak lambat (C) bergerak ditempat (D) tidak bergerak. Presentase jumlah spermatozoa hidup diketahui dengan cara menghitung jumlah spermatozoa hidup dari 100 spermatozoa. Spermatozoa hidup yaitu yang tidak terwarnai oleh Eosin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji *Anova* didapat ada pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) dari ekstrak daging buah lerak pegagan, biji mimba dan campuran ketiga ekstrak terhadap motilitas spermatozoa marmut kategori a.

Data tersebut selanjutnya di uji lanjut menggunakan uji LSD untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan yang disajikan dalam grafik 1.



Grafik 1: Pengaruh Pemberian Ekstrak Daging Buah Lerak (*Sapindus rarak*), Pegagan (*Centella asiatica*), Biji Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) dan Campuran ketiga ekstrak terhadap Motilitas (%) Spermatozoa Marmut (*Cavia porcellus*) Kategori a

Berdasarkan grafik 1, diketahui bahwa pemberian ekstrak daging buah lerak, pegagan, biji mimba, dan ekstrak campuran berpengaruh terhadap penurunan motilitas spermatozoa kategori a. Ekstrak campuran daging buah lerak, pegagan, dan biji mimba pada berbagai waktu pengamatan menunjukkan penurunan motilitas spermatozoa kategori a tertinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daging buah lerak (*Sapindus rarak*), ekstrak pegagan (*Centalla asiatica*), ekstrak biji mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) dan campuran ketiga ekstrak berpengaruh signifikan terhadap motilitas kategori a
2. Ekstrak campuran daging buah lerak (*Sapindus rarak*), ekstrak pegagan (*Centalla asiatica*), ekstrak biji mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) lebih berpotensi menurunkan motilitas kategori a maupun kategori a+b dan viabilitas spermatozoa marmut (*Cavia porcellus*).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Universitas PGRI Adi Buana Surabaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashfahani, E. D, Wiratmini, N. I, Sukmaningsih A. A. S. A.2010. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus Musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma Zedoaria* (Berg.) Roscoe.). *Jurnal Biologi* Xiv (1) : 20 – 23.
- Aut, T. dan A.T. Hasan, 2016. *Reproductive Toxicity Of Aqueous Wood-Ash Extract Of Azadirachta Indica (Neem) On Male Albinomice. Asian Pacific Journal Of Reproduction* X(X):1- 5.
- Assif, M., 2013. A Review On Spermicidal Activities Of *Azadirachta Indica*. *Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry*. 1(5): 61-80.

- Bappenas. 2018. *Jumlah Penduduk Indonesia Menurut Kelompok Umur dan jenis kelamin*. 2019. <http://databoks.katadata.co.id/datapublish/2019/01/04>. Tanggal akses 23 Desember 2019.
- BKKBN. 2015. *Pertambahan penduduk Indonesia setara dengan jumlah penduduk Singapura*. <http://www.solopos.com/2015/09/29/jumlah-penduduk-laju-pertumbuhanpenduduk-indonesia-mengkhawatirkan>. Tanggal akses 25 November 2019.
- Depkes. 2006. *18 Jenis Tanaman Obat Turunkan Kesuburan Pria*. www.depkes.co.id. Tanggal akses 25 November 2019
- Devi, V dan Urooj, A., 2010. *Nutrient Profile and Antioxidant Components of Costus speciosus Sm. And Costus igneus Nak Indian Journal of Natural Products and Resources*. Volume 1, Nomor 1, Halaman 116-118.
- Dewoto, Hedi R. (2007). *Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka*. Fitofarmaka. Majalah Kedokteran Indonesia. Volume: 57 (7).
- Dubey, R., D. Kushagra, C. Sridhar, dan K. N. Jayaveera, 2011, *Sperm Immobilization Activity of Aqueous, Methanolic and Saponin Extract of Bark of Ziziphus Mauritania, Der Pharmacia Sinica*, 2: 11-16
- Handayani, N. Gofur, A. Maslikah S.I. 2018. *Potensi Daun Pulutan Sebagai Bahan Antifertilitas Manusia*. Jurusan Biologi, FMIPA, UM, Malang.
- Hardijanto, S. Susilowati, T. Hernawati, T. Sardjito, dan T.W. Suprayogi. 2008. *Diktat Ilmu Inseminasi Buatan*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Herawati, H. E., Hayati. A., Darmanto. W. 2012. *Efektivitas Fraksi N-Butanol Buah Lerak (Sapindus Rarak Dc) Terhadap Kualitas Spermatozoa Manusia In Vitro*, Tesis, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Lisanti, E. 2016. *Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus Musculus Albinus) Jantan Pasca Pemberian Ekstrak Air Biji Dan Ekstrak Air Daun Mimba (Azadirachta Indica A. Juss)*. Bogor. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Nurliani, A., dan Santosoo, H. B., 2010. *Efek Spermatisida Ekstrak Kulit Kayu Durian (Durio Zibethinus Murr) Terhadap Motilitas Dan Kecepatan Gerak Spermatozoa Manusia Secara In Vitro*. *Sains dan Terapan Kimia*, Vol.4, No. 1 (Januari 2010), 72 – 78.
- Roop Jk, Dhaliwal Pk, Guraya Ss. 2005. *Extracts Of Azadirachta Indica And Melia Azedarach Seeds Inhibit Folliculogenesis In Albino Rats*. *Braz J Med Biol Res* ; 38(6):943-7.
- Shah, H. C., P. Tatke, dan K. K. Singh, 2008, *'Spermicidal Agent', Women's*. University, Mumbai, India, 4: 200-210.
- Sihombing, W. Akmal, M. Wahyuni, S. Nasution, I. Rinidar, dan Hamdans. 2015. *Efek Ekstrak Daun Pegagan (Centella Asiatica (L.) Urban) Terhadap Perkembangan Sel Spermatid Tikus (Rattus Norvegicus)*. *Jurnal Medika Veterinaria* Issn : 0853-1943.
- Susilawati, T., 2000, *Teknologi Preservsi dan Kriopreservasi Spermatozoa dan Ova*, Tesis, Program Pasca Sarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Susie, A., Sukarjati., Diaz, P, R., Masrurroh. *Ekstrak Daun dan Petiole Centella Asiatica Adalah Potensi untuk Antifertilitas Dan Materi Antimikrobial*. *Fol Med Indones*, Vol. 55 No. 3 September 2019: 188-197
- Waqiatul, H., Sukarjati. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya L.) Dan Ekstrak Daun Mimba (Azadirachta Indica A. Juss) Dan Campuran Ekstrak Biji Pepaya Dan Ekstrak Daun Mimba Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus Musculus)*. *WAHANA* Volume 67, Nomer 2, 1 Desember 2016.