

## JUMLAH SEL SPERMIOGENESIS TIKUS PUTIH YANG DIBERI TANIN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica*) SEBAGAI SUMBER BELAJAR

Rr. Eko Susetyarini

Jurusan Biologi FKIP, Universitas Muhammadiyah Malang

Jl. Raya Tlogomas 246, Malang 65144

E-mail : niniek08@gmail.com

### ABSTRAK

Tanaman obat sebagai antifertilitas belum banyak digunakan, maka perlu alternatif obat antifertilitas terutama pada pria, yaitu beluntas (*Pluchea indica*). Beluntas dapat digunakan sebagai obat antifertilitas dalam taraf uji pre-klinik (Susetyarini, 2011). Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan tentang tanin yang dapat menurunkan potensi fertilisasi spermatozoa tikus (Susetyarini, 2010). Pengkajian tannin daun beluntas dalam mempengaruhi spermatogenesis belum pernah dilakukan, maka perlu dikaji tahapan spermatogenesis terutama spermiogenesis. Spermiogenesis merupakan proses pembentukan spermatid menjadi spermatozoa. Spermatozoa berperan dalam proses fertilisasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tannin daun beluntas terhadap jumlah sel spermiogenesis tikus putih jantan dengan berbagai waktu pengamatan. Jenis penelitian yang digunakan eksperimen dengan perlakuan kelompok kontrol (tanpa pemberian tannin), kelompok perlakuan pemberian tannin sebanyak 0,8 ml dengan ke tikus putih jantan dewasa yang diulang 3 kali. Waktu pengamatan 49+3 hari, 49+16 hari, 49+26 hari, 49+36 hari dan 49+49 hari. Tikus putih setiap waktu pengamatan dimatikan dan diambil organ testis serta dibuat preparat histology dengan metode Humason Data dianalisis dengan menggunakan anava dan uji lanjut Duncan. Hasil analisis data menunjukkan bahwa  $p < 0,05$  berarti ada pengaruh pemberian tannin beluntas dengan berbagai waktu pengamatan terhadap jumlah spermatid dan spermatozoa tikus putih jantan. Jumlah spermatid dan spermatozoa terbanyak pada saat waktu pengamatan 49+3 hari dan jumlah spermatid dan spermatozoa terendah pada saat waktu pengamatan 49+49 hari. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber belajar pada matakuliah Embriologi dan Reproduksi Hewan.

**Kata Kunci :** spermiogenesis, tanin daun beluntas, sumber belajar

### ABSTRACT

Antifertilitas medicinal plants as yet widely used, it is necessary antifertilitas alternative medicine, especially in men, namely beluntas (*Pluchea indica*). Beluntas antifertilitas can be used as drugs in early stages of pre-clinical trials (Susetyarini, 2011). This study is a continuation of the tannins that can lower sperm fertilization potential of rat (Susetyarini, 2010). Assessment beluntas leaf tannin in affecting spermatogenesis has not been done, it is necessary to study the stages of spermatogenesis, especially spermiogenesis. Spermiogenesis is the process of formation of spermatids into spermatozoa. Spermatozoa role in the fertilization process. This study aimed to determine the effect of leaf tannin cell count spermiogenesis beluntas against white male rats with various observation time. The research used the experimental treatment control group (without giving tannin), giving tannin treatment groups with as many as 0.8 ml to a white male adult rats were repeated 3 times. Observation time 49 +3 days, 49 days +16, 49 +26 days, 49 days and 49 +49 +36 days. White rats each observation time and taken off organ and testicular histology preparations made by the method of Humason Data were analyzed using ANOVA and Duncan's test further. Results of data analysis showed that  $p < 0.05$  means that there is the effect of tannin beluntas with various time observation of spermatids and spermatozoa number of white male rats. Highest number of spermatids and spermatozoa during the observation time 49 +3 days and the lowest number of spermatids and spermatozoa at +49 49 day observation period. The results could be used as a source of learning on Animal Reproduction and Embryology course.

**Key Word :** spermiogenesis, beluntas leaf tannin, learning resources

### PENDAHULUAN

Spermatozoa merupakan hasil dari proses spermatogenesis yang terjadi di dalam tubulus seminiferus pada testis. Proses spermatogenesis dipengaruhi oleh hormon testosteron. Kadar testosteron merupakan parameter antifertilitas (Zhang et al., dalam Susetyarini, 2011). Kadar testosteron tinggi atau rendah (di bawah ambang normal) akan berakibat negatif feed back pada hipotalamus dan mengakibatkan proses spermatogenesis terganggu, jika kadar testosteron normal akan menggertak testis untuk melakukan proses spermatogenesis (Walker and Cheng, 2005; Nurliani, dkk, 2005). Fertilisasi dapat terjadi, jika spermatozoa memiliki kemampuan menembus



(penetrasi) lapisan-lapisan ovum, kemudian dilanjutkan dengan fusi dan singami dari kedua inti spermatozoa dan ovum sehingga menghasilkan zigot. Spermatozoa dihasilkan dari proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus testis.

Spermatogenesis adalah proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium, melalui perkembangan yang kompleks dan teratur. Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus testis, melalui beberapa proses, yaitu proliferasi, diferensiasi dan transformasi. Pada tubulus seminiferus terdapat beberapa kelompok sel yang mempunyai sel germinal yang menyusun beberapa lapisan, setiap lapisan menunjukkan perbedaan generasi. Bagian lamina basalis sampai lumen tubulus seminiferus akan terlihat lapisan spermatogonia, spermatosit, spermatid dan spermatozoa yang dekat dengan lumen (Widotama, 2008). Menurut Junquiera, dkk dalam Istriyati dan Susilowati (2008) spermatogenesis merupakan serangkaian proses yang meliputi proliferasi, diferensiasi dan pematangan sel-sel spermatogenik, jika terjadi hambatan pada satu tahap perkembangan akan mempengaruhi perkembangan selanjutnya. Spermatogenesis dapat dibedakan dua tahap, yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis adalah proses pembentukan spermatogonia menjadi spermatid. Spermiogenesis adalah proses pembentukan spermatid menjadi spermatozoa.

Jumlah sel spermatogenik adalah jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa yang terletak pada tubulus seminiferus yang menandakan adanya proses spermatogenesis yang terjadi di dalam testis. Jumlah sel spermiogenesis adalah jumlah sel spermatid dan spermatozoa. Waktu yang diperlukan untuk pembentukan spermatogonia 3 hari, spermatosit primer selama 16 hari, spermatosit II 26 hari, spermatid 36 hari dan spermatozoa 49 hari (Rugh, dalam Susetyarini 2010). Spermatozoa yang terbentuk di dalam testis disalurkan ke saluran epididimis untuk mengalami proses pematangan.

Tanaman obat telah memberikan sumbangan terhadap dunia kesehatan baik secara individu maupun kolektif. Tanaman obat mengandung bahan aktif penting terutama dari senyawa metabolit sekunder dengan struktur yang unik dan bervariasi. Senyawa bahan alam dalam tanaman telah menyumbang sekitar 40% dari bahan obat. Beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat bioaktif di antaranya alkaloid, tanin, flavonoid (Edioga, 2005).

Beluntas mengandung bermacam senyawa aktif, pada daun terkandung senyawa aktif, yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, minyak atsiri. Beluntas merupakan salah satu tanaman sebagai obat antifertilitas (Susetyarini, 2011).

Tannin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis yang berwarna coklat kuning yang dapat larut dalam air, terutama air panas, membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya. Makin murni tannin, maka kurang kelarutannya dalam air dan makin mudah memperoleh bentuk kristal. Tannin juga larut dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar, seperti benzena dan kloroform. Interaksi tannin dengan protein mempunyai sifat yang khas dan bergantung pada struktur tannin. Beberapa tannin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti 'reverse' transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson dalam Susetyarini, 2010). Penggunaan senyawa aktif yang ada pada daun pare dapat digunakan sebagai antifertilitas pada hewan coba, Tanin ternyata menghambat sintesis protein. Tanin pada tanaman *Curcuma domestica* dapat menggumpalkan spermatozoa, alkaloid Cucurbitasin akan menekan sekresi hormon reproduksi, yaitu hormon testosteron sehingga proses spermatogenesis terganggu (Susetyarini, 2011).

Permasalahan di atas adalah permasalahan pada reproduksi khususnya pada hewan model, yaitu tikus putih jantan (*Ratus norwegicus*). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan mekanisme tanin daun beluntas dalam menghambat jumlah sel spermiogenesis dan waktu pemberian tanin daun beluntas yang efektif dalam menurunkan jumlah sel spermiogenesis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar obat kontrasepsi tradisional dan dapat diaplikasikan sebagai sumber belajar mata kuliah Embriologi dan Reproduksi Hewan.



## METODE PENELITIAN

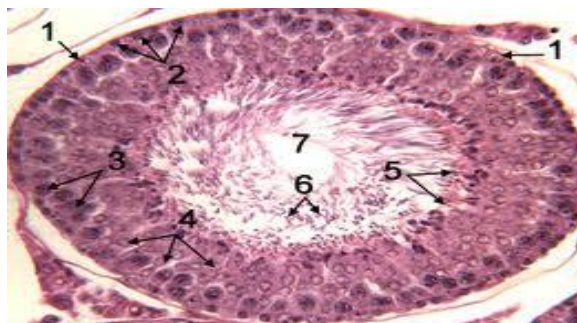
Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan rancangan percobaan RAK. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Oktober 2012. Jenis senyawa aktif daun beluntas berupa fraksi tannin cair. Dosis yang digunakan 0,8 ml dan kontrol (pemberian aquades).

Populasi yang digunakan ialah tikus putih jantan (*Ratus norwegicus*) umur 2-3 bulan strain Wistar dengan bobot badan rata-rata 150-175 g. Sampel yang diperlukan sebanyak 18 ekor tikus putih jantan untuk melihat jumlah spermatogonia. Ada 5 waktu pengamatan dengan pemberian tannin 0,8 ml sesuai waktu pengamatan, yaitu 49+3 hari; 49+16 hari; 49+26 hari; 49+ 36 hari dan 49+49 hari yang diulang 3 kali. Pengambilan sampel dilakukan secara random.

Tempat penelitian ialah di laboratorium Biomedik FK UMM. Kandang tikus berukuran panjang 45 cm, lebar 35 cm, dan tinggi 18 cm, yang berisi seperangkat tempat makan dan minum. Alat yang digunakan ialah spuit disposable, seperangkat alat bedah, tabung plastik, mikroskop cahaya binocular (Olympus CH21) Japan, kamera digital Olympus.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi tannin daun beluntas. Variabel terikat adalah jumlah sel spermiogenesis (jumlah spermatid dan spermatozoa). Variabel yang dikendalikan oleh peneliti adalah suhu, kandang, pakan, minum tikus putih, dan pencahayaan 12 jam pada waktu malam hari.

Sebelum diberi perlakuan, hewan coba diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium. Perlakuan yang diberikan berupa tanin daun beluntas 0,8 ml.pada tikus putih jantan sedangkan kelompok kontrol diberi aquades secara oral setiap sehari. Selama percobaan, pakan dan air minum PDAM diberikan secara ad libitum. Pakan yang diberikan adalah berupa pelet pakan (Br2). Setiap tahapan waktu pengamatan tikus putih jantan dimatikan, dibedah dan organ testis diambil untuk dibuat preparat histology. Pembuatan preparat histology testis dengan menggunakan metode Humason. Preparat histology diamati di mikroskop dengan pembesaran 400 kali, kemudian dihitung jumlah spermatogonia. Spermatid terletak pada no 5 dan spermatozoa terletak pada no 6 terlihat pada gambar 1.



Gambar 1. Spermatogenesis Tikus (Espinosa et al. dalam Susetyarini, 2011)

Data jumlah spermatid dan spermatozoa dianalisis dengan menggunakan anava dan uji lanjut Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dari fraksi tanin daun beluntas disajikan pada Tabel 1. Data dianalisis homogenitas dan normalitas menunjukkan data penelitian yang ditemukan homogen dan normal, kemudian dilanjutkan dengan analisis Anova. Hasil analisis ragam satu bertujuan untuk membuktikan pengaruh tanin daun beluntas terhadap jumlah spermatid dan spermatozoa tikus putih jantan. Hasil ringkasan hasil analisis ragam disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1 Rerata dan Sd Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Setelah Diberi Tanin Daun Beluntas.

Perlakuan	Spermatid	Spermatozoa
Kontrol	226,24±10,08 <sup>f</sup>	429,67±27,47 <sup>f</sup>
49+3 hari	152,01±2,58 <sup>e</sup>	272,36±52,12 <sup>e</sup>
49+16 hari	113,64±2,94 <sup>d</sup>	154,92±7,27 <sup>d</sup>
49+26 hari	102,31±1,08 <sup>c</sup>	152,68±1,80 <sup>c</sup>
49+36 hari	90,28±1,45 <sup>b</sup>	113,88±3,24 <sup>b</sup>
49+49 hari	80,13±1,08 <sup>a</sup>	100,73±1,62 <sup>a</sup>

Tabel 2 Hasil Ringkasan Analisis Ragam Satu faktor Jumlah Sel Spermiogenesis Tikus Putih Jantan Setelah Diberi Fraksi Tanin Daun Beluntas

	Spermatid	Spermatozoa
F hit;	F hit=	F hit= 80,761
p	439,404 p= 0,000	p= 0,000

Pada Tabel 1 disajikan bahwa jumlah spermatid dan spermatozoa kelompok kontrol mempunyai rata-rata lebih tinggi (spermatid 226,24 sel dan spermatozoa 429,67 sel dari kelompok yang diberi perlakuan fraksi tanin daun beluntas. Temuan untuk kelompok waktu pengamatan 49+49 hari rata-rata jumlah spermatid 80,13 sel dan spermatozoa 100,73 sel lebih rendah dibanding dengan kelompok waktu pengamatan 49+3 hari; 49+16 hari; 49+26 hari dan 49+36 hari.

Hasil analisis menunjukkan bahwa F hitung spermatid 439,404,  $p = 0,000$ ; spermatozoa 80,761;  $p = 0,000$  (Tabel 2). Data tersebut menunjukkan bahwa  $p < 0,05$ , berarti hipotesis nol "Tidak ada pengaruh pemberian fraksi tannin daun beluntas dengan berbagai waktu pengamatan terhadap jumlah spermatid dan spermatozoa tikus putih jantan" ditolak, tetapi hipotesis penelitian tentang "Ada pengaruh pemberian fraksi tannin daun beluntas berbagai waktu pengamatan terhadap jumlah spermatid dan spermatozoa tikus putih jantan" diterima.

Pada Tabel 1 hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pemberian tannin daun beluntas dengan waktu pengamatan 49+49 hari jumlah spermatid dan spermatozoa lebih rendah dibanding waktu pengamatan 49+36 hari. Pemberian tannin daun beluntas dengan waktu pengamatan 49+36 hari jumlah spermatid dan spermatozoa lebih rendah dibanding waktu pengamatan 49+26 hari. Pemberian tannin daun beluntas dengan waktu pengamatan 49+26 hari jumlah spermatid dan spermatozoa lebih rendah dibanding waktu pengamatan 49+16 hari. Pemberian tannin daun beluntas dengan waktu pengamatan 49+16 hari jumlah spermatid dan spermatozoa lebih rendah dibanding dengan waktu pengamatan 49+3 hari.

Senyawa aktif tanin diduga berperan dalam menurunkan jumlah sel spermiogenesis. Temuan tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut sesuai pendapat Herdiningrat (2002), senyawa antifertilitas dari tumbuhan obat bekerja dengan 2 cara, yaitu melalui efek sitotoksik dan melalui efek hormonal yang menghambat laju metabolisme sel spermiogenesis dengan cara mengganggu keseimbangan sistem hormon. Diduga tanin pada daun beluntas bekerja sebagai senyawa antifertilitas melalui efek hormonal. Mekanisme senyawa aktif tersebut sesuai dengan pendapat Robinson, (2003) yang menyatakan bahwa tanin pada kulit kayu durian digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid. Tanin pada daun beluntas mempunyai struktur kimia mirip steroid. Steroid merupakan struktur dasar dari hormon testosteron. Mekanisme kerja senyawa aktif masuk melalui biosintesis steroid terutama testosteron sehingga akan dihasilkan bahan yang strukturnya mirip testosteron (Nurliani, dkk, dalam Susetyarini, 2011).



Akibatnya testosteron mempunyai efek umpan balik negatif pada kelenjar hipofisis anterior, sebagai penguat pada umpan balik hipofisis anterior terhadap hypothalamus. Umpan balik ini secara khusus diduga menghambat sintesis dan sekresi LH dan akan menurunkan sekresi testosteron. Testosteron yang dapat menyebabkan umpan balik seperti ini adalah testosteron yang bebas (Weinbauer, et al., dalam Susetyarini, 2011).

Testosteron yang bebas dapat masuk ke dalam target organ (sel sertoli) secara pasif melalui proses difusi. Testosteron bebas tersebut mengalami perubahan menjadi produk yang lebih aktif yaitu dehidrotestosteron. Perubahan testosteron menjadi dehidrotestosteron dikatalis oleh enzim 5 $\alpha$ -reduktase. Dehidrotestosteron ini akan menyebabkan terlepasnya suatu protein tertentu (Hsp 90) dari reseptor androgen sehingga memungkinkan DHT berikatan dengan reseptor androgen yang terdapat dalam sitoplasma sel sertoli. Kompleks reseptor-Dehidrotestosteron akan masuk ke dalam inti sel dan berinteraksi dengan sekuens spesifik dari DNA sel sertoli. Penempelan ini akan menginduksi sintesis mRNA. Kompleks DHT-reseptor androgen-DNA bersama dengan RNA polimerase dan protein transkripsi basal akan menginisiasi proses sintesis protein yang pada akhirnya akan membentuk androgen dependent protein. Protein yang disintesa di dalam sel sertoli dibutuhkan untuk proses pembelahan/meiosis dari spermatogonia. Spermatogonia terbentuk akan mengalami proses perkembangan menjadi spermatisit, spermatid serta spermatozoa (Weinbauer, et al., dalam Susetyarini, 2012). Spermatogenesis dapat berlangsung baik jika hubungan fungsional-gonadotropin pituitary-gonad berjalan normal.

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber belajar bagi mahasiswa Biologi pada mata kuliah Reproduksi dan Embriologi Hewan. Pada matakuliah ini dibahas mengenai proses pembentukan sel gamet jantan dan betina. Proses pembentukan sel gamet jantan terjadi di dalam testis yang disebut spermatogenesis, spermatogenesis ada 2 tahapan, yaitu spermatisitogenesis dan spermiogenesis. Sumber belajar akan berkesan pada mahasiswa bila memberikan dasar yang lebih ilmiah terhadap pembelajaran dengan cara: (a) perancangan program pembelajaran yang lebih sistematis; dan (b) pengembangan bahan pengajaran yang dilandasi penelitian yang berasal dari Indonesia sehingga membumi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa fraksi tanin daun beluntas terbukti mempengaruhi jumlah sel spermiogenesis tikus putih jantan. Semakin lama pemberian 49+49 hari jumlah sel spermiogenesis (spermatid dan spermatozoa) tikus putih jantan semakin menurun dibandingkan dengan jumlah sel spermiogenesis yang tidak diberi fraksi tanin beluntas.

Rekomendasi, dapat digunakan sebagai sumber belajar pada mahasiswa biologi dengan data yang berasal dari penelitian yang membumi, yaitu tanaman obat yang berasal dari Indonesia, sebagai acuan untuk pengembangan obat antifertilitas tradisional dari uji pre-klinis menuju uji klinis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Edeoga, 2005. Phytochemical Constituents Of Some Nigerian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7). 685-688.
- Istriyati dan F. Susilowati, 2008. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Jarak (*Ricinus communis* L) terhadap Struktur Histologis Testis Tikus Sawah (*Ratus argentiventer robinson & kloss*). *J. Manusia dan Lingkungan*. 15(2): 47-58
- Herdriningrat, S., 2002. Efek Pemberian Infus Buah Manggis Muda (*Garcinia mangostana* Linn) Terhadap Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*). *Majalah Andrologi Indonesia*. 10: 130.
- Nurliani A, Rusmiati, H.B Santoso. 2005. Perkembangan Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L) Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Durian (*Durio zibenthinus* Murr). *Berk. Penel. Hayati*:11 (77-79).
- Robinson, 2003. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung
- Susetyarini, E, 2010. Uji Aktivitas Tanin Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Terhadap Potensi Fertilisasi Spermatozoa Tikus Putih Jantan. Laporan Penelitian. Lemlit UMM.



- Susetyarini, E, 2011. Aktivitas dan Keamanan Senyawa Aktif Daun Beluntas Sebagai Antifertilitas Serta Pemanfaatannya Sebagai Buku Antifertilitas. Disertasi. Pasca UM. Malang
- Susetyarini. E. 2012. Jumlah Spermatogonia Tikus Putih yang Diberi Tanin Daun Beluntas (*pluchea indica*) dengan Berbagai Waktu Pengamatan. Prosiding. UII.Yogyakarta
- Walker, W.H and Cheng, J. 2005. Review: FSH and Testosterone Signaling in Sertoli Cells. Paper. Society for Reproduction and Fertility. 130:15-28
- Widotama, G. 2008. Pengaruh Isolat Herba *Vernonia cinerea* terhadap Spermatogenesis Tikus Putih. *Jurnal Kimia* 2 (2): 117-124

