

## **Pengaruh Infusa Rumput Kebar (*Biophytum petersianum*) terhadap Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*)**

### **The Influence of Kebar Grass Infuse to Mice (*Mus musculus*) Spermatogenesis**

**Paula Nancy Lefaan**

Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta

#### **Abstract**

This study was aim to examine the effect of kebar grass infuse (*Biophytum petersianum*) to increase the activity of spermatogenesis in male mice. This research was conducted at the Laboratory of Botany University Discourse Kristen Duta Yogyakarta, Laboratory of Experimental Animal Care Unit and Unit III LPPT Gadjah Mada University in April 2009 to May 2009 using 25 Swiss strain male mice aged 2.5 months. Which are grouped in 5 groups treated with different concentrations, 0% (control), 1%, 3%, 5%, and 10% for 30 days, 2 times a day at a dose of 0.5 ml each time. Results of TLC method proved that these plants contain three types of chemical compounds that could potentially impact the process of spermatogenesis, ie, saponins, flavonoids and tannins. The analysis showed an increase in activity with increasing concentrations of spermatogenesis up to a concentration of 5% (spermatogonia: 226, primary spermatocytes: 227, secondary spermatocytes: 377, spermatids: 302) with a significant value of 0.432. Yet, at a concentration of 10% actually decreased spermatogenesis activity due to negative feedback. It was concluded that kebar grass infuse proved to increase the activity of spermatogenesis, but at concentrations that are too high can cause a decrease in spermatogenesis activity.

**Key words:** Kebar grass, *Biophytum petersianum*, saponin, flavonoid, spermatogenesis

#### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian infusa rumput kebar (*Biophytum petersianu*) terhadap peningkatan aktivitas spermatogenesis pada mencit jantan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta, Laboratorium Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan dan Unit III LPPT Universitas Gadjah Mada pada bulan April 2009 sampai Mei 2009 menggunakan hewan uji mencit jantan galur Swiss berusia 2,5 bulan sebanyak 25 ekor, yang dikelompokkan dalam 5 kelompok perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 0% (kontrol), 1%, 3%, 5%, dan 10% selama 30 hari, dengan dosis 0,5 ml setiap kali pencekokan sebanyak 2 kali sehari. Hasil analisis dengan menggunakan metode TLC membuktikan bahwa tanaman ini mengandung 3 jenis senyawa kimia yang berpotensi memberikan pengaruh terhadap proses spermatogenesis, yakni saponin, flavonoid dan tannin. Peningkatan aktifitas spermatogenesis terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi hingga pada konsentrasi 5% (spermatogonia: 226, spermatosit primer: 227, spermatosit sekunder: 377, spermatid: 302) dengan nilai signifikan sebesar 0,432. Pada konsentrasi 10% justru terjadi penurunan aktifitas spermatogenesis akibat adanya negatif *feedback*. Kesimpulan; infusa rumput kebar terbukti mampu meningkatkan aktifitas spermatogenesis, namun pada konsentrasi yang terlampau tinggi dapat menyebabkan penurunan aktifitas spermatogenesis.

**Kata kunci :** Rumput Kebar, *Biophytum petersianum*, saponin, flavonoid, spermatogenesis

## Pendahuluan

Keadaan lingkungan yang semakin tidak ideal dan berbagai kebiasaan manusia yang kurang baik memberikan efek yang kurang baik pula pada berbagai sisi kehidupan manusia itu sendiri. Salah satu masalah yang terjadi dewasa ini adalah mengenai sulitnya memperoleh keturunan. Menghadapi masalah seperti ini, diperkirakan 80% rakyat menggunakan berbagai ramuan tradisional seperti jamu-jamuan peningkat daya kerja seksualitas atau sebagai peningkat kesuburan. Obat tradisional tersebut seringkali digunakan hanya berdasarkan pada pengalaman secara turun temurun, namun kebanyakan belum memberikan dasar ilmiah yang jelas (Depkes RI, 1989).

Di Indonesia, ada banyak sekali kekayaan alam yang telah dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat lokal suatu daerah tertentu sebagai obat kesuburan. Penelitian yang dilakukan oleh Ronald (2002), infusa rumput krambilan terbukti dapat meningkatkan kualitas spermatozoa pada mencit. Selain itu masih banyak lagi tanaman lain yang dapat digunakan untuk meningkatkan kesuburan, seperti *Eurycoma Longifolia* (pasak bumi) yang banyak ditemukan di Kalimantan, Sumatera, Malaysia, dan ekstrak akar ginseng jawa yang memiliki kemampuan meningkatkan libido tikus putih (Azis, S., 1996).

Selain kedua tanaman di atas, masyarakat di Manokwari Papua mengenal rumput kebar (*Biophytum petersianum*) yang diyakini secara turun temurun dan telah terbukti pada penelitian sebelumnya mampu meningkatkan kesuburan pada individu betina. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pasaribu (2004), infusa rumput kebar yang

diberikan kepada mencit betina terbukti mampu meningkatkan kadar  $17\text{-}\beta$  estradiol, memperbanyak jumlah folikel serta menambah tebal dari endometrium. Rumput kebar ini, diduga memiliki kandungan saponin, yang tergolong dalam steroid serta senyawa flavonoid dan tanin.

Berbagai penelitian mengenai efek saponin terhadap reproduksi pada hewan telah banyak dilakukan. Ekstrak saponin dari ginseng yang diberikan secara *in vitro*, dapat meningkatkan motilitas sperma (Chen *et al.*, 1998). Selain itu, ekstrak saponin dari *Turnera diffusa* dan *Pfaffia paniculata* dapat meningkatkan performa kopulasi secara seksual dari tikus yang dikondisikan menjadi tidak efektif dalam kemampuan seksualnya (Arletti *et al.*, 1999).

Mengingat pada penelitian terdahulu yang telah dilakukan, rumput kebar terbukti memiliki khasiat sebagai obat penyubur yang diterapkan pada individu betina, maka pada penelitian ini, peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian mengenai efek rumput kebar jika diterapkan sebagai obat peningkat kesuburan pada individu jantan.

Berdasarkan latar belakang diatas maka rumusan masalah yang timbul adalah bagaimana pengaruh yang ditimbulkan oleh pemberian infusa rumput kebar terhadap aktivitas spermatogenesis pada mencit dan pada dosis berapa infusa rumput kebar dapat memberikan efek yang paling baik untuk meningkatkan aktivitas spermatogenesis pada mencit.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian infusa rumput kebar terhadap aktivitas spermatogenesis pada mencit dan mengetahui dosis optimum infusa rumput kebar yang dapat memberikan efek

peningkatan aktivitas spermatogenesis pada mencit.

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan informasi mengenai pengaruh rumput kebar terhadap tingkat kesuburan individu jantan, sehingga nantinya rumput kebar dapat digunakan secara paten sebagai obat penyubur sistem reproduksi, bukan hanya bagi individu betina tetapi juga pada individu jantan.

### Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Botani Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta sebagai tempat pembuatan preparat testis dan penghitungan jumlah sel spermatogonia, sel spermatozoid, dan spermatid. Laboratorium Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan sebagai tempat pemeliharaan hewan uji. Lokasi ketiga adalah Unit III LPPT Universitas Gajah Mada, sebagai tempat pengujian kandungan saponin dalam infusa rumput kebar. Penelitian dilakukan pada bulan April 2009 sampai Mei 2009. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan berusia 2,5 bulan sebanyak 25 ekor, sedangkan rumput kebar yang digunakan sebagai bahan yang akan diuji khasiatnya diperoleh dari daerah Manokwari Papua.

Infusa rumput kebar diperoleh dari rumput kebar yang sudah kering kemudian diblender untuk mendapatkan bahan yang lebih halus. Rumput kebar yang telah dihaluskan tadi, kemudian ditimbang dengan berat masing-masing, yaitu 0,25 gr, 0,75 gr, 1,25 gr, dan 2,5 gr. Sebanyak 25 ml aquades dimasukkan ke dalam gelas beker untuk merebus rumput kebar yang telah dihaluskan tadi. Perebusan berlangsung pada suhu 80<sup>0</sup> C selama 15 menit. Hasil rebusan tadi kemudian disaring dengan

menggunakan kertas saring dan dimasukkan dalam botol yang sudah diberi label sesuai dengan kadarnya masing-masing.

Uji kualitatif terhadap saponin, tanin dan flavonoid dilakukan dengan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Untuk uji kualitatif saponin infusa yang telah dibuat serbuk dengan cara dikeringkan selama 12 jam pada 45°C diambil sebanyak 40 mg kemudian dihidrolisis dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>2N sebanyak 5 ml (Reflux selama 30 menit) setelah itu dinginkan. Setelah dingin, diekstraksi dengan menggunakan CHCl<sub>3</sub> sebanyak 5 ml kemudian divortex dan disentrifuge. Buat fase asam dan fase CHCl<sub>3</sub> setelah itu dievaporasikan dan ditotolkan sebanyak 10 µml dan diekstraksi kemudian disemprot dan dipanaskan 110 °C.

Serbuk infusa diambil sebanyak 50,1 mg untuk uji terhadap tannin dan flavonoid, diekstraksi dengan penambahan etanol 70% sebanyak 2 ml. Setelah itu divortex dan disentrifuge. Ambil sebanyak 20 µml kemudian ditotolkan dan diekstraksi hingga mencapai batas, angkat / angin-anginkan lalu disemprot dengan pereaksi dan amati.

Mencit jantan sebanyak 25 ekor, ditimbang berat badannya lalu dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan pemberian infusa kebar yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

- Kelompok I : tidak diberi infusa rumput kebar (sebagai kontrol)
- Kelompok II : infusa rumput kebar 1% (0,25 gr / 25 ml aquades)
- Kelompok III : infusa rumput kebar 3% (0,75 gr / 25 ml aquades)
- Kelompok IV : infusa rumput kebar 5% (1,25 gr / 25 ml aquades)
- Kelompok V : infusa rumput kebar 10% (2,5 gr / 25 ml aquades)

Pemberian infusa rumput kebar pada masing-masing mencit adalah 0,5 ml setiap kali pencekokan. Infusa diberikan 2 x sehari, selama 30 hari perlakuan.

Sampel testis yang akan dibuat preparat diambil pada akhir masa perlakuan. Mencit dibunuh dengan menarik bagian leher dan ekor secara cepat, kemudian dibedah untuk diambil testisnya. Dibuat preparat untuk melihat jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatosit sekunder dan spermatid. Kemudian dibuat preparat dengan metode parafin yaitu testis yang telah diambil, difiksasi dengan larutan bouin selama 1 malam. Setelah difiksasi, testis dicuci (dehidrasi) dengan menggunakan alkohol mulai dari kadar 30% sampai alkohol absolut. Perendaman pada masing-masing konsentrasi alkohol berlangsung selama 1 jam. Testis yang telah dicuci tadi, lalu dimasukkan ke dalam toluol selama 1 hari (dealkoholisasi). Setelah proses dealkoholisasi selesai, testis dimasukkan ke dalam campuran parafin : toluol dengan perbandingan 1 : 1 dan dibiarkan dalam oven selama 5 jam (infiltrasi). Testis yang telah diberi perlakuan infiltrasi, kemudian ditanam dalam parafin yang telah dituang dalam kotak kertas. Biarkan selama 1 hari. Setelah parafin mengeras, proses pemotongan dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Pemotongan diusahakan seragam dan tegak lurus sehingga dapat menghasilkan potongan preparat dengan jumlah tubulus berbentuk bulat yang cukup banyak. Hasil potongan diletakan pada gelas benda yang terlebih dahulu diolesi albumin meyer dan air secukupnya. Gelas benda yang telah berisi irisan testis tadi diletakan di atas pengering selama 3 -4 jam. Dibiarkan selama sehari, lalu lakukan proses pengecatan. Gelas objek yang telah dikeringkan

direndam dalam xilol selama  $\pm$  30 menit. Tahap selanjutnya adalah pencelupan. Pencelupan dilakukan secara cepat pada alkohol, mulai dari konsentrasi 96% hingga 30%. Gelas objek dibilas dengan aquades, lalu direndam dalam hematoxylin selama beberapa saat. Gelas objek yang telah direndam dalam hematoxylin tadi, direndam lagi dalam aquades, lalu diamati ketebalan cat hemotoxylin dengan menggunakan mikroskop. Jika masih terlalu tebal, maka bilas gelas objek dengan menggunakan alkohol acid. Setelah ketebalan cat dirasa cukup, gelas benda dicelup lagi dalam alkohol, mulai dari konsentrasi 30% hingga 70%, lalu bilas dengan aquades. Teteskan sedikit eosin pada preparat testis tersebut, tunggu beberapa saat. Gelas objek dibilas dengan aquades. Setelah dibilas, celupkan lagi ke dalam alkohol, mulai dari konsentrasi 30% sampai 96%. Ketebalan pewarnaannya diamati. Jika masih cukup tebal, lakukan pembilasan dengan mencelupkan gelas objek pada alkohol 96%. Gelas objek kemudian di keringkan dengan tissue, lalu tutup dengan kanada.

Setelah dibuat preparat, dilakukan proses penghitungan. Pemilihan tubulus seminiferus yang akan dihitung sel spermatogenesisnya, diusahakan yang memiliki bentuk dan ukuran yang hampir sama agar tidak terjadi fluktuasi data pada satu kelompok percobaan.

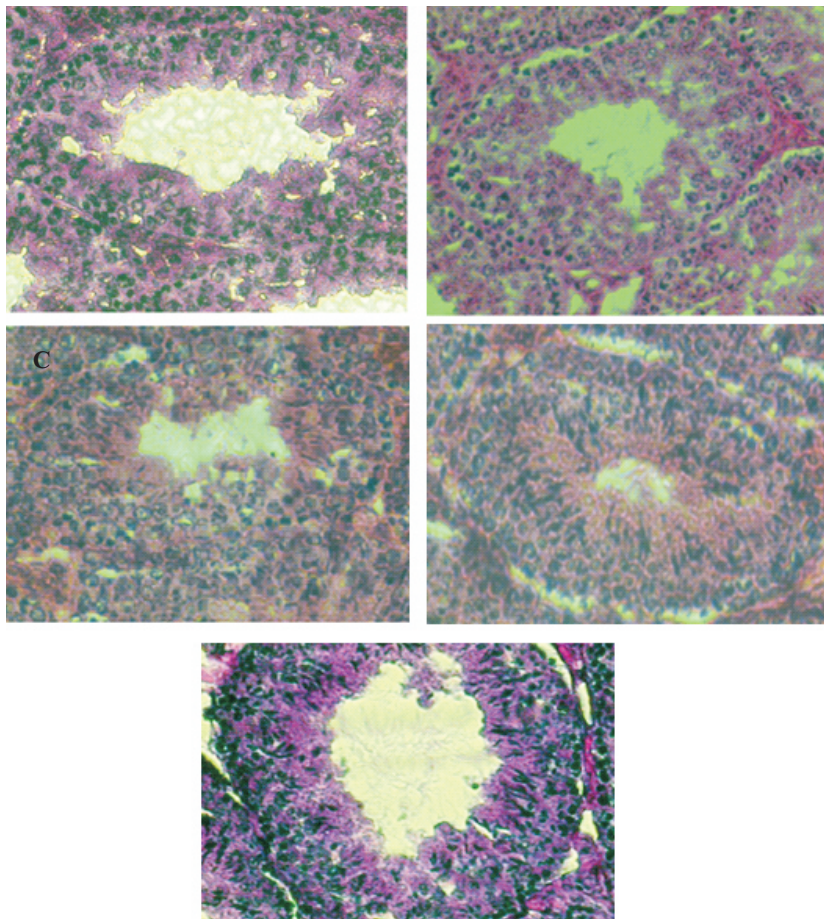
Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Untuk analisis statistik digunakan analisis varian (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan (DMRT), untuk mengetahui dosis yang paling berpengaruh terhadap peningkatan spermatogenesis.

### Hasil dan Pembahasan

Dari hasil pengamatan yang dilakukan, terlihat adanya perbedaan morfologi tubulus seminiferus dari masing-masing kelompok perlakuan dimana lapisan spermatogenik pada tubulus seminiferus pada perlakuan 1%, 3%, dan 5%, terlihat semakin tebal dan padat akibat adanya pertumbuhan dari spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder. Menurut Piraksa dan Bebas (2009), semakin aktif proses spermatogenesis yang terjadi, maka lumen tubulus seminiferus akan tampak lebih padat. Dari

hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa infusa rumput kebar yang diberikan terhadap hewan uji tersebut, memberikan efek peningkatan terhadap spermatogenesisnya.

Seperti yang terlihat pada Gambar 1 di atas, ternyata pemberian infusa rumput kebar mengakibatkan gambaran mikroskopis testes terutama proses spermatogenesis pada perlakuan 1%, 3%, dan 5% menjadi lebih aktif jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan 10%. Hal ini bisa dilihat dari lumen tubulus seminiferus yang semakin padat sejalan dengan peningkatan dosis yang diberikan pada perlakuan 2, 3 dan 4.



Gambar 1. Penampang melintang tubulus seminiferus pada perbesaran 10 x 40. ( Gambar (A) diambil dari hewan kelompok perlakuan kontrol, Gambar (B) diambil dari hewan kelompok perlakuan 1%, Gambar (C) diambil dari hewan kelompok perlakuan 3%, Gambar (D) diambil dari hewan kelompok perlakuan 5%, Gambar (E) diambil dari hewan kelompok perlakuan 10%).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Ronald (2002) dan pengujian di laboratorium dengan metode TLC, dalam infusa rumput kebar terkandung senyawa saponin, flavanoid dan tanin. Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa-senyawa yang diduga memiliki pengaruh dalam proses spermatogenesis yang terjadi, namun kandungan flavanoid dan tanin dalam infusa rumput kebar terdapat dalam jumlah yang sangat kecil (Tabel 1). Saponin merupakan senyawa steroidal (Mannito, P., 1981). Steroidal saponin banyak ditemui dalam tumbuhan monokotilidon. Senyawa sterol (bentuk steroid dalam tumbuhan) yang berstruktur mirip kolesterol dapat diubah menjadi pregnenolon. Kesamaan struktur memungkinkan dikonversinya sterol tertentu menjadi hormon steroid (Fernandez *et al.*, 2002).

Pemberian infusa rumput kebar yang mengandung saponin, flavonoid dan tanin, pada perlakuan 2, 3, dan 4, secara tidak langsung akan memberi tambahan senyawa steroid (dari senyawa saponin yang dikandung oleh infusa rumput kebar) dalam tubuh mencit, dimana nantinya akan berguna dalam proses sintesis testosteron. Testosteron adalah hormon yang bertanggung jawab terhadap keberlangsungan spermatogenesis di testis (Ganong, 2003). Testosteron disintesis dari prekursor

kolesterol yang dikenal dengan nama pregnenolon (Litwak, 1992). Saponin yang terkandung dalam infusa yang diberikan pada mencit, akan masuk ke dalam tubuh mencit melalui saluran digesti. Senyawa saponin tersebut akan dipecah secara kimiawi di dalam lambung yang bersifat asam, sehingga mengalami pemutusan gugus gula dari gugus sterolnya. Pemutusan gugus ini akan memberikan efek peningkatan terhadap kandungan sterol bebas (Robinson, 1991). Mengingat pregnenolon merupakan senyawa prekursor penghasil testosteron yang dibentuk dari kolesterol (Arthur *et al.*, 1976), maka peningkatan sterol dalam tubuh dari infusa rumput kebar yang diberikan tadi, akan meningkatkan juga produksi pregnenolon. Peningkatan pregnenolon ini nantinya akan memberikan efek peningkatan sintesis testosteron. Akibat peningkatan sintesis testosteron, maka proses spermatogenesis yang terjadi pun akan meningkat.

Perbedaan kepadatan yang terlihat jelas dari pengamatan morfologi yang dilakukan, juga tergambar pada hasil penghitungan sel spermatogenik pada masing-masing tubulus seminiferus tersebut. Hasil penghitungan rata-rata jumlah sel spermatogenik yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2.

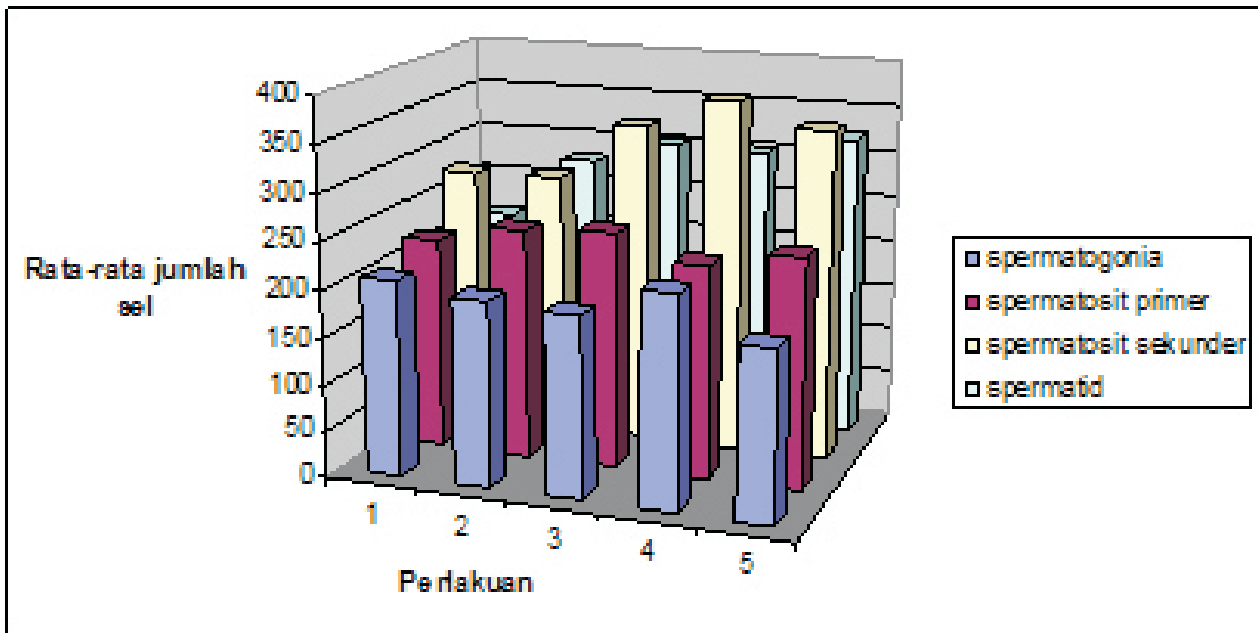
Tabel 1. Data kuantitatif senyawa flavonoid dan tanin per dosis pencekakan.

Dosis Perlakuan Senyawa	0%	1%	3%	5%	10%
Flavonoid	0 µg	44,5 µg	133,5 µg	222,5 µg	445 µg
Tanin	0 µg	195 µg	585 µg	975 µg	1950 µg

Tabel 2. Data rata-rata jumlah sel spermatogenesis yang diamati

perlakuan	Sel yang Diamati			
	Spermatogonia	Spermatisit Primer	Spermatisit sekunder	Spermatid
0% (kontrol)	198 <sup>a</sup>	214 <sup>a</sup>	277 <sup>a</sup>	205 <sup>a</sup>
1%	193 <sup>a</sup>	244 <sup>a</sup>	338 <sup>ab</sup>	271 <sup>b</sup>
3%	193 <sup>a</sup>	252 <sup>a</sup>	344 <sup>ab</sup>	304 <sup>b</sup>
5%	226 <sup>a</sup>	227 <sup>a</sup>	377 <sup>b</sup>	302 <sup>b</sup>
10%	181 <sup>a</sup>	244 <sup>a</sup>	352 <sup>ab</sup>	324 <sup>b</sup>

Keterangan : Huruf sama dibelakang angka : non signifikan  
 Huruf beda dibelakang angka : signifikan



Gambar 2. Perbandingan jumlah sel spermatogonia, spermatisit primer, spermatisit sekunder dan spermatid antar perlakuan.

Keterangan gambar : Perlakuan 1 : perlakuan kontrol  
 Perlakuan 2 : perlakuan 1% infusa rumput kebar  
 Perlakuan 3 : perlakuan 3% infusa rumput kebar  
 Perlakuan 4 : perlakuan 5% infusa rumput kebar  
 Perlakuan 5 : perlakuan 10% infusa rumput kebar

Setelah dilakukan analisis statistik terhadap hasil penghitungan jumlah sel spermatogenesis, didapatkan hasil seperti yang diberikan pada Tabel 2. Data sel spermatogonia masing-masing perlakuan memiliki simbol huruf yang sama, yang berarti bahwa pada hasil uji lanjut yang dilakukan (uji Duncan), data dari masing-masing kelompok perlakuan tergolong dalam kelompok subsets yang sama. Hal ini menjelaskan bahwa perbedaan konsentrasi infusa rumput kebar yang diberikan memberikan efek peningkatan yang sama sehingga tidak terjadi perbedaan jumlah yang begitu nyata.

Hasil uji Duncan untuk kelompok sel spermatosit sekunder, perlakuan 5% infusa rumput kebar memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder, dengan rata-rata jumlah spermatosit sekunder sebanyak 377. Sedangkan keempat perlakuan lainnya memberikan hasil non signifikan. Pada kelompok sel spermatid, semua perlakuan yang diberikan terhadap mencit mampu memberikan peningkatan jumlah sel spermatid yang nyata terhadap perlakuan kontrol. Uji statistik yang dilakukan pada data sel spermatid antar perlakuan, menunjukkan infusa rumput kebar memberikan efek peningkatan jumlah sel spermatid yang sama pada setiap konsentrasi perlakuan. Peningkatan jumlah sel spermatid ini masih berlangsung hingga konsentrasi infusa rumput kebar 10%. Hasil yang diperoleh ini, menunjukkan bahwa infusa rumput kebar mampu mempercepat laju spermatogenesis yang terjadi.

Selain kandungan saponin yang berguna sebagai substrat untuk menghasilkan hormon testosteron, terdapat juga senyawa flavonoid yang dapat meningkatkan jumlah hormon testosteron

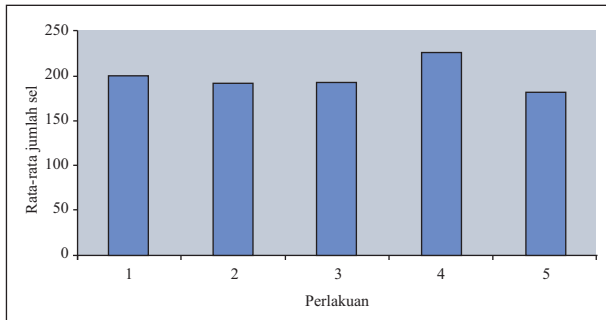
pada individu jantan melalui mekanisme penghambatan penghasilan progesteron. Selain kedua senyawa yang diduga mampu meningkatkan aktivitas spermatogenesis tersebut, ada juga senyawa tanin yang efeknya justru berlawanan dengan kedua senyawa tersebut. Senyawa tanin memiliki fungsi yang sama dengan minyak atsiri, yaitu menggumpalkan semen. Namun efek ini tidak begitu berarti mengingat kandungan tanin dalam rumput kebar yang diberikan terlalu sedikit untuk dapat menimbulkan efek yang berarti.

Gambar 2 di atas memberikan gambaran perbandingan pengaruh infusa rumput kebar yang diberikan pada masing-masing perlakuan secara keseluruhan. Dari Gambar 2 tersebut, terlihat bahwa perlakuan dengan infusa rumput kebar memberikan efek paling baik pada perlakuan dengan konsentrasi 5%. Dikatakan demikian karena pada perlakuan ini semua sel yang diamati dalam penelitian ini, memiliki rata-rata jumlah yang paling banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil tersebut diperkuat dengan adanya uji statistik lanjut yang dilakukan dengan metode Duncan. Hasil uji ini menunjukkan bahwa diantara semua kelompok perlakuan yang ada, kelompok perlakuan 5% adalah yang memberikan efek paling baik pada taraf uji 0,05.

Gambar 3 menunjukkan bahwa jumlah spermatogonia mencit pada masing-masing perlakuan memiliki kisaran rata-rata yang hampir sama. Fluktuasi jumlah rata-rata sel spermatogonia yang tidak terlalu mencolok ini disebabkan karena pada dasarnya jumlah sel stem yang akan terdiferensiasi menjadi sel-sel spermatogenesis pada individu jantan tidak akan mengalami perubahan jumlah.





Gambar 3. Perbandingan jumlah sel spermatogonia antar perlakuan

Pengaruh infusa rumput kebar yang diberikan, lebih kepada kecepatan pembelahan sel spermatogonia untuk menghasilkan sel spermatogonia cadangan untuk proses spermatogenesis selanjutnya. Dari Gambar 2 dapat dilihat juga, bahwa pada perlakuan 4, jumlah sel spermatogonia yang dihasilkan jumlahnya paling banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa proses pembelahan yang terjadi untuk menghasilkan sel spermatogonia cadangan terjadi lebih cepat dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Pada kelompok perlakuan 2, 3 dan 4, infusa rumput kebar yang diberikan akan menambah jumlah senyawa steroid dalam tubuh mencit, mengingat infusa rumput kebar mengandung saponin yang tergolong dalam golongan steroid (Pasaribu, 2004). Sterol dalam bentuk glikosida (saponin) di dalam lambung yang bersifat asam akan mengalami pemutusan bagian gula, sehingga dapat memberikan efek terhadap peningkatan sterol bebas senyawa sterol tersebut merupakan bahan dasar pembentuk pregnenolon (prekursor pembentuk testosteron) (Winarni, 2007). Peningkatan jumlah pregnenolon ini kemudian akan memberikan efek peningkatan sintesis testosteron. Testosteron yang dihasilkan dalam jumlah yang banyak inilah yang

kemudian akan mempercepat proses spermatogenesis.

Pada perlakuan 5, dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata sel spermatogoninya paling sedikit. Hal tersebut terkait dengan mekanisme *negative feedback* dalam mekanisme kerja hormon. Mekanisme pengaturan testosteron dalam melepaskan hormon hipotalamin dan gonadotropin dikendalikan dengan mekanisme penghambatan kembali. Jika konsentrasi testosteron tinggi akan menghambat pelepasan GnRH, FSH dan LH, proses ini dikenal sebagai *feedback inhibition* (Bearden dan Fuquay, 1980). Terjadinya proses penghambatan kembali (*feedback inhibition*) inilah yang menyebabkan terjadinya penghambatan dalam proses produksi hormon-hormon yang berperan dalam proses spermatogenesis (Bearden dan Fuquay, 1980), sehingga terjadi penurunan jumlah sel spermatogonia pada perlakuan 5. Penurunan jumlah tersebut menggambarkan adanya kelebihan asupan senyawa steroid pada mencit. Pada perlakuan 5, konsentrasi infusa rumput kebar yang diberikan adalah yang tertinggi. Asumsinya adalah kandungan saponin yang merupakan senyawa steroid dalam infusa rumput kebar tersebut pun lebih banyak jika dibandingkan dengan infusa rumput kebar pada kelompok perlakuan lainnya. Dengan demikian maka hormon testosteron dapat dihasilkan dalam jumlah yang berlebih pula. Adanya produksi testosteron yang berlebih inilah yang kemudian akan menyebabkan terjadinya proses penghambatan yang terjadi sebagaimana yang telah dijelaskan di atas.

Selain efek dari senyawa saponin tersebut, kandungan flavonoid dalam infusa rumput kebar juga turut berperan dalam peningkatan aktivitas

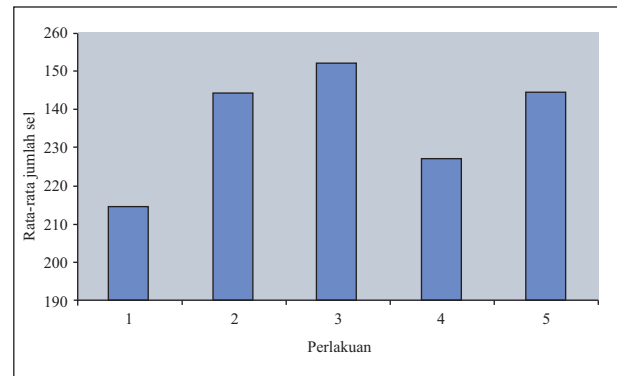
spermatogenesis yang terjadi, sekalipun secara kuantitatif flavonoid yang terkandung berkisar antara 44,5 $\mu$ g – 445 $\mu$ g per sekali pencekokan. Senyawa golongan flavonoid yang dapat menghambat enzim aromatase, yaitu enzim yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormon testosteron. Namun, tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis yaitu tidak melepaskan FSH dan LH, sehingga akan menghambat spermatogenesis.

Hasil analisis statistik dengan menggunakan metode Anova menunjukkan bahwa pemberian infusa rumput kebar memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata jumlah sel spermatogonia. Hal ini berarti, sekalipun jumlah sel stem spermatogonia tidak dapat berubah, tetapi laju pembelahan yang nantinya akan menghasilkan sel spermatogonia cadangan untuk spermatogenesis berikut, turut memberikan pengaruh yang cukup nyata terhadap rata-rata jumlah sel spermatogonia. Peningkatan kecepatan ini tidak lepas dari peran testosteron sebagai salah satu hormon androgen yang berperan aktif dalam proses spermatogenesis sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya.

Sel spermatosit primer merupakan hasil pembelahan mitosis dari sel spermatogonia. Pada tahap akhir miosis, akan dihasilkan sel spermatosit primer dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel spermatogonia (Swenson dan Reece, 1993).

Gambar 4 menunjukkan rata-rata jumlah sel spermatosit primer terendah terdapat pada perlakuan kontrol, sedangkan yang tertinggi terdapat pada perlakuan 3%. Pada perlakuan kontrol jumlah rata-rata selnya cenderung lebih rendah dibandingkan

dengan kelompok perlakuan lainnya, karena pada kelompok perlakuan ini, tidak ada asupan senyawa steroid tambahan dari infusa kebar ke dalam tubuh mencit.



Gambar 4. Perbandingan jumlah sel spermatosit primer antar perlakuan

Selain pada perlakuan 1, rata-rata jumlah sel spermatosit primer yang sedikit juga terjadi pada kelompok perlakuan 4. Namun pada perlakuan 4, sedikitnya rata-rata jumlah sel spermatosit primer yang terjadi dikarenakan sebagian besar sel spermatosit primernya telah mengalami proses pembelahan selanjutnya menjadi sel spermatosit sekunder, sebagaimana yang dapat dilihat pada Gambar 4.

Dari kedua peristiwa tersebut dapat dilihat juga bahwa, jumlah sel yang dihitung berkaitan erat dengan kecepatan pembelahan yang terjadi. Semakin cepat pembelahan maka jumlah sel yang dihasilkan juga semakin banyak, begitu juga sebaliknya. Kecepatan pembelahan ini sangat tergantung dari hormon yang memacunya, dalam hal ini adalah hormon testosteron (Bearden, H Joe., dan John, W. Fuquay., 1980).

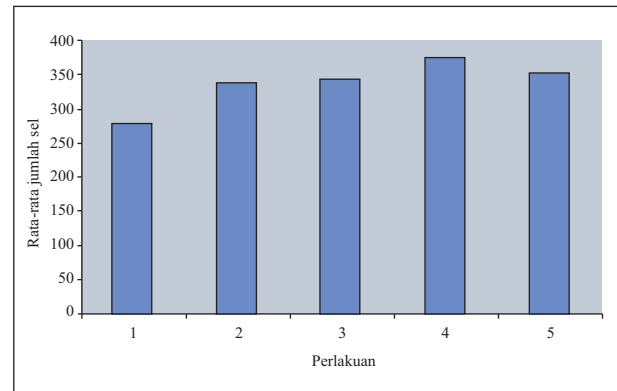
Dengan adanya perlakuan yang diberikan, maka secara tidak langsung kita memberikan asupan saponin ke dalam tubuh mencit. Senyawa tersebut

memiliki struktur mirip kolesterol (Fernandez *et al.*, 2002), sehingga dapat diubah menjadi pregnenolon yang merupakan prekursor dalam proses sintesis testosteron. Jika testosteron disekresikan dalam jumlah yang banyak, maka proses spermatogenesis akan meningkat karena testosteron adalah hormon yang bertanggung jawab terhadap keberlangsungan spermatogenesis di testis.

Hasil analisis statistik dengan metode Anova, menunjukkan bahwa konsentrasi infusa rumput kebar yang diberikan, ternyata dapat memberikan perbedaan yang signifikan terhadap rata-rata jumlah sel spermatosit primer antara perlakuan. Sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya, pengaruh yang signifikan antara konsentrasi infusa dengan rata-rata jumlah sel spermatosit primer diduga disebabkan oleh pengaruh senyawa saponin yang merupakan golongan steroid, terhadap proses produksi tesosteron.

Gambar 5 memberikan gambaran perbandingan rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder dari masing-masing perlakuan. Setelah diberi infusa rumput kebar selama 30 hari, rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder pada mencit yang diberi perlakuan infusa rumput kebar, lebih banyak jika dibandingkan dengan rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder pada mencit yang tidak diberi perlakuan (kontrol). Jumlah sel mengalami peningkatan mulai dari perlakuan 1 hingga perlakuan 4, namun pada perlakuan 5 rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder mengalami penurunan. Sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya, bahwa peningkatan yang terjadi adalah akibat dari pemberian infusa rumput kebar memiliki senyawa saponin yang memiliki struktur sterol, sehingga senyawa ini dapat dikonversi menjadi

pregnenolon yang merupakan prekursor pembentukan hormon testosteron (Winarni, 2007).



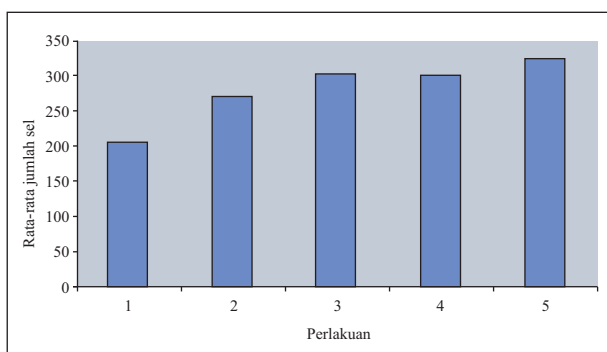
Gambar 5. Perbandingan jumlah sel spermatosit sekunder antar perlakuan.

Dari data di atas, rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder paling banyak terhitung pada mencit kelompok perlakuan ke 4. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan spermatogenesis yang terjadi sehingga jumlah selnya pun menjadi lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penurunan rata-rata jumlah sel yang terjadi pada perlakuan ke 5, menunjukkan adanya proses penghambatan yang terjadi. Hal ini mungkin saja terjadi mengingat mekanisme kerja hormon yang mengenal proses penghambatan kembali. Ketika hormon testosteron dihasilkan dalam jumlah yang berlebihan maka akan terjadi penghambatan proses produksi hormon tersebut sehingga tidak terjadi penumpukan (Bearden dan Fuquay, 1980). Penghambatan ini akan membuat proses spermatogenesis yang terjadi lebih lambat dibandingkan dengan proses spermatogenesis yang terjadi pada mencit yang diberi perlakuan infusa rumput kebar lainnya.

Untuk melihat signifikansi pengaruh konsentrasi perlakuan dengan jumlah sel spermatosit sekunder dilakukan analisis statistik

dengan menggunakan metode Anova. Nilai signifikansi yang menunjukkan bahwa konsentrasi infusa rumput kebar yang diberikan ternyata mampu memberikan efek yang signifikan terhadap rata-rata jumlah sel spermatosit sekunder pada taraf uji 0,05.

Gambar 6 terlihat adanya perbedaan rata-rata jumlah sel spermatid antar perlakuan. Perbedaan rata-rata jumlah tersebut disebabkan adanya efek dari senyawa saponin sebagaimana yang telah dijelaskan pada bagian sebelumnya. Selain hal tersebut, jumlah sel yang dihitung ini juga dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu jumlah rata-rata sel spermatogonia yang merupakan cikal bakal spermatid dan jumlah spermatid yang telah dilepaskan ke saluran tubulus seminiferus.



Gambar 6. Perbandingan jumlah sel spermatid antar perlakuan

Pada perlakuan kontrol terlihat bahwa rata-rata jumlah sel spermatid tidak begitu banyak, bahkan mencapai angka yang paling rendah jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena pada perlakuan kontrol tidak ada masukan senyawa steroid dari infusa rumput kebar kedalam tubuh, sehingga pasokan steroid untuk produksi hormon testosteron juga terbatas.

Pada perlakuan 2, 3, 4 dan 5, terjadi penambahan senyawa saponin, yang merupakan golongan steroid (Mannito, P., 1981) ke dalam tubuh

mencit, dari infusa rumput kebar yang diberikan. Senyawa inilah yang secara tidak langsung menyebabkan peningkatan proses spermatogenesis melalui proses yang telah dijelaskan sebelumnya. Jika dibandingkan dengan kontrol, maka peningkatan yang terjadi sangat jelas terlihat. Peningkatan rata-rata jumlah spermatid juga terjadi pada semua mencit yang diberikan infusa rumput kebar.

### Daftar Pustaka

- Arletti, R., Benelli, A., Cavazzuti, E., Scarpetta, G. and Bertolini, A. (1999) Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Puffia paniculata* extracts on the sexual-behavior of male rats. *Psychopharmacol.* 143: 15-9.
- Arthur, J.R., Blair, H.A.F., Boyd, G.S., Mason, J.I. and Suckling, K.E. (1976) Oxidation of Cholesterol Analogues by Mitochondrial Preparation of Steroid-Hormone-Producing Tissue. *Biochem. J.* 158: 47-51.
- Azis, S. dan Rahayu, T.R. (1996) Dasar Formulasi Jamu Kuat Pria. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DEPKES RI. Jakarta.
- Bearden, H. J. a John and W.F. (1980) Applied Animal Reproduction. Second edition. Reston Publishing Company, Inc. Virginia, USA.
- Chen, J.C., Xu, M.X., Chen, L.D., Chen, Y.N. and Chiu, T.H. (1998) Effect of *Panax notogingseng* saponins on sperm motility and progression *in vitro*. *Phytomed.* 5: 289-292.
- Departemen Kesehatan RI. (1989) *Tanaman Obat Indonesia I*, Dit. Jen. POM. Jakarta.
- Fernandez, C., Suarez, Y., Ferruelo, A.J., Gomez-Coronado, D. and Lasuncion, M.A., (2002) Inhibition of Cholesterol Biosynthesis by  $\beta$ 22- Unsaturated Phytosterol via Competitive Inhibition of Sterol  $\Delta$ 24-reductase in Mammalia Cells. *Biochem. J.* 366: 109-119.

- Ganong, W.F. (2003) Review of medical physiology. McGraw-Hill Professional Publishing
- Litwack G. (1992) Biochemistry of Hormones II: Steroids Hormones. In: *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 3rd.ed. Willey Liss.Inc., New York, USA.
- Manitto, P. (1981) Biosynthesis of Natural Products. Ellis Horwood Publisher.
- Pasaribu, H. (2004) Efek Pemberian infusa rumput kebar (*Biophytum petersianum*) terhadap kadar estradiol 17  $\beta$ , folikel ovarium, dan tebal endometrium pada mencit. Skripsi. Universitas Kristen Duta Wacana. Yogyakarta.
- Piraksa, I.W., dan Bebas, W. (2009). Pengaruh penyuntikan ekstrak hiposis terhadap berat testes, gambaran mikroskopis testes dan kualitas semen ayam hutan merah (*Gallus gallus*). Bul. Vet. Udayana. 1: 13-19.
- Ronald, Benediktus. (2002) Pengaruh infusa rumput kebar terhadap kualitas spermatozoa mencit. Skripsi. Universitas Kristen Duta Wacana. Yogyakarta.
- Robinson, T. (1991) Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi. ITB. Bandung. Hal : 139-181, 191-216.
- Swenson, M.J., dan Reece, W.O., (1993) Dukes' Physiology Of Domestic Animals, Eleventh Edition. Cornel University Press. Ithaca and London, United Kingdom.
- Winarni, D. (2007) Efek ekstrak akar ginseng Jawa dan Korea terhadap Libido mencit jantan pada prakondisi testosteron rendah.. Berkala Penelitian Hayati. Vol. 12. No.2.