

Evaluasi Ekstrak *n-Heksan-Etanol 70% Tribulus cistoides* Dalam Sediaan Suspensi Terhadap Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*)

Evaluation of n-Hexane-70% Ethanol Extract Tribulus cistoides in Suspension Preparation Towards Spermatozoa Mice (Mus musculus L.)

Ayu Lestari^{1*} dan Aprilita Rinayanti¹

¹ Program Studi Farmasi, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

*ayulestaribong@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman *Tribulus cistoides* berpotensi mengatasi gangguan reproduksi pada pria melalui pengaturan hormon. Hormon testosteron yang berperan dalam meningkatkan libido juga sangat berperan dalam proses pembentukan spermatozoa serta berperan dalam pematangan spermatozoa di epididimis. Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi pemberian ekstrak *n-heksana etil alkohol 70% T. cistoides* secara oral terhadap kualitas dan konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) jantan Galur DDY yang telah diinduksi parasetamol. Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelompok uji terdiri dari kelompok kontrol menggunakan suspensi CMC 1% dan kelompok perlakuan dengan pemberian suspensi ekstrak *n-heksana-etil alkohol 70% T. cistoides* dosis 400; 800; 1600; dan 3200 mg/kgBB/hari selama tiga hari berturut-turut. Data yang diperoleh dianalisa dengan uji ANAVA ($\alpha=0,05$) menggunakan SPSS. Pemberian suspensi ekstrak *n-heksana-etil alkohol 70% T. cistoides* berpengaruh dalam meningkatkan konsentrasi spermatozoa sampai di atas tingkat normal, tetapi tidak berpengaruh terhadap berat testis, persentase motilitas, dan persentase abnormalitas. Dalam kisaran dosis 400 mg/kgBB/hari sampai 3200 mg/kgBB/hari, semakin tinggi dosis ekstrak *n-heksana-etil alkohol 70% T. cistoides* yang diberikan secara oral, konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan semakin besar.

Kata kunci: ekstrak, *Tribulus cistoides*, spermatozoa, konsentrasi, hormon

ABSTRACT

Tribulus cistoides plants have the potential to overcome reproductive disorders in men through hormonal regulation. The hormone testosterone which plays a role in increasing libido is also very important in the process of spermatogenesis and plays a role in the maturation of spermatozoa in the epididymis. The aim of this study was to evaluate the administration of *Tribulus cistoides n-hexane-70% ethyl alcohol* extract to the quality and concentration of spermatozoa of male DDY mice (*Mus musculus L.*) that had been induced by paracetamol. The research conducted was experimental using Completely Randomized Design (CRD). The test group consisted of the control group using 1% CMC suspension and the treatment group by giving suspension of *n-hexane-70% ethyl alcohol extract T. cistoides* dose 400; 800; 1600;

and 3200 mg/kg/day, respectively for three consecutive days. The data obtained were analyzed by ANAVA test ($\alpha = 0.05$) using SPSS. The suspension of 70% *T. cistoides* n-hexane-ethyl alcohol extract had an effect on increasing the concentration of spermatozoa to above the normal level, but did not affect testicular weight, motility percentage, and percentage abnormalities. In the dosage range of 400 mg/kg/day to 3200 mg/kg/day, the higher the dose of *T. cistoides* extract of n-hexane-70% ethyl alcohol given orally, the greater the concentration of spermatozoa produced.

Keywords: *extract, Tribulus cistoides, spermatozoa, concentration, hormone*

PENDAHULUAN

Sel sperma atau spermatozoa diproduksi oleh epitel seminiferous di testis. Kelancaran produk testis dikendalikan oleh hormon gonadotropin hipofisis anterior. Selanjutnya pada gilirannya, sintesis dan sekresi hormon gonadotropin dikendalikan oleh hormon steroid yang dihasilkan oleh testis tersebut melalui pengaturan umpan balik (1).

Proses pengendalian umpan balik dalam tubuh merupakan fenomena biologi yang penting, terutama dalam menciptakan sesuatu yang harmonis dalam aktivitas kehidupan organisme. Adanya gangguan yang disebabkan oleh faktor luar maupun dalam akan berpengaruh pada sistem umpan balik, sehingga akan menimbulkan gangguan reproduksi bagi individu yang mengalaminya. Faktor-faktor yang berpengaruh tersebut di antaranya adalah depresi, stress, kelelahan, beberapa penyakit seperti diabetes mellitus, hipertensi, kolesterol tinggi, penyakit

jantung, gangguan hormonal, dan penggunaan obat-obatan yang dikonsumsi terus menerus (2). *Tribulus terrestris* sejak dahulu telah dimanfaatkan untuk mengatasi defisiensi seksual termasuk sebagai ramuan obat kuat. Di Indonesia terdapat satu jenis tribulus yang tergolong satu genera dengan *T. terrestris* yaitu *Tribulus cistoides*.

Achenbach dkk (3) melaporkan bahwa *T. cistoides* mengandung senyawa saponin seperti protodioscin, cictocardin, prototribestin dan tiga senyawa steroid sapogenin. *T. Cistoides* telah diketahui secara umum dapat meningkatkan libido. Telah diketahui bahwa libido sangat dipengaruhi hormon, saraf dan faktor luar. Hormon yang meningkatkan libido tersebut adalah testosteron (4).

Hormon testosteron yang berperan dalam meningkatkan libido juga sangat berperan dalam proses spermatogenesis yaitu dalam pembentukan spermatozoa serta berperan dalam pematangan

spermatozoa di epididimis. Dengan demikian perlu penelitian lebih lanjut manfaat ekstrak *T. cistoides* dalam meningkatkan kualitas spermatozoa dan konsentrasi spermatozoa. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan evaluasi Ekstrak n-heksan etil alkohol 70% *T. cistoides* terhadap kualitas dan konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) jantan Galur DDY yang telah diberikan parasetamol secara oral dalam bentuk suspensi.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam kelompok perlakuan dan lima ulangan. Jumlah perlakuan dan ulangan untuk setiap perlakuan ditentukan berdasarkan rumus Frederer, Yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah ulangan. Kelompok-kelompok tersebut terdiri dari:

- a. Kelompok Kontrol 1 (KK1), yaitu kelompok yang hanya diberi larutan CMC 1% dosis 10 ml/kgBB/hari selama 33 hari berturut-turut.
- b. Kelompok Kontrol 2 (KK2), yaitu kelompok yang hanya diberi parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari

selama 30 hari berturut-turut kemudian dilanjutkan dengan larutan CMC 1% dosis 10 ml/kgBB/hari selama 3 hari.

- c. Kelompok perlakuan 1 (KP1), yaitu kelompok yang diberi parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama 30 hari berturut-turut kemudian dilanjutkan dengan suspensi ekstrak n-heksana-etil alkohol 70% *T. cistoides* dosis 400 mg/kgBB/hari selama 3 hari.
- d. Kelompok perlakuan 2 (KP2), yaitu kelompok yang diberi parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama 30 hari berturut-turut kemudian dilanjutkan dengan suspensi ekstrak n-heksana-etil alcohol 70% *T. cistoides* dosis 800 mg/kgBB/hari selama 3 hari.
- e. Kelompok perlakuan 3 (KP3), yaitu kelompok yang diberi parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama 30 hari berturut-turut kemudian dilanjutkan dengan suspensi ekstrak n-heksana-etil alcohol 70% *T. cistoides* dosis 1600 mg/kgBB/hari selama 3 hari.
- f. Kelompok perlakuan 4 (KP4), yaitu kelompok yang diberi parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama 30 hari berturut-turut kemudian dilanjutkan dengan suspensi ekstrak n-heksana-etil alcohol 70% *T.cistoides*

dosis 3200 mg/kgBB/hari selama 3 hari.

Pembuatan larutan karboksi metil selulosa 1%

1 gram CMC dilarutkan dalam labu Erlemeyer 100 ml dengan cara menaburkan CMC terlebih dahulu kedalam akuades dua puluh kalinya (20 ml) selama 30 menit. Setelah mengembang, larutan ditambahkan sisa akuades (79 ml) kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* tanpa pemanasan selama 10 menit sampai terbentuk suspensi homogen dengan volume 100 ml.

Pembuatan suspensi parasetamol 140 mg/kgBB

Dosis parasetamol yang digunakan adalah 140 mg/kgBB. Suspensi parasetamol dosis 140 mg/kgBB dibuat dengan cara melarutkan 140 mg parasetamol ke dalam 10 ml larutan CMC 1 % untuk dosis hewan.

Pembuatan simplisia *T. cistoides*

Tanaman *T. cistoides* segar dicabut beserta akarnya dan dibersihkan dari kotoran-kotoran yang melekat, dicuci dengan air mengalir dan terakhir dibilas dengan akuades, dikeringkan dengan cara

dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50°C, selama 3 hari atau sampai beratnya konstan. Tanaman yang telah kering dihaluskan dengan blender dan disaring dengan ayakan sehingga diperoleh simplisia dalam bentuk serbuk. Serbuk simplisia tersebut selanjutnya dibuat ekstrak.

Pembuatan ekstrak *T. cistoides*

Serbuk simplisia *T. cistoides* diekstraksi menggunakan larutan n-heksana dilanjutkan dengan etil alkohol 70% dengan cara maserasi. Sebanyak 200 g serbuk simplisia *T. cistoides* dimasukkan dalam Erlemeyer berisi 1000 ml larutan n-heksana dan ditutup rapat dengan alumunium foil dan plastik. Serbuk simplisia direndam selama dua hari pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ sambil sesekali dikocok. Setelah dua hari serbuk simplisia tersebut disaring dengan kertas saring dan akan didapatkan filtrat dan ampas. Filtrat pertama ini disimpan dalam Erlenmeyer dan ditutup rapat dengan alumunium foil sedangkan ampas dari hasil maserasi pertama tadi direndam kembali dengan n-heksan sebanyak 1000 ml dengan cara yang sama hingga diperoleh filtrat kedua dan ampas yang didapat dari hasil maserasi kedua ini kemudian direndam kembali

dengan n-heksana dan disaring dengan cara yang sama hingga diperoleh filtrat ketiga.

Filtrat yang telah dihasilkan dari ketiga maserasi tersebut di atas dicampurkan dan diuapkan pelarutnya pada suhu kamar. Sisa ampas *T. cistoides* dari hasil maserasi n-heksana yang ketiga direndam kembali dengan larutan etil alkohol 70% sebanyak 1000 ml. Lama perendaman, pengocokan dan penyaringan serta jumlah maserasi sama dengan yang dilakukan pada maserasi n-heksan.

Filtrat n-heksana diuapkan pelarutnya pada suhu kamar, sedangkan filtrat etil alkohol 70% dimasukkan ke dalam oven pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$. Perbedaan perlakuan penguapan filtrat disebabkan dengan kemampuan kecepatan penguapan pelarut yang digunakan berbeda. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak kering berwarna hijau tua (ekstrak n-heksana) dan hijau kecoklatan (ekstrak etil alkohol 70%). Kedua ekstrak tersebut kemudian dicampurkan dan digunakan untuk pemberian secara oral terhadap mencit jantan (5).

Pembuatan suspensi ekstrak *T. cistoides*

Suspensi ekstrak *T. cistoides* dosis 3200 mg/kgBB dibuat dengan cara memasukkan 32 g ekstrak *T. cistoides* ke

dalam labu ukur 100 ml. Selanjutnya ke dalam labu ukur ditambahkan larutan CMC 1% sampai tanda batas. Larutan tersebut dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* tanpa pemanasan selama ± 10 menit sampai terbentuk suspensi.

Suspensi ekstrak *T. cistoides* dosis 1600 mg/kgBB dibuat dengan cara memasukkan 50 ml suspensi ekstrak *T. cistoides* dosis 3200 mg/kgBB ke dalam labu ukur 100 ml kemudian ditambahkan larutan CMC 1% ke dalam labu ukur tersebut sampai tanda batas. Larutan yang terbentuk kemudian dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama ± 10 menit. Suspensi ekstrak *T. cistoides* dosis 800 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dibuat dengan cara yang sama yaitu memasukkan 50 ml larutan sebelumnya (dosis 1600mg/kgBB dan 800 mg/kgBB) ke dalam labu ukur 100 ml. Larutan CMC 1% ditambahkan ke dalam labu ukur tersebut sampai mencapai tanda batas, kemudian seluruh suspensi ekstrak tersebut dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama ± 10 menit.

Perlakuan terhadap mencit

Sebelum diberi perlakuan mencit jantan diadaptasikan selama \pm satu minggu. Perlakuan diberikan secara oral menggunakan jarum cekok. Pemberian

suspensi ekstrak secara oral dilakukan dengan menyesuaikan volume suspensi dengan berat badan. Pemberian suspensi ekstrak sesuai dengan berat badan mencit dilakukan untuk menghindari terjadinya penumpukan cairan (edema) pada jaringan perifer mencit. Sebelum perlakuan, mencit ditimbang terlebih dahulu kemudian dicekok dengan zat yang diberikan. KK1 hanya diberikan larutan CMC 1% dosis 10 ml/kgBB/hari selama 33 hari dan KK2 diberikan parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama 30 hari berturut-turut serta dilanjutkan dengan pemberian larutan CMC 1% dosis 10 ml/kgBB/hari selama 3 hari. KP1, KP2, KP3, dan KP4 diberikan parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama 30 hari berturut-turut serta dilanjutkan dengan pemberian suspensi ekstrak n-heksana-etil alkohol 70% *T. cistoides* dengan dosis masing-masing 400; 800; 1600 dan 3200 mg/kgBB/hari selama 3 hari.

Pemberian parasetamol dan suspensi ekstrak *T. cistoides* dilakukan pada waktu yang sama (pk 11.00 – 13.00 WIB). Pemilihan waktu tersebut sesuai dengan penelitian Ratnasooriya & Jayakodi (6) dan berdasarkan penelitian pendahuluan yang menunjukkan waktu tersebut merupakan tenggang waktu optimal bagi

metabolisme suspensi ekstrak tribulus. Setelah itu, keesokan harinya mencit dieuthanasia.

Pengambilan data

Mencit jantan yang telah dieuthanasia dengan cara dislokasi *vertebrae servikalis*, selanjutnya dibedah, testis dikeluarkan kemudian ditimbang. Selain itu, bagian kiri kanan vas deferens mencit diisolasi. Pengisolasian tersebut dilakukan dengan cara memotong bagian kauda epididimis dan bagian ampula vas deferens. Bagian yang telah dipotong diletakan di atas cawan petri yang telah berisi 100 µl larutan NaCl 0,9 %. Dengan menggunakan pinset, salah satu ujung bagian vas deferens dijepit dan dengan pinset lainnya organ tersebut dipijat atau diurut dari atas ke bawah untuk mengeluarkan spermatozoa dan selanjutnya ditampung di atas cawan petri. Proses tersebut dilakukan secara cepat dan diulang-ulang sampai diperkirakan semua spermatozoa telah keluar, selanjutnya diaduk hingga homogen. Data yang akan diamati adalah konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa.

Cara untuk menghitung konsentrasi spermatozoa

Larutan spermatozoa sebanyak 10 µl diambil dengan menggunakan pipet mikro dan diencerkan dalam tabung reaksi. Pengenceran dilakukan dengan menambahkan larutan George sebanyak 90 µl, sehingga diperoleh pengenceran sebanyak 10 kali. Campuran dihomogenkan dengan cara divorteks, kemudian diambil dengan menggunakan pipet mikro sebanyak 10 µl dan ditetaskan ke dalam kamar hitung *improve Neubauer* yang telah diberi kaca penutup. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop perbesaran 40 x 10. Jumlah spermatozoa dihitung pada segi empat utama yang di dalamnya terdiri dari 25 kotak. Untuk menentukan konsentrasi spermatozoa dapat diketahui dengan menghitung jumlah spermatozoa dari 25 kotak dibagi dengan faktor koreksi hemasitometer. Hasil pembagian tersebut merupakan jumlah total spermatozoa dalam juta/ml.

Cara menghitung persentase motilitas spermatozoa

Larutan spermatozoa sebanyak 10 µl diambil dengan menggunakan pipet mikro dan ditetaskan pada kaca objek, kemudian ditutup dengan kaca penutup dan

langsung diamati di bawah mikroskop perbesaran 40 x 10. Persentase spermatozoa motil dapat diketahui dengan cara menghitung jumlah spermatozoa motil dari 100 spermatozoa untuk setiap pengulangan.

Cara menghitung persentase abnormalitas spermatozoa

Larutan spermatozoa sebanyak 10 µl ditetaskan ke atas gelas objek dan dibuat sediaan oles. Sediaan oles yang telah kering kemudian difiksasi dengan methanol selama \pm 5 menit. Selanjutnya sediaan diwarnai dengan larutan Giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian sediaan dikeringkan pada suhu ruang. Penutupan dilakukan dengan cara meneteskan entelan dan ditutup dengan kaca penutup. Perhitungan dilakukan di bawah perbesaran 40 x 10 secara acak dengan metode *score blind*, yaitu sebelum penghitungan semua sample telah ditutup sehingga tidak mempengaruhi perhitungan. Jumlah spermatozoa abnormal dapat diketahui dengan menghitung spermatozoa abnormal dari 100 spermatozoa untuk setiap ulangan.

Pengolahan dan analisis data

Data diolah menggunakan program *Statistical Products and Service Solution* (SPSS) base 10.0 for windows, dengan pendekatan uji nilai probabilitas. Hasil uji disimpulkan dengan cara membandingkan nilai taraf nyata (α) dengan nilai probabilitas (p). Pengujian normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov, sedangkan pengujian homogenitas menggunakan uji Levene. Data yang diperoleh berdistribusi normal dan bervariasi homogen sehingga analisis data dilanjutkan dengan uji *parametric analisis variansi* (ANOVA). Uji parametrik ANOVA digunakan untuk mengetahui ada atau tidak adanya pengaruh faktor perlakuan terhadap kualitas spermatozoa mencit. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara pasangan perlakuan,

dilakukan uji perbandingan berganda LSD (*Least significance difference*) atau BNT (beda nyata terkecil).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa pemberian parasetamol secara oral selama tiga puluh hari berturut-turut dapat menyebabkan penurunan persentase motilitas spermatozoa. Hal tersebut mungkin disebabkan sifat antagonis dari struktur parasetamol yang berupa cincin aromatis fenol dan gugus asil. Struktur tersebut diduga memiliki sifat antagonis terhadap hormon testosteron karena dapat diubah menjadi estradiol dan progesterone (6). Peningkatan kadar estradiol dan progesteron dalam darah, memicu penurunan fungsi testosteron yang dapat menyebabkan penurunan motilitas (4)(6).

Tabel 1

Data rerata persentase motilitas

ulangan	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	80%	70%	70%	60%	90%	60%
2	70%	50%	80%	80%	70%	90%
3	90%	70%	40%	40%	50%	80%
4	60%	70%	60%	90%	70%	80%
5	60%	50%	60%	50%	80%	60%
Σ	360	310	310	320	360	370
AVR	72	62	62	64	72	74
SD	13,0384	10,9544	14,8324	20,7364	14,8324	13,4164

Persentase motilitas yang didapat menunjukkan hasil yang berbeda dengan pernyataan diatas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terjadi penurunan motilitas pada perlakuan yang diberikan parasetamol dan pemberian ekstrak tidak memberikan pengaruh atau meningkatkan persentase motilitas. Hal tersebut mungkin disebabkan motilitas spermatozoa tidak hanya tergantung pada hormon testosteron, tetapi juga pada kandungan karnitin yang berasal dari dalam darah. Di dalam epididimis, spermatozoa mengalami peningkatan kandungan karnitin yang berasal dari dalam darah.

Kandungan maksimal karnitin diperoleh ketika spermatozoa berada dalam kauda epididimis. Fungsi karnitin diduga berhubungan dengan proses pematangan dan motilitas spermatozoa serta berperan dalam metabolisme energi pada spermatozoa (7).

Abnormalitas spermatozoa terdiri dari abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi pada bagian kepala, tengah, dan ekor (8). Abnormalitas primer dapat terjadi akibat gangguan terhadap spermatogenesis di testis, seperti nutrisi, obat, radiasi, dan penyakit (9).

Tabel 2
Data rerata persentase abnormalitas

ULANGAN	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	4%	0%	0%	9,5%	0%	0%
2	8%	3%	7%	3%	0%	3%
3	0%	0%	3%	4%	3%	4%
4	0%	7%	4%	16%	1%	2%
5	4%	4%	5%	5%	0%	7%
Σ	16	14	19	37,5	4	16
AVR	3,2	2,8	3,8	7,5	0,8	3,2
SD	3,3466	2,9495	2,5884	5,3619	1,3038	2,5884

Abnormalitas sekunder, yaitu masih adanya *cytoplasmic droplet*. *Cytoplasmic droplet* akan bergerak dari leher spermatozoa menuju akhir bagian tengah

pada kondisi normal. Proses tersebut disertai dehidrasi dan perubahan ultrastruktural droplet. Abnormalitas sekunder terjadi saat proses pematangan di

epididimis. Proses pematangan spermatozoa di epididimis dipengaruhi oleh hormon testosteron (7).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat peningkatan jumlah spermatozoa abnormal secara bermakna. Hal tersebut mungkin disebabkan proses pematangan spermatozoa tidak hanya dipengaruhi oleh hormon testosteron, tetapi juga oleh kandungan karnitin (7). Walaupun terjadi penurunan fungsi testosteron, tetapi proses pematangan

spermatozoa tetap berjalan dengan adanya karnitin, sehingga tidak terjadi abnormalitas sekunder. Ratnasooriya & Jayakody (6) menyatakan bahwa pemberian asetaminophen dosis 500 dan 1000 mg/kgBB secara oral selama tiga puluh hari tidak menyebabkan terjadinya gangguan pada spermatogenesis tikus jantan. Berdasarkan hal tersebut, dapat ditarik kesimpulan bahwa abnormalitas primer tidak terjadi karena spermatogenesis mencit tidak terganggu.

Tabel 3
Data rerata berat testis

ULANGAN	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	0,1125	0,1451	0,1345	0,1986	0,1884	0,1333
2	0,1472	0,1318	0,1455	0,1470	0,1451	0,1366
3	0,1641	0,1217	0,1503	0,1336	0,1774	0,1736
4	0,1676	0,1329	0,1511	0,1186	0,1734	0,1663
5	0,1745	0,1375	0,1594	0,1306	0,1681	0,1462
Σ	0,7659	0,6690	0,7408	0,7284	0,8524	0,7560
AVR	0,1531	0,1338	0,1481	0,1456	0,1704	0,1512
SD	0,02486	0,0085	0,0091	0,0312	0,0160	0,00179

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara berat testis yang diberi CMC 1%, parasetamol dosis 140 mg/kgBB, ekstrak *T. cistoides* dosis 400; 800; 1600; dan 3200 mg/kgBB. Hal tersebut karena pemberian parasetamol tidak menyebabkan penurunan

berat testis (6). Tidak terganggunya proses pembentukan dan pematangan spermatozoa mungkin juga menjadi sebab tidak terjadinya penurunan berat testis.

Spermatozoa dengan jumlah ≥ 50 juta/ml termasuk dalam kriteria normal (normozoospermia), sedangkan jika kurang

dari jumlah tersebut disebut oligozoospermia. Jika tidak ada konsentrasi spermatozoa dalam semen, disebut azoospermia. Sebaliknya, peningkatan jumlah konsentrasi spermatozoa di atas normal disebut polizoospermia (8). Berdasarkan

pernyataan tersebut, maka hasil penelitian yang didapat menunjukkan bahwa KK2 termasuk dalam kategori oligozoospermia, sedangkan kelima perlakuan lainnya (KK1; KP 1; KP2; KP3; dan KP4) termasuk dalam kategori polizoospermia.

Tabel 4
Data rerata konsentrasi spermatozoa

ULANGAN	KK1	KK2	KP1	KP2	KP3	KP4
1	20.5	6	17	20	28.5	35
2	22.5	7	18	20.5	32.5	46
3	28	10	12	21	35.5	47
4	20	9	17	15.5	41	30
5	28	7.5	22	19	44.5	40
Σ	119	39.5	86	96	182	248
AVR	23.8	7.9	17.2	19.2	36.4	49.6
SD	3.9465	1.5968	3.5637	2.1966	6.4265	7.23

Apabila dilihat pada tabel hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa dari yang terbesar sampai terendah berturut-turut terdapat pada KP4 – KP3 – KK1 – KP2 – KP1 – KK2. Hal tersebut berarti pemberian parasetamol dosis 140 mg/kgBB dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa dan pemberian ekstrak *T. cistoides* dengan dosis 1600 dan 3200 mg/kgBB dapat menaikkan konsentrasi spermatozoa sampai diatas jumlah normal. Pemberian ekstrak *T.*

cistoides dengan dosis 400 dan 800 mg/kgBB juga dapat menaikkan konsentrasi spermatozoa, tetapi belum mencapai jumlah normal bila dibandingkan dengan KK1 yang diberi CMC 1% dan merupakan kelompok mencit yang normal. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Ratnasooriya & Jayakody (6) yang menyatakan bahwa pemberian parasetamol dosis 140 mg/kgBB/hari selama tiga puluh hari dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa tikus jantan.

Hasil statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara KP 4 dan KP 3 dengan KK 1, KK 2, KP 1, dan KP 2; antara KK 2 dengan semua kelompok perlakuan; dan antara KK 1 dengan KP 1. Hal tersebut berarti pemberian ekstrak *T. cistoides* dosis 1600 dan 3200 mg/kgBB lebih berpengaruh dalam menaikkan konsentrasi spermatozoa. Pemberian ekstrak dosis 400 dan 800 mg/kgBB belum menunjukkan pengaruh yang nyata bila dibandingkan dengan kelompok asetaminophen dan CMC 1%. Belum adanya pengaruh mungkin disebabkan dosis tersebut belum mampu untuk menaikkan konsentrasi spermatozoa sampai jumlah yang normal.

Hasil statistik juga menunjukkan bahwa pemberian parasetamol 140 mg/kgBB dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa bila dibandingkan dengan KK1 dan semua kelompok perlakuan. Parasetamol dapat melewati sawar darah di otak dan bereaksi dengan reseptor neurotransmitter otak sehingga mempengaruhi kinerja hipotalamus dan hipofisis. Pengaruh parasetamol tersebut menyebabkan ketidakseimbangan produksi hormon dan neurotransmitter otak. Ketidakseimbangan tersebut terjadi disebabkan parasetamol bersifat inhibitor

kompetitif terhadap neurotransmitter otak, karena dapat bereaksi dengan reseptor neurotransmitter sehingga neurotransmitter otak dihambat. Neurotranmitter otak yang dihambat parasetamol adalah nitritoksida, serotonin, dan norepinephrin (10).

T. cistoides diketahui mengandung senyawa kimia alami yang dapat bersifat sebagai aprodisiak antara lain saponin (protodioscin, prototribestin, dan protogracilin), triterpenoida, alkaloid, flavonoid (tribulosida), mineral (kalium dan kalsium), dan vitamin C (11)(12). Adanya senyawa-senyawa tersebut diduga dapat menghilangkan efek pemberian parasetamol, yaitu dengan cara meningkatkan jumlah hormon testoteron dalam tubuh; membentuk zat antioksidan yang dapat mengatasi reaksi radikal bebas yang terbentuk akibat pemberian parasetamol; kandungan alkaloidnya dapat menghilangkan penghambatan kinerja hipotalamus yang disebabkan oleh parasetamol; serta dengan melancarkan aliran darah yang menuju otak dan organ reproduksi (13).

Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *T. cistoides* tidak berpengaruh terhadap berat testis, persentase motilitas, dan persentase abnormalitas, tetapi berpengaruh terhadap

konsentrasi spermatozoa. Semakin besar dosis yang diberikan maka konsentrasi spermatozoa juga semakin meningkat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai evaluasi ekstrak n-heksana-etil alkohol 70% *Tribulus cistoides* L. terhadap berat testis, persentase motilitas, persentase abnormalitas, dan konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) jantan galur DDY yang telah diberikan sediaan suspensi parasetamol secara oral dan diuji secara statistik ($\alpha = 0,05$) dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian suspensi ekstrak n-heksana-etil alkohol 70% *T. cistoides* dosis 400; 800; 1600; dan 3200 mg/kgBB/hari selama tiga hari berturut-turut berpengaruh dalam meningkatkan konsentrasi spermatozoa, tetapi tidak berpengaruh terhadap berat testis, persentase motilitas, dan persentase abnormalitas.
2. Pemberian suspensi ekstrak n-heksana-etil alkohol 70% *T. cistoides* dosis 1600; dan 3200 mg/kgBB/hari selama tiga hari berturut-turut berpengaruh dalam meningkatkan konsentrasi spermatozoa sampai di atas tingkat normal.

3. Dalam kisaran dosis 400 mg/kgBB/hari sampai 3200 mg/kgBB/hari, semakin tinggi dosis ekstrak n-heksana-etil alkohol 70% *T. cistoides* yang diberikan secara oral, konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan semakin besar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Johnson, M.H. Everitt BJ. Essential reproduction. 5th ed. London: Blackwell Science Ltd; 2000. 285 pages.
2. Goldstein I. Male sexual cicuitary. Sci Am. 2000;283(2):56–61.
3. Achenbach H, Hübner H, Brandt W, Reiter M. Cardioactive steroid saponins and other constituents from the aerial parts of tribulus cistoides. Phytochemistry. 1994;35(6):1527–43.
4. Canale D, Postoia S. Libido and hormones. CNS Spectr. 2000;5(8):21–3.
5. Ansell HC. Pengantar sediaan farmasi. 4th ed. Jakarta: UI-Press; 1989.
6. Ratnasooriya WD, Jayakody JRA. Longterm administration of large dosis of paracetamol impairs the reproductive competence of male

- rats. *Asian J Androl.* 2000;2(4):247-255.
7. Hafez ESE, Prasad MR. Functional aspects of the epididymis. In: *Human semen and fertility regulation in men.* Saint Louis: Mosby Company; 1976. p. 31–43.
 8. Hafez ES. Semen evaluation. In: *Reproduction in farm animals.* 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p. 405–23.
 9. Holstein AF, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Endocrinol.* 2003;1(107):1–16.
 10. Dhasmana KM, Rating W, Lachman B. Therapeutic application of tramadol and other analgesics in the treatment of pain compared to other opioids. *Indian J Pharmac.* 1990;90(7):184–91.
 11. Duhan A, Chauhan BM, Punia D. Nutritional value of some non-conventional plant foods of India. *Plat Foods Hum Nutr.* 1992;42(3):193–200.
 12. Gauthaman K, Adaikan PG, Prasad RNV. Aphrodisiac properties of *Tribulus Terrestris* extract (Protodioscin) in normal and castrated rats. *Life Sci.* 2002;71(12):1385–96.
 13. Mills S, Bone K. Principles and practise of phytotherapy modern herbal medicine. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2000.