

Efek Spermisida Ekstrak Metanol Biji Buah Kalangkala (*Litsea angulata*) terhadap Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*)

The Spermicide Effect from Methanol Extract of Kalangkala Seed (*Litsea angulata*) to Spermatozoa Mice (*Mus musculus*)

Rommy Akmal, Kuswanto, Syarifah Fahrunnisa, Ridha Aulia Rahmi, Nur Ema Putri Bayanil, Anni Nurliani
Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jl. A. Yani Km 35,8 Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70614
e-mail korespondensi: nurliani_anni@yahoo.co.id

Abstrak

Keikutsertaan pria dalam program KB perlu ditingkatkan dengan menyediakan spermisida alami yang bersumber dari bahan alam yang lebih aman. Salah satunya adalah biji buah dari kalangkala yang merupakan tumbuhan endemik Kalimantan Selatan. Efek spermisida dari ekstrak metanol biji buah kalangkala terhadap spermatozoa mencit dikaji dalam penelitian ini secara *in vitro*. Sebanyak 25 ekor mencit jantan galur Balb/c berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g digunakan dalam penelitian ini untuk diambil spermatozoanya dengan mengeluarkan sekret cauda epididimis. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu kontrol dimana suspensi spermatozoa tanpa diberi apapun; Suspensi spermatozoa + NaCMC 0,5%; suspensi spermatozoa + ekstrak biji buah kalangkala 0,1%; suspensi spermatozoa + ekstrak biji buah kalangkala 0,3%; dan suspensi spermatozoa + ekstrak biji buah kalangkala 0.5% dengan 5 ulangan setiap perlakuan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji buah kalangkala menyebabkan penurunan motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa mencit hingga mencapai nilai nol pada konsentrasi 0,5%.

Kata kunci: biji kalangkala, mencit, spermatozoa, spermisida alami

Abstract

Men involvement in family planning needs to be increased by providing natural spermicide from natural source which is safer. One of them is kalangkala seed which is endemic plant in South Kalimantan. The spermicide effect from methanol extract of kalangkala seed to mice spermatozoa was studied in this research by in vitro method. Spermatozoa suspension was taken from epididymis cauda of twenty five male Balb/c mice. This research used a complete randomized design with five treatments i.e control which without any addition; spermatozoa suspension + NaCMC 0.5%; spermatozoa suspension + methanol extract of kalangkala seed 0.1%; spermatozoa suspension + methanol extract of kalangkala seed 0.3%; and spermatozoa suspension + methanol extract of kalangkala seed 0.5% with five repetitions for each treatment. The result of this study showed that methanol extract of kalangkala seed caused decrease of motility and movement velocity mice spermatozoa until achieve zero value in 0.5% concentration.

Key words: kalangkala seed, mice, spermatozoa, natural spermicide

Pendahuluan

Pemerintah Republik Indonesia dalam menanggulangi angka pertumbuhan penduduk yang cepat ini telah melaksanakan program Keluarga Berencana (KB) sebagai program nasional. Salah satu usaha yang telah dilaksanakan adalah penyediaan sarana kontrasepsi. Sarana ini sudah sering diperkenalkan pada masyarakat, tetapi masih menjadikan wanita sebagai sasaran utamanya. Alangkah baiknya jika sasaran itu juga mengutamakan pria, sebagai wujud aktif keikutsertaannya dalam mensukseskan program KB (Purwaningsih & Susmiarsih, 1998).

Alat atau bahan kontrasepsi pria yang telah digunakan saat ini terbatas pada vasektomi, penyuntikan hormon, dan kondom (Prawirohardjo, 1999). Alat atau bahan kontrasepsi tersebut masih belum sepenuhnya dapat diterima oleh masyarakat, dengan alasan yaitu sifat irreversible dari vasektomi dan adanya efek samping yang ditimbulkan baik dari penyuntikan hormon maupun penggunaan spermisida sintetis pada kondom (Moeloek, 1990). Sejauh ini telah dilaporkan bahwa spermisida sintesis yang dikomersialkan dalam bentuk krim dengan kandungan nonil-fenoksi polietoksi etanol dapat menyebabkan iritasi (Sukrasno, 2003) baik pada penis maupun vagina serta dapat menyebabkan gangguan pada sel epitel vagina (WHO/CONRAD, 2002).

Berbeda dengan penggunaan spermisida sintetis yang menggunakan bahan-bahan kimia sehingga menimbulkan efek samping yang merugikan, spermisida alami lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping. Salah satu tumbuhan endemik Kalimantan Selatan yang diduga berpotensi memiliki khasiat sebagai spermisida adalah kalangkala (*Litsea angulata*). Tumbuhan yang berbuah musiman ini terkenal dengan rasa buahnya yang manis. Setelah daging buahnya dimakan biasanya bijinya hanya dibuang saja. Padahal menurut penelitian Mustikasari & Ariyani (2010) biji buah kalangkala mengandung senyawa alkaloid dan tanin dan kedua senyawa tersebut dapat berperan sebagai senyawa antifertilitas, khususnya sebagai spermisida (Asif, 2013).

Efektifitas suatu spermisida dapat dilihat dari kemampuannya dalam menurunkan kualitas spermatozoa. Salah satu parameter kualitas spermatozoa yang penting adalah motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa. Motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa sangat erat hubungannya dengan proses fertilisasi. Jika

spermatozoa berenang atau bergerak sangat lambat maka jumlah total spermatozoa yang membuahi ovum terlalu sedikit. Untuk mendekati ovum, spermatozoa harus berenang dengan cepat dan bergerak seperti spiral yaitu yang disebut sebagai pola kapasitas motilitas (*capacitating motility pattern*) (Anonim, 2003).

Oleh karena itu, dalam penelitian ini ingin diketahui efek spermisida ekstrak biji buah kalangkala terhadap motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa mencit secara in vitro dalam rangka menggali potensi biji buah kalangkala sebagai spermisida alami untuk meningkatkan nilai guna biji buah kalangkala yang selama ini dianggap hanya sebagai limbah dan belum dimanfaatkan sama sekali.

Metode Penelitian

Bahan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) galur Balb/c berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g, biji buah kalangkala (*Litsea angulata*), metanol p.a dan Na-CMC 0,5%.

Cara kerja

1. Pengolahan simplisia biji buah kalangkala

Biji buah kalangkala disortasi basah untuk memisahkan dari kotoran yang menempel saat pengambilan sampel. Sampel dicuci, kemudian dirajang-rajang. Selanjutnya dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung.

2. Pembuatan Ekstrak Metanol Biji buah kalangkala

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Serbuk biji buah kalangkala ditimbang sebanyak 200 gr kering, kemudian dimasukkan ke dalam maserator. Cairan metanol dituangkan secara perlahan ke dalam maserator. Sampel direndam dengan etanol hingga 1 cm di atas permukaan sampel. Ekstraksi dilakukan selama 24 jam, Semua filtrat hasil penyarian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu pemanasan 40°C sampai pelarut tidak menguap lagi. Filtrat diuapkan kembali di atas *waterbath* pada suhu 55°C dan ditimbang hingga beratnya konstan untuk memastikan pelarut sudah habis. Ekstrak

kental yang sudah diperoleh disebut ekstrak metanol biji buah kalangkala.

3. Pembuatan Larutan NaCMC 0.5%

Sebanyak 0,5 g Na-CMC dilarutkan dengan akuades panas 70 mL kemudian ditambahkan akuades dingin sampai 100 mL. Larutan NaCMC digunakan sebagai emulsifier agar ekstrak kental dapat larut dalam aquades.

4. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan pada 5 ulangan.

Pola pengelompokan perlakuan yaitu:

- KTP : kelompok kontrol yaitu suspensi spermatozoa yang tidak ditambahkan apapun.
- P : *placebo*, yaitu suspensi spermatozoa yang ditambahkan NaCMC 0.5%.
- PI : kelompok perlakuan dimana suspensi spermatozoa ditambahkan dengan ekstrak methanol biji buah kalangkala dengan konsentrasi 0.1%.
- PII : merupakan kelompok perlakuan dimana suspensi spermatozoa ditambahkan dengan ekstrak metanol biji buah kalangkala dengan konsentrasi 0.3%.
- PIII : merupakan kelompok perlakuan dimana suspensi spermatozoa ditambahkan dengan ekstrak metanol biji buah kalangkala dengan konsentrasi 0.5%.

5. Pengambilan Sekresi Cauda Epididimis

Mencit dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan selanjutnya dibedah. Kemudian cauda epididimis diambil dan diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi NaCl Fisiologis 0,9%. Cauda epididimis dipisahkan dari testis dengan cara memotong bagian proximal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens, selanjutnya cauda epididimis dimasukkan ke dalam gelas arloji yang berisi 1 mL NaCl fisiologis, kemudian bagian proximal cauda dipotong sedikit dengan gunting lalu cauda ditekan dengan perlahan hingga sekret/cairan epididimis keluar

dan tersuspensi dengan NaCl 0,9%, selanjutnya diaduk hingga homogen. Suspensi spermatozoa kemudian dicampurkan dengan ekstrak metanol biji buah kalangkala dengan perbandingan 1 : 1. Campuran tersebut diaduk hingga homogen kemudian diambil satu tetes untuk diteteskan pada kaca objek bersih. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa.

6. Pengamatan kualitas spermatozoa

- Analisis Motilitas Spermatozoa
Analisis motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan 1 tetes semen pada gelas benda. Tetesan diupayakan sama besarnya untuk setiap pemeriksaan. Kemudian ditutup dengan gelas penutup. Motilitas spermatozoa ditentukan dari 100 spermatozoa dalam satu lapang pandang.

Penilaian motilitas spermatozoa (Suhadi dan Arsyad, 1983) adalah :

- a. Spermatozoa dengan motilitas baik, yaitu gerak cepat, lurus ke depan, lincah dan aktif (%).
- b. Spermatozoa dengan motilitas kurang baik, yaitu gerak apapun selain spermatozoa dengan motilitas baik (%).
- c. Spermatozoa tidak motil (%).

Nilai motilitas spermatozoa dalam persen dikonversikan dalam bentuk desimal (2 angka di belakang koma).

- Analisis Kecepatan Gerak Spermatozoa

Kecepatan gerak spermatozoa diukur dengan menghitung waktu (detik) yang diperlukan untuk menempuh 1 kotak mikrohemositometer oleh spermatozoa yang motil dan lurus. Nilai kecepatan gerak dalam satuan um/detik (Hartamto, 1985).

Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dalam penelitian ini kemudian diolah secara statistik. Pertama dilakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov yang disesuaikan oleh Liliefors (Dude & Satya, 1995), jika populasi berdistribusi normal, maka

dilakukan uji homogenitas varians menurut Lavene (Lavene test). Jika data menunjukkan homogen maka dilakukan pengujian dengan uji sidik ragam atau ANAVA $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui adanya perbedaan nyata. Jika uji ANAVA menunjukkan beda nyata kemudian dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui beda nyata terkecil antar hasil pada data perlakuan (Sokal & Rohlf, 1996).

Jika populasi data tidak terdistribusi normal, maka dilakukan transformasi, jika setelah dilakukan transformasi tetap tidak memperlihatkan distribusi normal atau tidak homogen, maka digunakan uji statistik nonparametrik (Conover, 1980). Adapun taraf kemaknaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah taraf kemaknaan 5%.

Hasil

Pengamatan terhadap parameter motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa menunjukkan terjadinya penurunan yang signifikan pada semua perlakuan ekstrak dibandingkan dengan kontrol maupun dengan *placebo*. Penurunan ini terjadi mulai dari perlakuan dengan konsentrasi ekstrak biji buah kalangkala terendah yaitu ekstrak 0.1%. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa yang diukur dari setiap kelompok setelah diberi ekstrak biji buah kalangkala secara in vitro

Perlakuan	Motilitas (%)	Kecepatan Gerak ($\mu\text{m}/\text{detik}$)
KTP	96 ^a	141,79 ^a
P	62 ^{ab}	65,14 ^{ab}
P I	26 ^c	21,90 ^c
P II	4 ^d	3,79 ^d
P III	0 ^e	0 ^e

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata, sebaliknya jika angka diikuti oleh huruf yang berbeda maka terdapat perbedaan nyata pada antar perlakuan ($\text{sig} > 0,05$)

KTP = Suspensi spermatozoa

P = Suspensi spermatozoa + NaCMC 0,5%

PI = Suspensi spermatozoa + Ekstrak Biji buah kalangkala 0,1%

PII = Suspensi spermatozoa + Ekstrak Biji buah kalangkala 0,3%

PIII = Suspensi spermatozoa + Ekstrak Biji buah kalangkala 0,5%

Hasil uji normalitas Kolmogorov - Smirnov dan uji homogenitas Levene menunjukkan bahwa data terdistribusi normal tapi tidak homogen, sehingga data tidak memenuhi syarat untuk diuji parametrik dengan Anova, maka sebagai alternatif digunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan terhadap motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa. Dengan uji Mann Whitney terlihat bahwa perbedaan yang nyata hanya terjadi di antara perlakuan ekstrak biji buah kalangkala 0.1%, 0.3% dan 0.5% baik dengan kontrol maupun *placebo*, sedangkan antar kontrol dan *placebo* tidak terdapat perbedaan nyata.

Hal ini menunjukkan bahwa zat aktif biji buah kalangkala menimbulkan pengaruh yang berarti dalam menurunkan kualitas spermatozoa, terutama untuk parameter motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa. Penurunan kualitas spermatozoa ini sudah terlihat nyata pada ekstrak kulit kayu durian 0.1% dan meningkat hingga ekstrak 0.5% dengan penurunan persentase motilitas dan kecepatan gerak mencapai nilai 0.

Pembahasan

Penurunan parameter motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa akibat pemberian ekstrak biji buah kalangkala diduga disebabkan oleh adanya zat aktif dalam biji buah kalangkala yang bersifat sitotoksik atau mempunyai efek spermidisida terhadap spermatozoa. Sebagaimana disebutkan dalam penelitian sebelumnya oleh Mustikasari dan Aryani (2010), bahwa dalam ekstrak biji buah kalangkala banyak mengandung tannin yang dapat bersifat sitotoksik. Dalam hal ini diduga zat tannin menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa melalui efek sitotoksik ini.

Selain itu diketahui pula, tannin dapat bersifat astringent sehingga dapat berpengaruh terhadap permeabilitas membran, karena dapat menyebabkan pengerutan membran sel (Merck Indeks, 1983). Dengan adanya sifat astringen ini, maka tannin yang ada dalam kulit kayu durian tersebut dapat menyebabkan transportasi zat makanan/nutrisi melalui membran terganggu. Berkaitan dengan hal ini, Robertis dan Robertis (1979) melaporkan, bahwa permeabilitas membran erat kaitannya dengan transport nutrisi yang diperlukan pada metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Sehubungan dengan hal tersebut Jeyendran dan Zaneveld (1986) menyatakan, bahwa permeabilitas spermatozoa erat kaitannya dengan motilitas spermatozoa.

Selain itu, apabila transport nutrisi terganggu, spermatozoa akan kekurangan energi. Energi yang berkurang ini tidak hanya menurunkan motilitas spermatozoa, tetapi juga akan menurunkan kecepatan gerak, dan mungkin beberapa parameter kualitas spermatozoa lainnya.

Kemungkinan lain terjadinya penurunan motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa tersebut yaitu disebabkan zat alkaloid yang ada pada kulit kayu durian dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase yang berada dalam membran sel spermatozoa. Enzim ATP-ase ini ada di bagian tengah ekor ("middle piece") spermatozoa dan berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan kalium. Di samping itu diketahui pula, bahwa motilitas spermatozoa sangat tergantung pada komposisi kalium dan natrium (Grady dan Nelson, 1972). Jika pernyataan Grady dan Nelson tersebut benar, maka dapat diduga bahwa zat alkaloid dalam kulit kayu durian dapat menyebabkan potensial membran spermatozoa berubah dan akhirnya menurunkan motilitas. Namun demikian hal ini masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

Kemungkinan lain terjadi penurunan kualitas spermatozoa tersebut adalah bahwa ekstrak kulit kayu durian dapat mengganggu aktifitas protein dinein yang merupakan salah satu protein yang terdapat pada ekor spermatozoa. Beberapa ahli mengatakan, bahwa bagian tengah ekor spermatozoa disusun oleh mikrotubulus yang mengandung substansi fiber yang disusun oleh protein dinein. Protein ini penting, karena mempunyai aktifitas ATP-ase (Zaneveld, 1978). Dengan terganggunya aktifitas protein dinein tersebut, maka aktifitas ATP-ase akan terganggu sehingga akan menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa, terutama motilitas dan kecepatan geraknya.

Nilai penurunan kualitas spermatozoa dalam penelitian ini yaitu parameter motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa sudah mencapai nilai nol seperti yang diharapkan pada cara kontrasepsi pria khusus dalam bentuk spermisida di dalam kondom. Dengan demikian diharapkan biji buah kalangkala dapat menjadi salah satu alternatif bahan baku kontrasepsi pria, terutama dalam bentuk spermisida di dalam kondom. Namun, hal ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak biji buah kalangkala yang diberikan secara in vitro memiliki efek spermisida terhadap spermatozoa mencit melalui penurunan parameter motilitas dan kecepatan gerak spermatozoa hingga mencapai nilai 0.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih atas terselenggaranya penelitian ini atas bantuan dana dari DIKTI melalui kegiatan PKM Penelitian tahun 2016.

Daftar Pustaka

- Asif, M. 2013. *A Review On Spermicidal Activities Of Azadirachta Indica*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 1 (5) : 61-79.
- Anonim, 2003. *Ikan Hias Air Tawar dan Prospeknya*. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya.
- Conover, W.J. 1980. *Practical Non Parametric Statistic 2ed*. John Wiley & Sons, New York.
- Dude, E.J. & Satya N.M. 1995. *Statistika Matematika Modern*. Penerbit ITB, Bandung.
- Grady, A.V & Nelson L 1972. *Cationic influences on sperm biopotensial*. Experimental Cell Research. 73 : 192-195.
- Hartamto, H., N. Moeloek & A, Tjokronegoro. 1985. *Analisis Semen : Proses Reproduksi Kesuburan dan Seks Pria dalam Perkawinan*. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
- Jeyendran R.S, & Zaneveld L.J.D. 1986. *Instruction for Hypoosmotic Swelling (HOS) Test*. Short Course : Reproduction/Andrology and non hormonal contraception. Chicago.
- Merck Index 1985. *An Encyclopedic of Chemical and Drugs*. 9th Ed. New Jersey.
- Moeloek, N. 1990. *Kontrasepsi Pria : Masa Kini dan Masa Yang Akan Datang*. Medika. 2 (6) : 151 – 159.
- Mustikasari, K. & Ariyani. 2010. *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji, Kalangkala (Litsea*

- angulata*). Sains dan Terapan Kimia. .4 (2)
: 131-136.
- Prawirohardjo, S. 1991. Ilmu Kebidanan. Edisi ketiga. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta
- Purwaningsih, E & T. Susmiarsih. 1998. *Efek Spermatisida Ekstrak Biji Oyong (Luffa Acutangula, Roxb) Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa In Vitro*. Jurnal Kedokteran YARSI. 6 : 17 – 27.
- Robertis ED, & Robertis EM 1979. Cell and moleculer Biology. Philadelphia: Sauders Colleg: 151-159.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1996. *Pengantar Biostatistika*, Edisi ke-2, terjemahan Nasrullah. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Suhadi, K. & K. M. Arsyad, 1983. Analisis Sperma. Airlangga Universty Press, Surabaya.
- Sukrasno. 2003. *Mengenal lebih dekat Mimba, Tanaman Obat Multifungsi*. Agromedia Pustaka. Jakarta. Hal. 17-18.
- WHO/CONRAD. 2002. *Technical Consultation on Nonoxynol-9*.
<http://www.condomdepot.com/non9/>.
Diakses tanggal 20 April 2015.
- Zaneveld, L.J.D. 1978. The Biology of Human Spermatozoa. Dalam : Wynn Ed. Obstetrics and Gynecology Annual. Chicago: Appleton Century Croft: 15-40.