

PENGARUH ISOLAT HERBA *VERNONIA CINEREA* TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH

I G. B. Gupta Widotama

Instalasi Farmasi RSUP Sanglah, Denpasar

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh herba *Vernonia cinerea* Less. terhadap spermatogenesis tikus. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap isolasi dan pemurnian herba, kemudian tahap pemeriksaan spermatogenesis. Isolasi dilakukan metode sokletasi dan pemurnian isolate dilakukan dengan cara rekristalisasi. Kemudian dilakukan pemeriksaan spermatogenesis terhadap tiga kelompok tikus. Satu kelompok normal yang hanya diberi larutan normal saline, kelompok I diberi isolat sebanyak 0,05 mg/g berat badan secara intra peritoneal, dan kelompok II diberi isolat sebanyak 0,025 mg/g berat badan. Perlakuan ini dikerjakan selama 49 hari. Setelah itu, dibuat preparat histologi dengan pewarnaan PAS- Hematoxylin. Pemeriksaan di bawah mikroskop optik menunjukkan bentuk tubulus seminiferus yang masih bulat dan adanya membran basalis. Dari hasil pengamatan tersebut, disimpulkan bahwa *V. cinerea* Less. dapat mempengaruhi spermatogenesis tikus.

Kata kunci : Spermatogenesis, *Vernonia cinerea* Less., tubulus seminiferus

ABSTRACT

The influence of *Vernonia cinerea* Less. on spermatogenesis of rat has been investigated. This research was held into two steps. The first activity was isolation and purification of the herb of *V. cinerea* Less.. The purity of isolate was showed by the appearance of only one spot on chromatogram and its physical characteristic. The second step was identification the spermatogenesis using three groups of rat for 49 days namely i.e. normal group that was administered by normal saline, group I that is administered by 0.05 mg/g body weight of *V. cinerea* Less. isolate i.p., and group II that was administered by 0.025 mg/g B.W of *V. cinerea* Less. isolate i.p. Histological preparat with PAS- Hematoxylin dyeing was used in tubulus seminiferus observation. The result showed the cocci form of tubulus seminiferus and basalis membrane appearance. This concluded that the isolate of *V. cinerea* Less. herbs influenced the spermatogenesis of rat.

Keywords : Spermatogenesis, *Vernonia cinerea* Less., tubulus seminiferus

PENDAHULUAN

Alat kontrasepsi yang murah, mudah dipakai, aman dan bersifat reversibel belum tersedia bagi pria, walaupun berbagai macam penelitian pendahuluan untuk pengembangannya sudah banyak dilakukan. Alat kontrasepsi pria yang pertama kali dikembangkan adalah alat kontrasepsi yang mencegah spermatozoa bertemu dengan ovum, keadaan demikian dapat dilakukan dengan cara mekanis, yaitu dengan

pemakaian kondom atau dengan cara mematikan/menghambat gerak spermatozoa, yaitu dengan bahan spermatisida (Kleinman, 1972). Akhir-akhir ini dikembangkan obat yang berkhasiat untuk menghambat aktivitas spermatogenesis tanpa melenyapkan libido dan tingkah laku seks.

Spermatogenesis dipengaruhi oleh hormon yang dihasilkan oleh hipotalamus, gonadotropin pituitari dan gonad. Oleh karena itu spermatogenesis dapat berlangsung dengan

baik jika hubungan fungsional hipotalamus-gonadotropin pituitari-gonad berjalan normal (Heber, 1980; Arsyad, 1986). Untuk mencegah spermatogenesis dapat digunakan berbagai cara antara lain dengan pemberian hormon, zat anti mitosis dan meiosis.

Spermatogenesis adalah proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium, melalui perkembangan yang kompleks dan teratur. Spermatogenesis terjadi didalam tubulus seminiferus testis, Proses ini melalui proliferasi, deferensiasi dan transformasi dengan demikian spermatogenesis dapat dibagi menjadi 3 tahap yaitu : Proliferasi dan deferensiasi, kemudian Meiosis dan transformasi.

Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus testis. Pada tubulus seminiferus terdapat beberapa kelompok sel yang mempunyai sel germinal yang menyusun beberapa lapisan, setiap lapisan menunjukkan perbedaan generasi. Bila dilihat dari lamina basalis sampai ke lumen akan terlihat lapisan spermatogonia, spermatisit, spermatid yang kemudian yang paling dekat lumen adalah spermatozoa. Kombinasi dari berbagai variasi sel yang terdapat pada daerah tertentu dalam tubulus seminiferus di sebut asosiasi sel.

Sel-sel yang menyusun asosiasi sel selalu berkembang menjadi bentuk yang lebih dewasa, perubahan dari bentuk asosiasi yang satu ke bentuk yang lain dinamakan "Stage of seminiferus epithelium" (Anonim, 1981).

Dalam satu siklus spermatogenesis pada tikus ada 14 tahap epitel seminiferus. Setiap tahap tersebut didasarkan atas perkembangan spermatid, dimana terdapat 19 stadium perkembangan yang dinamakan "step of spermiogenesis" (Clermont, 1968; Leblond, 1952).

Penggunaan hormon meliputi : hormon anti androgen dan hormon steroid lainnya, penggunaan spermatogenik yang bukan hormon antara lain ada yang berasal dari tanaman seperti; biji kapas (*Gossypium acuminatum*) yang menghasilkan zat anti spermatogenik : Gossypol (Dai, 1978; Tsao, 1981), kemudian buah pare (*Momordica charantia* L.) zat aktifnya adalah Cucurbitacin yang bersifat anti mitosis dapat juga dipergunakan sebagai antikanker dan banyak tanaman lagi seperti, tapak doro

(*Catharantus roseus* L.), tanaman saga (*Abrus precatorius* L.) dan beberapa tanaman lain yang bersifat antikanker dapat juga bersifat sebagai antispermatogenik (Mariatun, 1986).

Vernonia cinerea Less. Adalah salah satu jenis tumbuhan yang tergolong suku Asteraceae, tanaman ini tumbuh di daerah cerah matahari, sedikit teduh dan tidak terlalu basah, sering tumbuh didaerah padang rumput dengan ketinggian 5-2500 meter dari permukaan air laut, banyak dijumpai dipekarangan atau lapangan-lapangan terbuka.

Herba *Vernonia cinerea* Less. Mengandung senyawa alkaloid dan senyawa triterpen, meskipun mengenai struktur kimianya belum diungkapkan.

Peneliti lain menunjukkan bahwa dari herba *Vernonia cinerea* Less. Telah dapat diisolasi suatu senyawa glukosida luteolin-7-mono- β -D-glukopiranosida.

Herba dari tanaman ini dapat digunakan sebagai obat cacing, obat diare, obat tumor, tonikum, diaforetika dan antikanker.

Peneliti lain (Percy, *et al.*, 1981) melaporkan bahwa komponen aktif herba *Vernonia cinerea* Less. Merupakan senyawa golongan glukosida berhasil diisolasi dan dimurnikan. Berdasarkan tinjauan di atas, diduga tanaman *Vernonia cinerea* Less, yang berkhasiat sebagai antikanker dapat juga bersifat sebagai antispermatogenik. Tanaman ini menurut peneliti terdahulu, melaporkan bahwa herbanya mengandung komponen yang berkhasiat sebagai antikanker, komponen aktif tersebut merupakan senyawa glukosida (Noor Cholies, 1982). Isolat dari herba *Vernonia cinerea* Less ini telah berhasil ditetapkan harga ED50, LD50 dan indeks terapinya (Rakhmawati, 1985).

MATERI DAN METODE

Bahan

Pada penelitian ini digunakan tikus jantan strain Wistar sebagai hewan percobaan, dengan umur 3-4 bulan dan berat 240-260 gram.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah soxlet, mlting poin

apparatus Fisher John, mikrotom 820 Fisher, mikroskop optik tipe ELH Carton, dan syringe non pirogenik.

Cara Kerja

Penelitian ini dilakukan dalam tahapan sebagai berikut : mula-mula diisolasi komponen aktif yang berkhasiat anti kanker dari herba *Vernonia cinerea* Less. dan dilakukan uji kemurnian terhadap isolat yang diperoleh.

Pemberian bahan pada hewan percobaan berdasarkan pada harga LD₅₀ isolat herba *Vernonia cinerea* Less. yaitu seper dua puluh LD₅₀ (0,05 mg/g berat badan) dan seperempat puluh LD₅₀ (0,025 mg/g berat badan) yang diberikan sekali sehari selama 49 hari yang merupakan siklus dari spermatogenesis tikus.

Metoda yang digunakan pada penelitian ini adalah metoda dari B. Percy, K. Clermont dan C. P. Leblond, yaitu pengamatan terhadap tahapan (stage) dari tubulus seminiferus pada tahapan epitel seminiferus (*stage of seminiferous epithelium*) (Percy, *et al.*, 1961).

Tahap-tahap Penelitian yang dilakukan :

1. Isolasi komponen aktif herba *Vernonia cinerea* Less.
2. Uji kemurnian isolat herba *Vernonia cinerea* Less.
3. Penentuan tetapan fisik isolat herba *Vernonia cinerea* Less.
4. Uji Benedict isolat herba *Vernonia cinerea* Less.
5. Efek isolat herba *Vernonia cinerea* Less. terhadap Spermatogenesis.

Hewan percobaan diberikan isolat herba *Vernonia cinerea* Less. Dengan dosis yang berbeda : 0,025 mg/g berat badan, 0,05 mg/g berat badan sekali sehari dengan pemberian secara intraperitoneal dan sebagai kontrol diberikan aqua pro injectionum. Perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan selama 49 hari. Setelah perlakuan hewan percobaan dibunuh untuk diambil testisnya.

6. Pembuatan sediaan irisan testis
Pembuatan irisan testis dengan metode pewarnaan PAS-Hematoxylin
7. Pengamatan sediaan irisan testis
Pengamatan sediaan irisan testis mengikuti kriteria standar dari B. Percy, Clermont dan C. P. Leblond (Percy, *et al.*, 1961), yaitu pengamatan terhadap tahap-tahap dari tubulus seminiferus pada tahapan epitel seminiferu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan terhadap Tubulus seminiferus pada tahapan Epitel seminiferus (*stage of Seminiferous Epithelium*) tikus strain Westar setelah pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. Sebanyak 0,025 mg/g berat badan sekali sehari selama 49 hari ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tubulus seminiferus pada tahapan Epitel seminiferus (*stage of Seminiferous Epithelium*) tikus strain Westar setelah pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. sebanyak 0,025 mg/g BB sekali sehari selama 49 hari

Nomor		Stage													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
1	A	1	-	-	1	-	3	3	-	7	1	2	4	2	1
	B	1	-	1	-	-	-	1	2	12	-	1	3	2	2
2	A	2	-	-	-	-	1	-	2	12	1	-	4	1	2
	B	-	-	-	2	-	3	3	-	7	1	2	4	2	1
3	A	1	-	-	-	1	-	1	2	11	-	1	3	2	3
	B	-	-	-	2	-	3	3	-	7	1	2	4	2	1
4	A	1	1	-	-	-	1	1	2	10	1	-	4	1	3
	B	-	-	-	2	-	-	1	2	7	-	3	4	-	6
5	A	1	-	-	-	-	-	-	1	11	-	1	3	-	8
	B	-	-	-	2	-	-	1	2	6	-	3	4	-	7
6	A	1	-	-	1	-	3	3	-	7	1	2	4	2	1
	B	-	1	-	-	-	-	1	3	7	-	3	4	-	6
C		8	2	1	10	1	14	18	16	104	6	20	45	14	41

Keterangan :

- No. 1 s/d 6 : testis tikus yang setiap testis diambil 2 preparat irisan testis, yaitu Irisan A dan irisan B
- I - IX : merupakan tahapan dari epitel seminiferus
- C : jumlah tubulus seminiferus

Hasil pengamatan terhadap Tubulus seminiferus pada tahapan Epitel seminiferus (*stage of Seminiferous Epithelium*) tikus strain Westar setelah pemberian isolat herba *Vernonia*

cinerea Less. sebanyak 0,05 mg/g berat badan sekali sehari selama 49 hari ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Tubulus seminiferus pada tahapan Epitel seminiferus (*stage of Seminiferous Epithelium*) tikus strain Westar setelah pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. sebanyak 0,025 mg/g BB sekali sehari selama 49 hari

Nomor		Stage													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
1	A	-	-	-	-	-	-	-	-	11	2	1	3	-	8
	B	-	-	1	-	-	-	-	-	17	2	-	3	-	2
2	A	-	-	-	-	-	-	-	1	9	3	1	5	-	6
	B	-	-	-	-	2	-	1	-	15	-	-	1	-	6
3	A	-	-	1	3	1	-	-	1	14	1	-	1	-	3
	B	1	2	-	1	2	-	-	2	9	2	-	3	-	3
4	A	-	1	-	2	1	-	-	1	8	2	1	2	1	6
	B	-	-	2	-	1	1	-	-	11	2	1	4	-	3
5	A	-	-	-	-	-	-	-	-	9	3	1	5	2	5
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	11	2	1	3	-	8
6	A	-	-	1	1	3	-	1	1	10	2	-	-	-	6
	B	-	-	-	-	1	-	-	1	12	1	1	4	-	5
	C	1	3	4	8	11	1	2	7	136	22	7	34	3	61

Keterangan :

- No. 1 s/d 6 : testis tikus yang setiap testis diambil 2 preparat irisan testis, yaitu Irisan A dan irisan B
- I - IX : merupakan tahapan dari epitel seminiferus
- C : jumlah tubulus seminiferus.

Hasil pengamatan terhadap Tubulus seminiferus pada tahapan Epitel seminiferus (*stage of Seminiferous Epithelium*) tikus strain

Westar setelah pemberian Aqua pro injectionum. sebanyak 1 ml sekali sehari selama 49 hari ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Tubulus seminiferus pada tahapan Epitel seminiferus (*stage of Seminiferous Epithelium*) tikus strain Westar setelah pemberian Aqua pro injectionum sebanyak 1 mL sekali sehari selama 49 hari

Nomor		Stage													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
1	A	2	1	1	1	2	1	2	2	3	2	2	2	2	2
	B	1	2	1	2	1	2	1	3	3	2	2	1	2	2
2	A	1	2	1	3	2	1	2	2	3	1	2	2	1	2
	B	1	1	2	4	2	1	2	2	2	1	1	2	2	2
3	A	1	1	2	2	3	2	1	2	3	1	1	3	1	2
	B	2	1	1	2	1	2	2	1	3	2	2	2	2	2
4	A	1	1	1	3	2	1	1	3	3	1	2	2	2	2
	B	1	2	1	2	2	1	2	2	3	1	2	2	2	2
5	A	1	1	1	2	1	1	3	2	5	1	3	2	1	1
	B	1	1	2	4	2	1	2	1	3	2	1	2	1	2
6	A	1	1	1	2	2	1	3	3	4	1	1	2	1	2
	B	2	1	1	2	2	2	2	2	3	2	2	1	2	1
C		15	15	15	29	22	16	23	25	39	17	21	23	19	22

Keterangan :

- No. 1 s/d 6 : testis tikus yang setiap testis diambil 2 preparat irisan testis, yaitu Irisan A dan irisan B
- I - IX : merupakan tahapan dari epitel seminiferus
- C : jumlah tubulus seminiferus.

Pembahasan

Telah dilakukan isolasi terhadap serbuk kering herba *Vernonia cinerea* Less. dengan menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan dengan pemurnian terhadap kristal yang diperoleh.

Uji kemurnian ditentukan dengan kromatografi lapisan tipis dalam bermacam-macam fase gerak. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan satu noda dalam masing-masing fase gerak. Pada penentuan tetapan fisik, titik lebur isolat herba *Vernonia cinerea* Less. adalah

155°C. Sedangkan pada uji Benedict setelah dihidrolisis didapatkan endapan merah bata.

Ketiga uji diatas dilakukan sesuai dengan yang telah dilakukan oleh peneliti yang terdahulu.

Hasil penelitian yang terdahulu menyatakan bahwa isolat tersebut adalah suatu senyawa glikosida (Noor Cholies, 1982)

Untuk mengetahui pengaruh isolat herba *Vernonia cinerea* Less. Terhadap spermatogenesis tikus, dilakukan test dengan pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. Dalam jumlah tertentu, yaitu : seper dua puluh

dari LD₅₀ (0,05 mg/g berat badan) dan seperempat puluh dari LD₅₀ (0,025 mg/g berat badan) sekali sehari. Perlakuan selama 49 hari yang merupakan siklus spermatogenesis tikus. Pemberian dosis di bawah LD₅₀ tersebut dimaksudkan untuk menjaga kemungkinan terjadinya sifat akumulatif dari isolat yang digunakan, karena lamanya perlakuan selama 49 hari yang sesuai dengan siklus spermatogenesis dari hewan percobaan tersebut. Pemberian kedua dosis tersebut untuk mengetahui apakah ada perbedaan pengaruh pada spermatogenesis, antara dosis yang lebih besar dan yang lebih kecil.

Untuk mengetahui pengaruh dari kedua dosis tersebut pada spermatogenesis, maka digunakan kontrol (sebagai pembanding) yaitu hewan percobaan yang hanya diberikan aqua pro injectionum sebanyak 1 mL sekali sehari selama 49 hari.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap tahapan dari tubulus seminiferus pada tahapan epitel seminiferus, sesuai dengan yang dilakukan oleh B. Percy, Y. Clermont dan C. P. Leblond.

Menurut Leblond dan Clermont dalam siklus spermatogenesis pada tikus terdapat 14 tahap epitel seminiferus, setiap tahap didasarkan atas perkembangan spermatid, dimana terdapat 19 stadium perkembangan, yang disebut "*step of spermatogenesis*" dari 19 tahap tersebut hanya 14 step pertama saja yang dipergunakan untuk menentukan tahap epitel seminiferus.

Pembuatan preparat histologis pada penelitian ini digunakan pewarnaan dengan teknik PAS-Hematoxylin. Dengan teknik PAS-Hematoxylin dapat dilihat iodosom dan derivatnya yaitu : "*head cap*" dan "*achrosom*". Teknik PAS-Hematoxylin juga untuk melihat "*centriole*", "*tail filament*", "*caudal tube*" dan "*chromatid*".

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan dalam jumlah tubulus seminiferus pada tahapan dari tahapan epitel seminiferus pada hewan percobaan dengan pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. sebanyak 0,025 mg/g berat badan dan hewan percobaan dengan

pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. sebanyak 0,05 mg/g berat badan, bila dibandingkan dengan jumlah tubulus seminiferus pada setiap tahapan epitel seminiferus pada hewan percobaan yang tanpa pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. (pemberian aqua pro injectionum sebanyak 1 mL)

Jadi dengan demikian pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. dapat mempengaruhi tahapan dari epitel seminiferus, yaitu menghambat dalam proses perkembangannya.

Terganggunya perkembangan spermatogenesis ini kemungkinan diakibatkan terganggunya peristiwa mitosis dan meiosis pada perkembangan sel tersebut.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian isolat herba *Vernonia cinerea* Less. sebanyak 0,025 mg/g berat badan dan 0,025 mg/g berat badan, dapat menghambat spermatogenesis tikus.

Saran

Disarankan untuk dilakukan pemeriksaan lebih lanjut pengaruh isolat herba *Vernonia cinerea* Less. terhadap parameter spermatikus, yang meliputi : konsentrasi, morfologi dan motilitas sperma serta pemeriksaan pengaruh isolat herba *Vernonia cinerea* Less. terhadap spermatogenesis hewan percobaan yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Prof. Dr. Noor Cholies Zaini, Bapak Prof. Dr. dr. F. X. Arief Adimoelja, M.Sc., dan Bapak Dr. Bambang Prajogo, Apt. atas sarannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Kleinman, R. L., 1972, *Buku Pedoman Medi.* Badan Koordinasi Keluarga Berencana : 81-98
- Heber, D. and Swerloff, R. S., 1980, Brain Peptides and Fertility Control In The Male, In : *Zatuchni, GI, Labbok, MH, Sciarra, JJ., eds.*, Research Frontiers in Fertlity Regulation, Cambridge, Harper & Row : 178-185
- Arsyad, K. M., 1986, Kemungkinan Pengembangan Kontrasepsi Pria, *Medika*, 12 (4) : 344
- Dai, R. X. and Dong, R. H., 1978, Studies on The Fertility Effect of Gossypol, I, An Experimental Analysis by Epididymal Ligature, *Acta Riol Exp Sinica*, 11 : 15-27
- Tsao, W. W. and Lee, C. S., 1981, Effect of Gossypol on Boar Spermatozoa In Vitro. *Archieves of Andrology, An International Journal*, 7 : 85-88
- Mariatun, L., 1986, Pengaruh Supernatan Biji Saga (*Abrus pracatorius* L.) Terhadap Spermatogenesis Tikus, *Thesis*, Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Airlangga, Surabaya
- Noor Cholies, 1982, Komponen Herba *Vernonia cinerea* Less. Yang Berkhasiat Antikanker, *Disertasi*, ITB, Bandung
- Rakhmawati, 1985, Penentuan Indeks Terapi Tsolat *Vernonia cinerea* Less. Herba Yang Berkhasiat Antikanker Pada Mencit Strain Muangthai. *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
- Percy, B., Clermont, Y., and Leblond, C. P., 1961, The Waves of The Seminiferous Epithelium in The Rat., *Am J Anat*, 108 : 47-74
- Anonim, 1981, *Protein Pengikat Androgen*, Pentaloka Andrologi Fakultas Kedokteran se Indonesia, Jakarta, Jakarta 7-19 Desember 1981
- Clermont, Y. and Obregon, B., 1968, Reexamination of Spermatogonial Renewal The Rat by of Seminiferous Tubulus Mounted "in toto", *Am J. Anat.*, 122, : 237-47
- Leblond, C. P. and Clermont, Y., 1952, *Definition of Stages of The Seminiferous Apithelium in The Rat*, Annual of the New York Academy of Science, 55 : 548-557