

## **Ekstrak Biji Klabet Menurunkan Jumlah Sel Spermatozoa pada Kelinci\***

*(FENUGREEK SEED EXTRACT REDUCE  
THE NUMBER OF SPERMATOZOEA CELLS IN RABBIT)*

**I Gusti Nyoman Sri Wiryawan, Ida Ayu Ika Wahyuniari**

Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran  
Universitas Udayana, Jln. P.B. Sudirman Denpasar 80232 Bali  
Telepon :08123925104; email : sriwiryawan@yahoo.com

### **ABSTRACT**

Fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum*) contains saponin diosgenin, which has an anti fertility effect on spermatozoa so it can be used as an oral contraceptive drug. This study was aimed to investigate the effect of fenugreek seed extract to spermatogenic process of rabbit, especially on viability spermatozoa. "Completely randomized control group post-test only design" was used in this study. The animals were divided into four groups; one control group and three treatment groups with six replicates ( $P_0$  = control group;  $P_1$  = group were given 10 % fenugreek seed extract, 1 cc/day;  $P_2$  = group were given 20 % fenugreek seed extract, 1 cc/day;  $P_3$  = group were given 30 % fenugreek seed extract, 1 cc/day). The extract was given orally once a day in 50 days. After treatment, testicles were sectioned and stained with Hematoxylin Eosin; for qualitative and quantitative microscopic analysis. The result of this study showed that the number of spermatozoa were decreased significantly ( $p < 0,05$ ) after receiving 10% fenugreek seed extract 1 cc per day. In conclusion, fenugreek seed extract could reduce the number of spermatozoa.

Key words: spermatozoa, fenugreek seed extract, rabbit.

### **PENDAHULUAN**

Program Keluarga Berencana (KB) diselenggarakan oleh Pemerintah dengan tujuan mengendalikan laju pertumbuhan penduduk, yang nantinya diharapkan dapat berkontribusi dalam peningkatan sumber daya manusia. Jumlah penduduk Indonesia saat ini mencapai 219 juta jiwa dengan tingkat pertumbuhan 1,48 persen atau sekitar 3,2 juta jiwa per tahun. Perserikatan Bangsa Bangsa memproyeksikan jumlah penduduk Indonesia akan mencapai angka 261 juta jiwa pada tahun 2015, jika pelaksanaan program KB kurang memberikan hasil optimal (Depkes, 2005).

Selama ini partisipasi pria dalam KB masih relatif rendah bila dibandingkan dengan keikutsertaan wanita. Data BKKBN sampai dengan Juli 2005 menunjukkan partisipasi pria

dalam KB secara nasional hanya 2,7 persen. Keterbatasan pilihan metode kontrasepsi dijadikan salah satu alasan utama mengenai rendahnya partisipasi pria dalam KB. Sampai saat ini metode kontrasepsi pria meliputi vasektomi, kondom, dan *coitus interruptus* (Depkes, 2005).

Alat kontrasepsi yang ideal untuk pria harus dapat mencegah terjadinya fertilisasi, aman, mempunyai kinerja cepat, tanpa efek samping, dan tidak mempengaruhi potensi seks dan *libido*. Para peneliti terus melakukan riset agar dapat menemukan metode kontrasepsi ideal tersebut. Salah satu hal yang sedang dikembangkan saat ini adalah penggunaan tanaman obat alami Indonesia sebagai alternatif antifertilitas pria (Depkes, 2006).

Di Indonesia ada 18 jenis tanaman obat yang berpotensi sebagai antifertilitas pria. Beberapa

---

\* Pernah disampaikan pada : Pertemuan Ilmiah Nasional Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia Jakarta 20- 21 Juni 2008.

tanaman tersebut antara lain: bunga kembang sepatu (*Hibiscus Rosa-sinensis L*), pare (*Momordica charantia*), biji papaya (*Carica papaya*), kunyit (*Curcuma domestica*), biji oyong (*Luffa acutangula Roxb*), daun manggis (*Garcinia mengostana*), tapak dara (*Catharantus roseus*), biji kapas (*Gossypium hirtusum*), cantel (*Andropogon sorghum*), sitawar (*Costus speciosus*), dan gandarusa (*Justicia gandarussa*) (Depkes, 2006).

Biji klabet atau *foenigraeci semen* adalah biji dari buah tanaman *Trigonella foenum-graecum*, mengandung diosgenin salah satu prekursor steroid. Saponin yang dikandung dalam biji klabet yaitu : yamogenin, gitogenin, tigogenin, dan neotigogenin. Kandungan lainnya adalah mucilage, bitter fixed oil, volatil dan alkaloid choline dan trigonelline (Simon *et al.*, 1984). Djatmiko *et al.*, (1980) seperti dikutip Soehadi dan Santa (1983), membuktikan bahwa dalam 1 kg biji klabet dapat diekstraksi 100 mg diosgenin.

Semadha (2002) melaporkan bahwa pemberian ekstrak biji klabet pada mencit menurunkan spermatogenesis pada mencit. Hasil penelitian tersebut menjadi menarik karena didapatkan petunjuk bahwa ekstrak biji klabet mempengaruhi spermatogenesis pada mencit. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba yang lebih tinggi seperti pada penelitian ini dilakukan penelitian dengan hewan coba kelinci untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji klabet terhadap spermatogenesis kelinci ditinjau dari jumlah sel-sel spermatozoa.

## METODE PENELITIAN

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan “*completely randomized control group post-test only design*” Sampel dalam penelitian ini adalah kelinci jantan dewasa dengan rata-rata umur 8 bulan, berat rata-rata  $2 \pm 0,22$  kg. Penelitian dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana selama 50 hari dari tanggal 18 Januari 2007 sampai dengan 8 Maret 2007. Sampel penelitian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu satu kelompok kontrol ( $P_0$ ) dan tiga kelompok perlakuan ( $P_1$ ,  $P_2$ , dan  $P_3$ ). Jumlah ulangan (replikasi) pada tiap kelompok, dihitung menggunakan rumus Frederer (Sastrosupadi, 1977). Jumlah replikasi yang diperoleh adalah 6, sehingga diperlukan 24 ekor kelinci, yang

dibagi menjadi 4 kelompok secara acak. Kontrol ( $P_0$ ) diberikan ekstrak biji klabet 0%; perlakuan 1 ( $P_1$ ), diberikan ekstrak biji klabet 10%; perlakuan 2 ( $P_2$ ), diberikan ekstrak biji klabet 20%; perlakuan 3 ( $P_3$ ), diberikan ekstrak biji klabet 30%, masing-masing kelompok perlakuan diberikan ekstrak biji klabet peroral sebanyak 1cc/ekor/hari selama 50 hari.

### Penyiapan Ekstrak Biji Klabet

Biji klabet dibersihkan, lalu dirajang atau diblender sampai halus kemudian dikeringanginkan selama tiga hari. Bahan yang telah kering ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian ditambahkan dengan *solvent methanol* sebanyak 1000 ml. Setelah dibiarkan selama 3 hari pada suhu kamar, rendaman ekstrak disaring dengan kertas saring Watman no 2. Filtrat yang diperoleh diuapkan dalam *vaccum rotary evaporator* untuk memisahkan antara *solvent methanol* dan ekstrak. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dicatat beratnya. Untuk memperoleh konsentrasi ekstrak yang diinginkan dalam perlakuan, ekstrak dilarutkan dalam *air tween (emulgator)*. Untuk mendapatkan ekstrak dengan konsentrasi 10%, dilakukan dengan melarutkan 10 ml ekstrak dalam 90 ml *air tween*. Untuk mendapatkan ekstrak dengan konsentrasi 20%, dilakukan dengan melarutkan 20 ml ekstrak dalam 80 ml *air tween*. Untuk mendapatkan ekstrak dengan konsentrasi 30%, dilakukan dengan melarutkan 30 ml ekstrak dalam 70 ml *air tween*. Sebelum perlakuan, larutan ekstrak dikocok terlebih dahulu agar ekstrak dan air dapat larut merata.

### Penyiapan Hewan Coba

Dua puluh empat ekor kelinci jantan berumur 8 bulan didapatkan dari peternakan kelinci di Bedugul, Tabanan. Kelinci ditempatkan dalam kandang yang telah disiapkan, diberikan makan berupa hijauan (terdiri dari sayur lengkap), dua kali sehari (pagi dan sore) dan minum *ad libitum*. Sebelum perlakuan, mengkondisikan kelinci pada kandang baru.

### Pemberian Ekstrak Biji Klabet

Ekstrak biji klabet dengan dosis yang telah ditentukan, diberikan secara oral dengan menggunakan spuit tanpa jarum sebanyak 1 cc. Pemberian ekstrak dilakukan sekali sehari, setiap sore hari, dan dilakukan selama 50 hari.

**Pembuatan Sediaan Histologis**

Setelah 50 hari, kelinci dikorbankan untuk diambil organ testisnya, kemudian dilakukan pembuatan sediaan histologis dengan teknik pewarnan *Hematoxylin Eosine*. Pembuatannya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Parameter yang diamati berupa kerusakan tubulus seminiferus dan jumlah sel spermatozoa.

**Analisis Data**

Data kualitatif yaitu gambaran mikroskopis testis setelah perlakuan dengan membandingkan masing-masing perlakuan dengan kontrol dan data kuantitatif yaitu jumlah sel-sel spermatozoa. Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan uji *One-Way Anova*.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Gambaran Histologis Testis**

Kerusakan tubulus seminiferus dapat dikelompokkan menjadi empat kategori. Pertama: Atrofi tubular, yaitu hilangnya seluruh sel di dalam tubulus seminiferus, kecuali sel sertoli. Kedua: Nekrosis tubular, yaitu kerusakan seluruh unsur sel di dalam tubulus seminiferus, dan terlihat adanya sisa-sisa nekrosis mengisi lumen. Ketiga: Hilangnya sel-sel intermedia, di dalam tubulus terlihat sel sertoli, spermatosit primer, dan spermatid. Sel-sel intermedia adalah bentuk akhir spermatogonium A sebelum berubah menjadi spermatogonium B. Keempat: Penurunan spermatogenesis yaitu paling sedikit 75% jumlah spermatozoa yang terlihat dalam lumen dengan bentuk intermedia yang utuh (Barkitt, 1993).

Pada pengamatan terhadap 10 tubulus seminiferus kelinci (5 tubulus dari testis kiri dan 5 tubulus dari testis kanan) untuk setiap

Tabel 1 Persentase kerusakan tubulus seminiferus kelinci, pada 10 tubulus untuk setiap perlakuan

Pemberian ekstrak klabet	Kategori kerusakan tubulus seminiferus (%)				
	1	2	3	4	Normal
0% (P <sub>0</sub> )	0	0	0	0	100
10% (P <sub>1</sub> )	0	0	12	86	2
20% (P <sub>2</sub> )	0	8	69	23	0
30% (P <sub>3</sub> )	2	12	80	6	0

Tabel 2. Rataan sel spermatozoa setelah pemberian ekstrak biji klabet satu kali sehari, selama 50 hari secara oral.

Pemberian ekstrak klabet	Jumlah sel spermatozoa
0% (P <sub>0</sub> )	62,87 ± 9,13
10% (P <sub>1</sub> )	41,31 ± 8,23
20% (P <sub>2</sub> )	24,30 ± 6,16
30% (P <sub>3</sub> )	11,15 ± 3,43

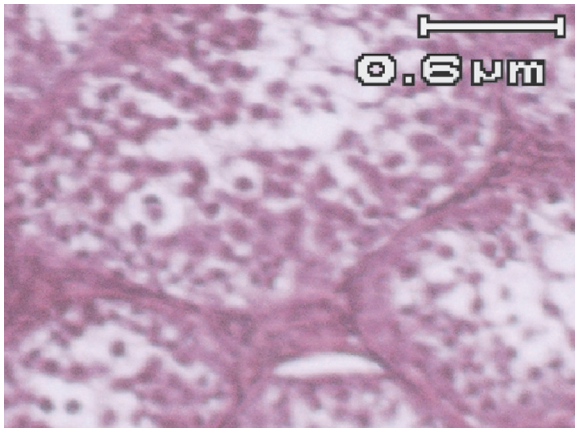
perlakuan, sesuai dengan kriteria kerusakan tubulus tersebut di atas, maka didapat hasil seperti pada Tabel 1. Persentase kerusakan tubulus yang terjadi semakin meningkat dengan meningkatnya dosis perlakuan. Kerusakan tubulus paling tinggi terjadi pada kelompok P<sub>3</sub>.

Pada penelitian ini secara histologis tampak adanya penurunan sel-sel spermatogonia A, spermatosit primer pakiten, spermatozoa dan vakuolisasi pada tubulus seminiferus, disebabkan oleh degenerasi sel-sel germinal. (Gambar 1 A-D)

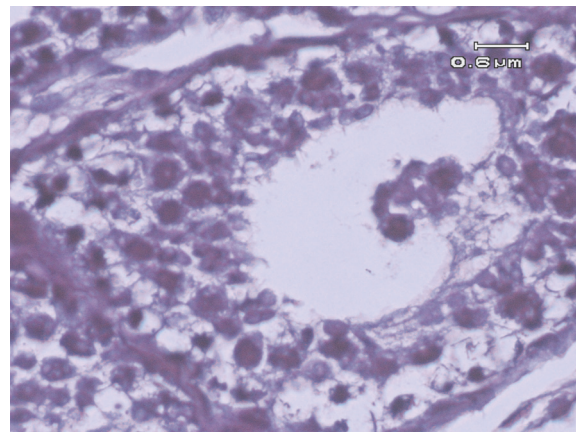
**Jumlah Sel Spermatozoa**

Hasil pengamatan jumlah sel spermatozoa pada stadium VIII siklus epitel seminiferus disajikan pada Tabel 2. Dari uji normalitas, spermatozoa pada stadium VIII siklus epitel seminiferus menunjukkan data berdistribusi normal (p>0,05) dan dari uji homogenitas didapatkan bahwa varian antar kelompok homogen. Hasil uji statistik dengan uji sidik ragam (anova) satu arah menunjukkan, bahwa pemberian ekstrak biji klabet dapat menurunkan jumlah spermatozoa secara bermakna (p<0,05). Selanjutnya dengan uji beda nyata terkecil (BNT) ditemukan, bahwa kelompok perlakuan dengan dosis 10% (P<sub>1</sub>) berbeda secara bermakna (p<0,05) dibandingkan dengan kontrol (P<sub>0</sub>). Pada kelompok perlakuan dengan dosis 20% (P<sub>2</sub>) juga berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol (P<sub>0</sub>). Demikian juga dengan kelompok perlakuan 30% (P<sub>3</sub>) berbeda secara bermakna bila dibandingkan dengan kontrol (P<sub>0</sub>) (p<0,05).

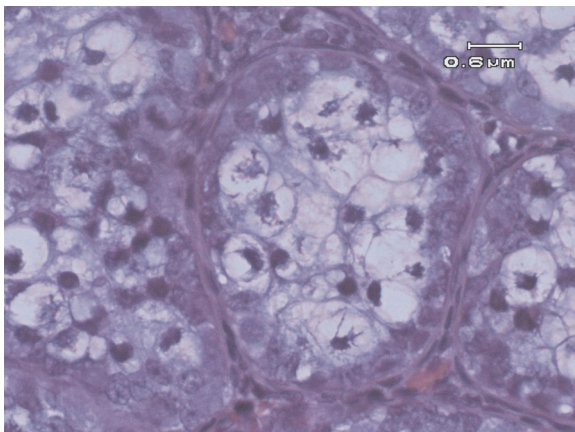
Pada tabel 2 disajikan rata-rata sel spermatozoa pada pemberian ekstrak biji klabet dengan berbagai dosis perlakuan. Terjadi penurunan rata-rata sel spermatozoa dengan peningkatan dosis perlakuan, rata-rata sel spermatozoa terkecil



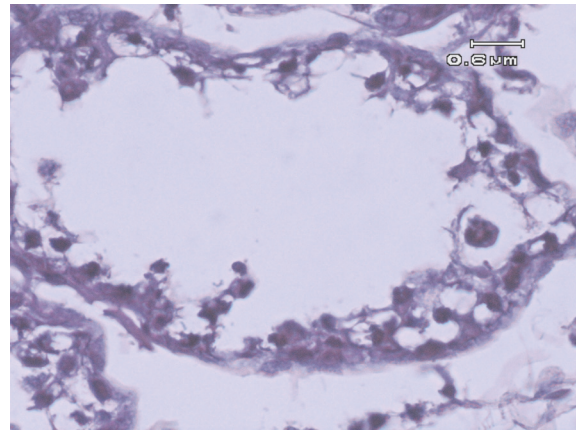
Gambar 1 A. Gambaran histologis kelompok kontrol ( $P_0$ ). Terlihat adanya asosiasi sel-sel spermatogeik (spermatogonia A, spermatosit primer pakiten, dan spermatozoa) tersusun berlapis sesuai dengan tingkat perkembangannya menuju ke arah lumen.



Gambar 1 B. Gambaran histologis kelompok perlakuan ekstrak biji klabet 10% ( $P_1$ ). Pada gambar ini terlihat urutan pematangan sel-sel spermatogenik (spermatogonia A, spermatosit primer pakiten, dan spermatozoa) masih tetap, tetapi bila dibandingkan dengan kontrol, terlihat adanya penurunan jumlah spermatozoa.



Gambar 1 C. Gambaran histologis kelompok perlakuan ekstrak biji klabet 20% (1cc sekali sehari) selama 50hari ( $P_2$ ). Pada gambar ini terlihat adanya penurunan jumlah sel spermatozoa yang lebih banyak bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan dosis 10% ( $P_1$ ).



Gambar 1 D. Gambaran histologis kelompok perlakuan ekstrak biji klabet 30% (1cc sekali sehari) selama 50 hari ( $P_3$ ). Tubulus seminiferus memperlihatkan kerusakan tipe atrofi tubular dan nekrosis tubular. Terlihat penurunan jumlah sel spermatozoa yang lebih banyak bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan dosis 20% ( $P_2$ ).

didapatkan pada dosis perlakuan ekstrak biji klabet 30% ( $P_3$ ).

*Interstitial Cell Stimulating Hormone* bekerja pada reseptor spesifik di permukaan sel leydig dan berperan dalam produksi testosteron. Testosteron merupakan androgen yang berperan dalam inisiasi dan mempertahankan spermatogenesis serta fertilitas pada pria (Matsumoto, 2001). Penurunan jumlah sel

spermatozoa diduga karena penghambatan sekresi ICSH dan testosteron. Hal tersebut terjadi karena diosgenin yang terkandung dalam biji klabet mempunyai inti steroid dan struktur molekul mirip kolesterol yang merupakan prekursor testosteron, sehingga dapat menempati reseptor testosteron. Dengan ditempatinya reseptor testosteron, maka menimbulkan *feedback* negatif terhadap sekresi

ICSH sehingga testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig juga dihambat sekresinya (Tarigan, 1980)

Sel sertoli berperan dalam menyediakan laktat, *transferrin*, dan *androgen binding protein* untuk metabolisme sel germinal (Walker dan Cheng, 2005). Fungsi sel sertoli dikendalikan oleh *Follicle Stimulating Hormone* dan testosteron. Penurunan testosteron karena efek diosgenin menyebabkan kinerja sel sertoli menjadi tidak optimal; sehingga terjadi gangguan proses spermiogenesis, gangguan metabolisme sel germinal, bahkan bisa menyebabkan apoptosis sel (Henriksen *et al.*, 1996). Selain itu diosgenin juga memiliki efek anti karsinogenik dan mampu menghambat pertumbuhan sel (Raju *et al.*, 2004).

Penurunan jumlah sel spermatozoa kemungkinan melalui beberapa mekanisme seperti adanya gangguan dalam proses meiosis; gangguan proses spermiogenesis awal karena lepasnya spermatid ke lumen tubulus, dan karena terjadi apoptosis spermatid. Penurunan tersebut dihubungkan dengan penurunan testosteron dan FSH. Proses meiosis spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder dan membentuk spermatid diatur oleh testosteron dan atau FSH melalui aksinya pada sel sertoli (Mc Lachlan, 2000).

Penurunan jumlah sel-sel spermatozoa pada penelitian ini diduga selain karena penurunan testosteron dan FSH, juga karena efek langsung ekstrak biji klabet yang mengandung diosgenin dan soladin terhadap sel-sel spermatogenik mengingat sifat-sifat toksiknya. Biji klabet juga dapat menghambat pertumbuhan sel-sel tumor lebih dari 70%, sehingga biji klabet memiliki efek antineoplastik dan bersifat sitotoksik (Sur, 2001).

Mekanisme terjadinya penurunan jumlah sel spermatozoa karena pemberian ekstrak biji klabet belum diketahui dengan pasti. Namun pengaruh tersebut diduga melalui dua kemungkinan. Pertama, yang berkaitan dengan struktur biji klabet yang mengandung diosgenin dan solasodin, dengan inti steroid. Kedua berkaitan dengan sifat sitotoksik ekstrak biji klabet tersebut.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pemberian ekstrak biji klabet pada kelinci jantan dengan dosis 10% (1cc), 20% (1cc), dan 30% (1cc) satu kali sehari selama 50 hari, diperoleh simpulan

bahwa sel-sel spermatozoa menurun secara bermakna pada semua dosis perlakuan. Semakin besar dosis ekstrak klabet yang diberikan semakin luas kerusakan pada tubulus seminiferi.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh dosis yang efektif untuk mencapai infertilitas dan mengetahui pengaruh ekstrak biji klabet terhadap kadar FSH, LH, dan testosteron dalam serum darah.

### DAFTAR PUSTAKA

- Burkitt HG, Young B, Heath JB. (1993), *Functional Histology, A Text and Colour Atlas*, London. Longman Group.
- Depkes. (2005). "Partisipasi Pria dalam Program KB masih Rendah", (2005, July 4 – last update), (Depkes), Available: <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=997>, (Accessed: 2007, April 15).
- Depkes. (2006). "18 Jenis Tanaman Obat Turunkan Kesuburan Pria". Available: <http://www.depkes.go.id/index.php?option=articles&task=viewarticle&artid=410>, (Accessed: 2007, April 15).
- Henriksen K, Kangasniemi M, Parvinen M, Kaipia A, Hakovirta H. (1996). In Vitro, Follicle-Stimulating Hormone Prevents Apoptosis and Stimulates Deoxyribonucleic Acid Synthesis in the Rat Seminiferous Epithelium in a Stage-Specific Fashion. *Endocrinology Journals*, 137 (5): 2141.
- Koentjoro S, Santa (1983). Perspective of Male Contraception with regards to Indonesian Traditional Drugs, Andrology in Perspective, International congress 1982, Indonesia, Published by Kenrose Indonesia.
- Matsumoto AM. (2001), *The Testis, in Endocrinology and Metabolism* : Felig P. & Frohman L A. (eds), 4<sup>th</sup> ed , Mc Graw-Hill, USA, pp. 635 – 705.
- Mc Lachlan RL, (2000) : Male hormonal contraception, A safe, acceptable and reversible choice, *MJA*; 172 : 254-255.
- Raju J, Patlolla JMR, Swamy MV, Rao CV. (2004), "Diosgenin, a Steroid Saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), Inhibits Azoxy methane-Induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and

- Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells”, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13, August, 1392-1398.
- Sastrosupadi A. (1977), *Statistik Percobaan (Experimental Design)*, Lembaga Penelitian Tanaman Industri, Cabang Wilayah II, Malang, Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 11-14.
- Semadha W. (2002), *Ekstrak Biji Klabet Menghambat Spermatogenesis Pada Mencit, Tesis*. Denpasar. Universitas Udayana,
- Simon JE, Chadwick AF Craker LE (1984). *Herbs : An Indexed Bibliography, 1971-1980*, the scientific literature on selected herb and promatic and medicinal plant of the temperate zone. Hamden. Archan Books, P 77
- Sur P (2001) : *Trigonella foenum-graecum (fenugreek) seed extract as an antineoplastic agent, phytotherapy research, division of pharmacology and experimentakl therapeutic Indian Institute of Chemical Biology, Calcuta. 4 Raja.*
- Tarigan, P. (1980), *Beberapa Aspek Kimia Sapogenin Steroid pada Tumbuhan di Indonesia*, Bandung. Alumni.
- Walker HW, Cheng J. (2005), “FSH and testosterone signaling in Sertoli cells”, *Reproduction* 130 (1) : 15-28.