

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK KAYU AKWAY (*Drymis Sp*) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus L*)

THE EFFECT OF AKWAY WOOD EXTRACT (*Drymis Sp*) ON THE MICE (*Mus musculus L*) SPERMATOZOA QUALITY

Angelina N. Tethool* dan Purwaningsih

Sub Laboratorium Fisiologi & Reproduksi FAPET UNIPA
Jl. Gunung Salju Amban Manokwari Papua Barat 98314

ABSTACT

Article history

Accepted: May 4, 2018 ;

Approved: June 1, 2018

* Corresponding author:

E-mail:

angelinanovitatethool@gmail.com

*This research was aimed to study the effect of Akway wood (*Drymis Sp*) extract treatment on spermatozoa quality of mice (*Mus musculus L*). The extract was given orally once a day in 2 weeks. The animals were divided into three groups; one control group (K1) and two treatment groups with four replicates. K2 group was given 1.3 ml/gr body weight / day and K3 group was given 3.3 ml/ gr body weight / day. The results indicated that treatments were increased significantly ($P < 0.05$) on acrosome integrity and viability, while on the motility, concentration and abnormality treatments had no significant effect.*

Keywords: *Mice, Akway wood, Motility, Concentration, Viabilities, Acrosome integrity, Abnormalities.*

PENDAHULUAN

Kayu Akway (*Drymis Sp*) merupakan tanaman endemik Papua yang merupakan tanaman berkayu, berdaun aromatik dan termasuk kerabat Winteraceae (Stevens, 2015). Khasiat dari tanaman obat ini terletak pada beberapa senyawa kimia aktif atau senyawa fitokimia yang memberikan respon berbeda di dalam tubuh (Cepeda *et al.*, 2015). Senyawa fitokimia yang dimaksud adalah alkaloid, saponin, tanin, glikosida, flavonoid, terpenoid dan steroid (Rahayu *et. al.*, 2006). Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid mempunyai aktivitas fisiologi yang menonjol sehingga digunakan secara luas dalam pengobatan. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol. Flavonoid saat ini banyak mendapat perhatian karena mempunyai berbagai aktivitas farmakologis. Tanin senyawa aktif yang terkandung pada tumbuhan yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat (Harborne, 2005).

Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh adalah salah satu yang mempengaruhi kesehatan. Hal ini disebabkan oleh kekurangan asupan antioksidan yang cukup dari konsumsi pakan. Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dari tumbuhan. Kayu Akway (*Drymis Sp*) memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi. Simplisia kulit batang tanaman Akway mengandung alkaloid, saponin dan tanin yang cukup tinggi (Santoso *et al.*, 2005) dan ekstrak etanol kulit kayu akway mengandung senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid, flavonoid dan tanin (Cepeda, 2008).

Akway digunakan sebagai obat tradisional herbal suku Sougb di Kabupaten Surorey Papua. Tanaman ini digunakan untuk mengobati malaria dan untuk meningkatkan daya tahan dalam melakukan pekerjaan budak, serta untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Paliling, 2004). Saat ini masyarakat sering memanfaatkan simpilisia kulit kayu Akway (*Drymis Sp*) sebagai obat daya tahan (vitalitas) bagi para pria, namun belum diketahui

pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa. Penggunaan ekstrak simplisia kulit kayu Akway belum diketahui secara pasti mampu memperbaiki ataupun sebaliknya menurunkan kualitas spermatozoa. Berdasarkan informasi ini, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa pada mencit (*Mus musculus* L).

METODE

Kayu Akway (*Drymis* Sp) dikumpulkan dari pasar tradisional di Kabupaten Manokwari, Papua Barat. Sebanyak 5 gr simplisia kulit kayu Akway dikeringkan dan dihaluskan hingga berbentuk serbuk, kemudian direbus dengan 50 mL aquadest selama 15 menit dalam suhu 90°C. Ekstrak kasar dari perebusan disaring menggunakan kertas saring, dimasukkan dalam gelas dan ditutup dengan kertas aluminium foil, kemudian disimpan pada suhu ruangan.

Mencit jantan yang digunakan sebanyak 12 ekor dipelihara dalam kandang plastik dengan siklus cahaya 12 jam dan 12 jam. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 perlakuan dan 4 kali pengulangan dengan diberikan secara oral selama dua minggu. Tikus dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ekor. Tikus kelompok-I (K) sebagai kontrol diberikan air minum *ad libitum*, kelompok-II (K1) diberikan dosis ekstrak kayu Akway sebanyak 1.3 ml/grBB/hari dan kelompok-III (K2) diberikan dosis ekstrak kayu Akway sebanyak 3,3 ml /grBB/hari selama dua minggu.

Variabel yang diukur yaitu kualitas spermatozoa, meliputi motilitas, konsentrasi, viabilitas, tudung akrosom utuh dan abnormalitas spermatozoa yang diambil dari bagian kauda epididimis. Kauda epididimis yang diperoleh pada hewan perlakuan diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi 2 ml NaCl 0,9% (Ashfahani *et al.*, 2010).

Motilitas

Motilitas dilihat dibawah mikroskop elektrik berdasarkan gerakan spermatozoa yang hidup dan bergerak maju/progresif. Motilitas individu spermatozoa, semen yang sudah diencerkan diambil sekitar 10-15µl dengan mikropipet kemudian diletakkan di atas obyek

glass lalu ditutup dengan gelas penutup dan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Perhitungan dilakukan terhadap 100 ekor spermatozoa yang tampak pada lapangan pandang, spermatozoa dianggap motil jika bergerak aktif lurus ke depan, kemudian dihitung persentase spermatozoa yang motil (Rosida, 2007).

Konsentrasi

Perhitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan dengan cara mengambil spermatozoa pada kauda epidermis. Spermatozoa dimasukkan ke dalam kamar hitung *Neubauer* (Hemasitometer) sampai kamar *Neubauer* terisi rata kemudian hitung jumlah spermatozoa pada salah satu kamar hitung *Neubauer* dan selanjutnya ditentukan pengenceran yang akan dilakukan dalam jumlah kotak yang akan dihitung.

Viabilitas

Spermatozoa ditetaskan pada *object glass*. Kemudian tetesan tersebut diberi pewarna eosin nigrosin, lalu dibuat preparat ulas kemudian tutup dengan *cover glass* dan amati dibawah mikroskop. Spermatozoa yang kepalanya tidak berwarna merupakan spermatozoa yang hidup, sedangkan spermatozoa yang bagian kepala menyerap warna (kemerahan) merupakan spermatozoa yang mati. Penghitungan dilakukan sebanyak 200 sel spermatozoa (Fitiriani, 2010).

Tudung Akrosom Utuh

Pengamatan tudung akrosom utuh dilakukan dengan memakai larutan NaCl fisiologis yang mengandung formalin 1%. Tudung akrosom yang utuh ditandai dengan ujung kepala spermatozoa yang berwarna hitam tebal. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh dari 100 spermatozoa yang diamati (Fitiriani *et al.*, 2010).

Abnormalitas

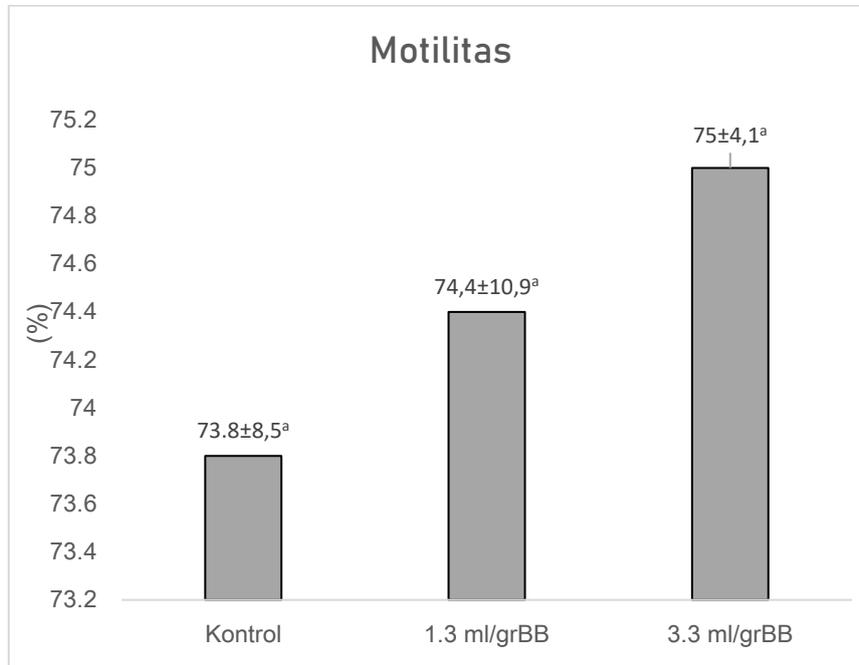
Penghitungan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin nigrosin yang dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang abnormal dari 200 sel spermatozoa yang diamati. Spermatozoa abnormal ditandai dengan penyimpangan bentuk dari yang normal (Fitiriani *et al.*, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas

Motilitas spermatozoa sangat penting karena berhubungan dengan kemampuan spermatozoa dalam melakukan proses fertilisasi. Kemampuan gerak spermatozoa

dapat dilihat juga dari motilitas. Pengujian motilitas dilakukan untuk mengetahui pergerakan dari ekor spermatozoa. Persentase motilitas merupakan persentase spermatozoa yang bergerak progresif ke depan.



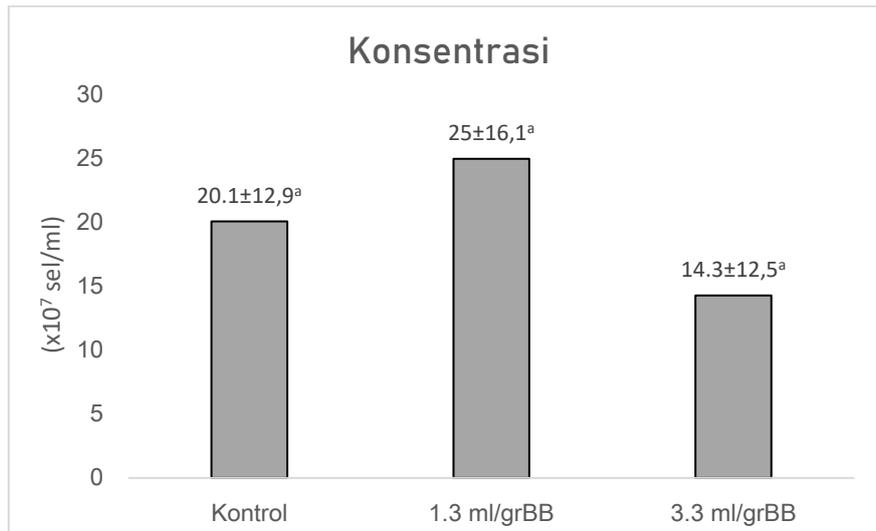
Gambar 1. Motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) yang diberi ekstrak kayu Akway (*Drymis* Sp).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kayu akway tidak memberikan pengaruh ($P>0.05$) terhadap motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L), namun secara rata-rata terjadi peningkatan seiring dengan bertambahnya dosis yang diberikan hingga mencapai $75.0\pm 4.1\%$ (Gambar 1). Peningkatan dosis yang diberikan menyebabkan motilitas spermatozoa yang diperoleh juga semakin meningkat. Hal ini diduga karena pemberian ekstrak kayu Akway tidak mengganggu *Adenosin triphospat* (ATP) yang mengandung energi dari proses metabolisme. Energi tetap dihasilkan sehingga motilitas spermatozoa tetap berada dalam keadaan tinggi. Spermatozoa yang kekurangan

energi bergerak lambat, meskipun arahnya tetap ke depan dan ekor bergerak teratur (Hafez, 2000). Enzim ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion natrium dan kalium. Ion natrium dan kalium ini berperan dalam transport nutrient yang dibutuhkan oleh spermatozoa dalam proses pergerakannya (Ashfahani *et al.*, 2010).

Konsentrasi

Konsentrasi spermatozoa merupakan salah satu indikator untuk menentukan kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena konsentrasi spermatozoa menunjukkan banyaknya jumlah spermatozoa yang diperoleh dalam sekali penampungan.



Gambar 2. Konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) yang diberi ekstrak kayu Akway (*Drymis* Sp)

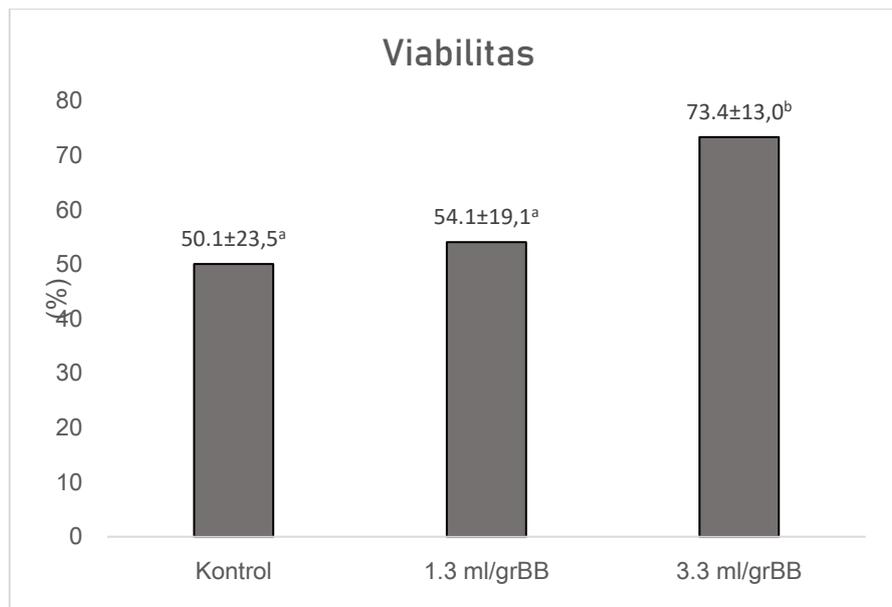
Konsentrasi tertinggi diperoleh pada perlakuan 1.3 ml/grBB, yaitu sebesar $25 \pm 16.1 \times 10^7$ sel/ml dan akan menurun hingga $14.3 \pm 12.5 \times 10^7$ sel/ml pada perlakuan 3.3 ml/grBB. Secara rata-rata terjadi penurunan konsentrasi, namun hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh dari semua perlakuan ekstrak kayu Akway terhadap spermatozoa mencit. Perlakuan ekstrak kayu Akway tidak memberikan pengaruh ($P > 0.05$) terhadap konsentrasi spermatozoa.

Perbedaan konsentrasi ini diduga karena perbedaan ukuran testis. Testis merupakan tempat berlangsungnya proses spermatogenesis dan dihasilkannya spermatozoa. Beragamnya rata-rata konsentrasi spermatozoa pada semua taraf perlakuan kemungkinan disebabkan oleh adanya perbedaan ukuran testis dan bobot badan mencit itu sendiri (Aditya, 2006). Perkembangan dan peningkatan produksi

spermatozoa merupakan suatu hal yang berjalan seiring dengan perkembangan bobot testis dan cauda epididimis. Hasil penelitian Aku *et al.*, (2009), menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa berhubungan erat dengan berat cauda epididymis.

Viabilitas

Viabilitas spermatozoa dapat diamati menggunakan teknik pewarnaan eosin-nigrosin. Teknik pewarnaan differensial eosin nigrosin merupakan teknik yang sederhana untuk pengujian viabilitas spermatozoa (Björndahl *et al.*, 2004). Zat warna eosin akan diserap oleh spermatozoa yang mati sehingga akan berwarna merah atau merah muda akibat permeabilitas dinding sel meninggi pada sel spermatozoa yang mati, sedangkan nigrosin akan mewarnai latar dari spermatozoa.



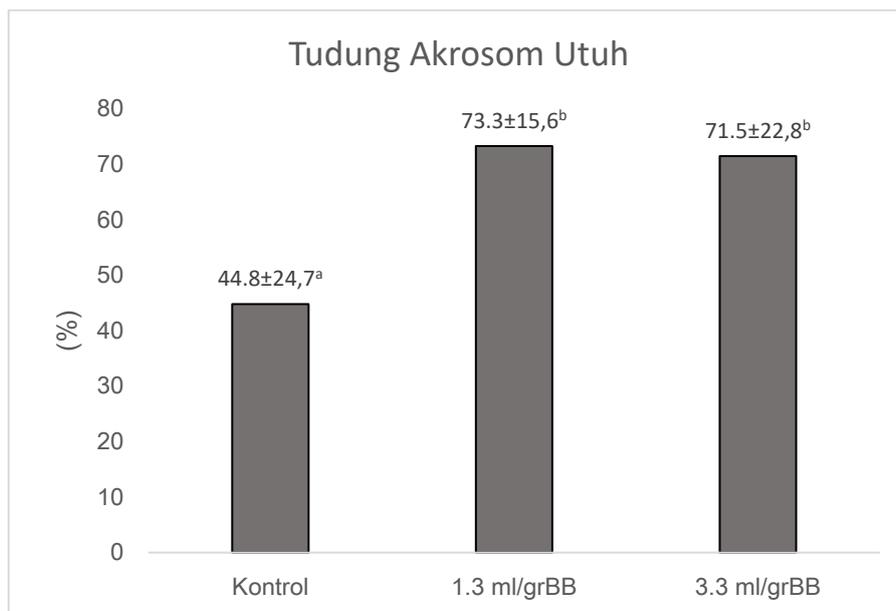
Gambar 3. Viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) yang diberi ekstrak kayu Akway (*Drymis* Sp).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak kayu Akway. Perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap peningkatan viabilitas spermatozoa (Gambar 3). Peningkatan viabilitas sejalan dengan peningkatan motilitas spermatozoa. Menunjukkan bahwa motilitas diikuti dengan daya hidup dari spermatozoa. Kondisi ini diduga karena sekresi hormone testosteron oleh sel *leydig* setelah pemberian ekstrak kayu Akway tetap berlangsung dengan baik. Menurut Stanier dan Forsling (1990), bahwa hormon testosteron berperan dalam menjaga kelangsungan hidup spermatozoa di dalam

epididimis. Terganggunya sekresi hormon testosterone menyebabkan penurunan spermatozoa yang hidup, karena terganggunya mekanisme transport nutrien dan permeabilitas yang diperlukan spermatozoa untuk daya tahan hidupnya (Ashok dan Meenakshi, 2004).

Tudung Akrosom Utuh (TAU)

Tudung akrosom utuh ditandai dengan kepala spermatozoa yang berwarna hitam setelah dipaparkan dengan larutan formalin 1%. Formalin memiliki kemampuan memfiksasi enzim-enzim hidrolitik yang terdapat dalam akrosom sehingga kepala spermatozoa yang terpapar formalin 1% akan berwarna hitam.



Gambar 4. Tudung akrosom utuh spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) yang diberi ekstrak kayu Akway (*Drymis* Sp)

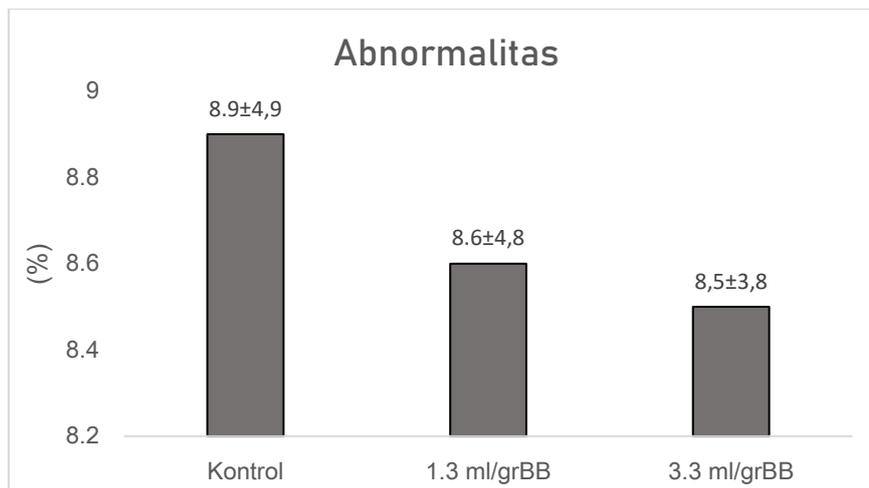
Perlakuan ekstrak kayu akway memberikan pengaruh ($P < 0.05$) terhadap tudung akrosom utuh spermatozoa mencit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase tudung akrosom utuh meningkat sejalan dengan peningkatan motilitas yang dihasilkan. Secara fisiologis terdapat hubungan antara motilitas (Gambar 5) dan keutuhan membran plasma spermatozoa (Sitepu dan Putra, 2017). Kerusakan membran plasma akan menyebabkan hilangnya enzim-enzim yang diperlukan (Salisbury dan Van DeMark, 1985).

Pengamatan tudung akrosom utuh penting dilakukan karena rusaknya akrosom dapat mengakibatkan hilangnya enzim proteolitik dan kebanyakan terjadi pada saat pencairan kembali yang menyebabkan kegagalan Inseminasi Buatan (Valcarcel *et al.*, 1997). Keutuhan tudung akrosom utuh

berpengaruh baik terhadap proses kapasitas dan reaksi akrosom pada saat pembuahan, Hal ini dapat dijelaskan bahwa keutuhan tudung akrosom berdampak positif terhadap fertilitas spermatozoa pada saat pembuahan terjadi (Anwar *et. al.*, 2015).

Abnormalitas

Spermatozoa abnormal merupakan spermatozoa yang memiliki bentuk berbeda dari spermatozoa normal. Spermatozoa ini terdapat pada individu fertil maupun infertil. Bentuk abnormal terjadi karena berbagai gangguan dalam spermatogenesis (Jensen *et al.*, 2008). Spermatozoa mencit terdiri dari kepala yang berbentuk kait dan ekor. Ukuran panjang keseluruhan spermatozoa mencit kurang lebih 0,1226 mm (Rugh, 1968).



Gambar 5. Abnormalitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L) yang diberi ekstrak kayu Akway (*Drymis* Sp)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kayu Akway tidak berpengaruh ($P>0.05$) dan cenderung menurunkan persentase abnormalitas spermatozoa mencit (Gambar 6). Kondisi ini diduga karena ekstrak kayu Akway juga mengandung tannin yang dapat bersifat toksik. Menurut Lu (1995), suatu toksikan dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik dan menyebabkan abnormalitas spermatozoa. Spermatozoa merupakan hasil akhir dari proses spermatogenesis, sehingga apabila proses ini dihambat atau dipengaruhi oleh suatu zat, maka spermatozoa yang dihasilkan juga mengalami gangguan yang dapat dilihat sebagai abnormalitas. Dengan demikian selain mempengaruhi spermatogenesis dan menurunkan kualitas spermatozoa, ekstrak temu putih juga mengakibatkan abnormalitas spermatozoa mencit.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak kayu Akway (*Drymis* Sp) memberikan pengaruh ($P<0.05$) terhadap peningkatan tudung akrosom utuh dan viabilitas serta tidak berpengaruh ($P>0.05$) terhadap motilitas, konsentrasi dan abnormalitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L).

DAFTAR PUSTAKA

Aditya D. S. 2006. Organ Reproduksi Dan Kualitas Sperma Mencit (*Mus Musculus*) Yang Mendapat Pakan Tambahan Kemangi (*Ocimum Basilicum*) Segar.

Program Studi Teknologi Produksi Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

- Aku A. S, Srimarsina, Takdir S. 2009. Pengaruh testis dan cauda epididimis terhadap konsentrasi spermatozoa sapi Bali. [https://Www.Researchgate.Net/Profile/Sai li_Takdir/Publication/259849490_Pengaruh_Berat_Testis_Dan_Cauda_Epididimis_Terhadap/Links/00b4952e237fad485a000000/Pengaruh-Berat-Testis-Dan-Cauda-Epididimis-Terhadap.Pdf](https://Www.Researchgate.Net/Profile/Sai%20li_Takdir/Publication/259849490_Pengaruh_Berat_Testis_Dan_Cauda_Epididimis_Terhadap/Links/00b4952e237fad485a000000/Pengaruh-Berat-Testis-Dan-Cauda-Epididimis-Terhadap.Pdf)
- Anwar P. Y. S. Ondho dan D. Samsudewa. 2015. Kualitas Membran Plasma Utuh Dan Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa Sapi Bali Dipreservasi Suhu 5 C Dalam Pengencer Ekstrak Air Tebu Dengan Penambahan Kuning Telur. *Agromedia*. 33(1): 53-63.
- Ashfahani E. D, Ngurah I. W, A.A.S.A Sukmaningsih, 2010. Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus Musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma Zedoaria* (Berg.) Roscoe.). *Jurnal Biologi* 14(1):20-23.
- Ashok, P., B. Meenakshi. 2004. Contraceptive Effect Of *Curcuma longa* (L.) in Male Albino Rat. *Asian Journal Andrology*. 6(1):71-74
- Björndahl I, Söderlund I, Johansson S, Mohammadieh M, Pourian M. R, Kvist U. 2004. Why the WHO recommendation for eosin-Nigrosin staining techniques for human sperm vitality assessment must change. *J. Androl* 25(5): 671– 678.

- Cepeda G. N., Meike M. L., Isak S., 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Kayu Akway (*Drimys Piperita* Hook F.) Terhadap Bakteri Patogen. *Agritech* 35(2):170-117.
- Cepeda, G.N. 2008. Daya hambat akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Agrotek* 1(3): 41-50.
- Fitriani, Kartini E., Widya S. 2010. The Effect of Cigarettes Smoke Exposed Causes Fertility of Mile Mice (*Mus musculus*). *Jurnal Natural*. 10(2):12-17.
- Hafez, E.S. E. 2000. *Reproduction in Farm Animal*. 7 th. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Harborne I. B. 2005. *Metode Fitokimia*. ITB. Bandung.
- Jensen, N.R., M. D. Zuccarelli, S. J. Patton, S. R. Williams, S. C. Ireland, dan K. D. Cain. 2008. *Cryopreservation and Methanol Effects on Burbot Sperm Motility and Egg Fertilization*. Volume 70. American Fisheries Society.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Edisi Kedua. Penerjemah: Nugroho, E. Jakarta: UI
- Paliling B. T. 2004. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional oleh masyarakat suku sougb di Kampung Sururey Distrik Sururey Kabupaten Manokwari. Fakultas Kehutanan. Universitas Papua. Manokwari
- Rahayu, M., Sunarti, S., Sulistiarini, D. dan Prawirodmojo, S. 2006. Pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional oleh masyarakat lokal di Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. *Biodiversitas* 7(3): 245-250.
- Rosida L, 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kloform Akar Pasak Bumi terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Mencit Jantan. *Jurnal Obat Bahan Alam* 6 (1): 20-26.
- Rugh R. 1967. *The Mouse Its Reproduction and Development*. Minneapolis: Burgess.
- Santoso, B.B., Lensee, O.N., J.Sadsoeitoeboen, M., Syah, Y.M., and Achmad, S.A. 2005. Pemberdayaan Keragaman Hayati Kabupaten Manokwari sebagai Tumbuhan Obat : Kajian Etnobotani, Botani dan Fitokimia. Prosiding Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XIV dengan tema "Kimia Bahan Alam untuk Indonesia" di Bandung 1617 Desember 2004. Bandung, Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia, pp. 88-100. Salisbury G. W. and N. L. Van DeMark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Terjemahan R. Djanuar. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sitepu S. A dan Putra A. 2017. Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis pada Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Post-Thawing Sapi Simmental. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 19(3):145 – 151.
- Stanier, M.W. dan M. Forsling.1990. *Physiological Processes: An Introduction to Mammalian Physiologi*. Mc Graw-Hill Book Company. England.
- Stevens, P.F. 2015. Angiosperm phylogeny website: <http://www.mobot.org/mobot/Research/Apiweb/orders/canellalesweb.htm>.
- Valcarcel, A., M.A. De Las Heras, L. Perez, D.F. Moses and H. Baldassarre. 1997. Assessment of the acrosomal status of membrane-intact ram spermatozoa after freezing and thawing by simultaneous lectin/Hoechst 33258 staining. *Anim. Reprod. Sci.* 45: 299-309.