

PERBANDINGAN EFEK EKSTRAK ETANOL PURWOCENG (*Pimpinella pruatjan*)
DENGAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL PURWOCENG (*Pimpinella pruatjan*)
DAN ZINC TERHADAP PENINGKATAN JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT
(*Mus musculus*) GALUR *Swiss Webster*

COMPARISON EFFECT OF PURWOCENG (*Pimpinella pruatjan*) ETHANOL
EXTRACT WITH PURWOCENG (*Pimpinella pruatjan*) ETHANOL EXTRACT AND
ZINC COMBINATION ON ENHANCEMENT OF
Swiss Webster MICE (Mus musculus) SPERM

Diana Krisanti Jasaputra¹, Sri Utami Sugeng² Willy Yahya³

¹Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,

²Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,

³Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha

Jalan Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

ABSTRAK

Latar belakang Infertilitas merupakan masalah klinis mayor yang memengaruhi manusia. Lima belas persen pasangan di Amerika Serikat mengalami infertilitas dengan dua puluh lima persen dari faktor laki-laki. Purwoceng dan *Zinc* banyak digunakan dan diteliti untuk memecahkan masalah infertilitas.

Tujuan penelitian adalah (1) menilai efek ekstrak etanol purwoceng terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit; (2) Menilai efek kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit; (3) Menilai efek kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit dibandingkan pemberian ekstrak etanol purwoceng.

Metode penelitian longitudinal prospektif dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang bersifat komparatif, menggunakan 24 ekor mencit. Mencit dibagi empat kelompok yang diberi ekstrak etanol purwoceng dosis 32 mg/kgBB (kelompok 1), kombinasi ekstrak etanol purwoceng dosis 32 mg/kgBB mencit dengan 0,13 mg serbuk *Zinc* (kelompok 2), akuabidestilata sebagai kontrol negatif dan ekstrak tribulus sebagai kontrol pembanding. Perhitungan spermatozoa menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*. Analisis statistik menggunakan ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey *HSD* dengan $\alpha = 0.05$.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan sangat bermakna antara kelompok perlakuan 1 dan 2 dengan kontrol negatif. Kelompok perlakuan 1 berbeda sangat bermakna dibandingkan kelompok perlakuan 2.

Simpulan penelitian bahwa ekstrak etanol purwoceng dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit secara berbeda sangat bermakna lebih baik dibandingkan peningkatan oleh kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc*.

ABSTRACT

Infertility is major clinical problem which impact human. Fifteen percent of couples in the United State were infertile, which twenty five percent of them were male. Purwoceng and Zinc are often used and researched to solve infertility problem.

The purpose of this study is to (1) assess the effect of purwoceng ethanol extract on enhancement number of mice sperm; (2) assess the effect of purwoceng ethanol extract and Zinc on enhancement number of mice sperm; (3) assess the comparison effect of purwoceng ethanol extract and Zinc combination on enhancement of mice sperm, with purwoceng ethanol extract only.

This study used longitudinal prospective experimental with complete randomized design which was comparative to Complete Random Design (CRD), with twenty four mice as the subjects. Mice were divided into four groups which were given 32 mg/kg purwoceng ethanol extract (group 1), combination of 32 mg/kg purwoceng with 0.13 mg Zinc powder (group 2), distilled water as negative control and tribulus extract as comparative control. Sperm counting used Neubauer improved counting chamber. Statistical analysis used one way ANOVA followed by Tukey HSD test with $\alpha = 0.05$.

The result showed highly significant difference between group 1 and 2 than negative control group. Group 1 has highly significant difference than group 2. The conclusion of this research is purwoceng ethanol extract can enhance mice sperm production highly significant better than enhancement by purwoceng ethanol extract and Zinc combination.

PENDAHULUAN

Infertilitas adalah suatu kondisi ketika suatu pasangan suami istri tidak mampu untuk hamil setelah 1 tahun berhubungan seksual secara teratur minimal 2-3 kali seminggu tanpa menggunakan alat kontrasepsi. Istilah infertilitas juga digunakan untuk mendeskripsikan wanita yang dapat hamil tetapi tidak berhasil untuk melahirkan janin (1). Pada dasarnya, ada beberapa hal yang diperlukan agar terjadi suatu kehamilan yakni: tubuh wanita harus melepaskan telur dari ovariumnya, sperma pria harus bersatu dengan telur (fertilisasi), telur yang terfertilisasi harus melalui tuba fallopi menuju uterus (rahim), telur yang terfertilisasi harus menempel pada bagian dalam uterus (implantasi). Infertilitas dapat terjadi bila terdapat masalah pada 1 atau beberapa langkah tersebut.

Paradigma masyarakat mengenai infertilitas sering dikaitkan dengan kondisi wanita. Dari data penelitian *National Survey of Family Growth* tahun 2002, 7,5% pria yang berusia lebih muda dari 45 tahun yang melakukan hubungan seksual, dilaporkan telah memeriksakan diri ke dokter ahli infertilitas (3,3-4,7 juta orang). Pria yang mencari bantuan medis, 18% terdiagnosis dengan masalah infertilitas, termasuk masalah sperma atau semen (14%) dan varikokel (6%) (2).

Infertilitas pada pria dapat disebabkan oleh berbagai macam hal. Secara garis besar, infertilitas dapat dikelompokkan sebagai berikut: masalah pada produksi sperma, penyaluran sperma yang terhambat, antibodi sperma, masalah seksual dan masalah hormonal (3). Terapi untuk menghadapi infertilitas pada

pria dapat melalui pendekatan medik, bedah, atau *assisted reproductive therapies* tergantung pada penyebab yang mendasarinya (2).

Masyarakat Indonesia di beberapa daerah, secara turun temurun, telah menggunakan tanaman alami (herbal) untuk mengatasi infertilitas, antara lain purwoceng (*Pimpinella pruatjan*). Hal ini telah terbukti secara empirik di kalangan masyarakat. Bila dibandingkan dengan terapi bedah ataupun inseminasi buatan, pengobatan menggunakan herbal relatif mengeluarkan biaya yang jauh lebih kecil.

Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) merupakan tanaman merambat yang berasal dari dataran tinggi Dieng. Tanaman ini dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai "viagra tradisional". Dari penelitian sebelumnya, ekstrak etanol purwoceng terbukti menambah jumlah spermatozoa mencit (4).

Disisi lain, penggunaan mikro nutrien (*trace element*) sebagai terapi mulai dipergunakan. Salah satu yang dimanfaatkan adalah *zinc*. Zinc (Zn) merupakan mikro nutrien penting dalam kehidupan organisme, khususnya pada sistem reproduksi pria yang berperan dalam metabolisme hormonal, pembentukan dan motilitas sperma. Defisiensi elemen ini juga dikaitkan dengan impotensi dan penurunan kemampuan seksual (5). Menurut Wijaya (2012), kemungkinan peran Zinc dalam spermatogenesis adalah untuk mempertahankan fungsi enzim superoksida dismutase yang menetralsir radikal bebas.

Tribulus terrestris L. telah dipasarkan dalam bentuk produk jadi dan diindikasikan

untuk meningkatkan jumlah spermatozoa. Oleh karena itu, pada penelitian ini produk tersebut digunakan sebagai kontrol pembanding. Penelitian ini dirancang untuk melihat efek ekstrak etanol purwoceng dibandingkan dengan efek kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* terhadap jumlah spermatozoa mencit.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit Swiss Webster berumur 8 minggu yang diadaptasi selama 7 hari dalam suasana laboratorium. Mencit tersebut dibagi menjadi 4 kelompok yang diberi perlakuan ekstrak etanol purwoceng dosis 32 mg/kgBB (kelompok 1), kombinasi ekstrak etanol purwoceng dosis 16 mg/kgBB dan *Zinc* 0,13 mg/mencit (kelompok 2), tribulus dosis 1,625 mg/mencit sebagai kontrol pembanding (kelompok 3), dan akuabidestilata sebagai kontrol negatif

Tabel 4.1 Efek ekstrak etanol purwoceng, kombinasi purwoceng dan *Zinc*

dibandingkan dengan tribulus terhadap jumlah spermatozoa mencit

Mencit	Kelompok I (sel/ μ l)	Kelompok II (sel/ μ l)	Kelompok III (sel/ μ l)	Kelompok IV (sel/ μ l)
1	4980	2420	3440	1750
2	4330	2770	2840	1240
3	4270	2490	2880	1220
4	3130	3180	3440	1800
5	4050	3360	2740	2390
6	4190	2790	2990	2440
Rata-rata	4158,33	2835,00	3055,00	1806,67

Keterangan:

- Kelompok I : Mencit diberi ekstrak etanol purwoceng dosis 32mg/kgBB
- Kelompok II : Mencit diberi ekstrak etanol purwoceng dosis 16 mg/kgBB ditambah dengan serbuk *Zinc* dosis 0,13 mg per mencit
- Kelompok III : Mencit diberi tribulus dosis 1,625 mg per mencit sebagai kontrol pembanding
- Kelompok IV : Mencit diberi akuabidestilata sebagai kontrol negatif

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa kelompok I memiliki rata-rata konsentrasi spermatozoa tertinggi yang memberikan ekstrak etanol purwoceng dengan konsentrasi sebesar 4158,33 sel/ μ l. Kelompok dengan rata-rata konsentrasi yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain adalah kelompok IV yang hanya diberikan akuabidestilata, dengan konsentrasi sebesar 1806,67 sel/ μ l.

(kelompok 4). Setiap kelompok diberi perlakuan sebanyak 0,5cc setiap hari selama 1 minggu.

Setelah 1 minggu perlakuan, mencit dikorbankan dan bagian epididimis mencit diambil. Epididimis dihancurkan untuk pengambilan spermatozoa. Perhitungan spermatozoa dilakukan dengan *haemositometer* dan diamati dibawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian untuk menilai efek ekstrak etanol purwoceng terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit dan kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* telah dilakukan dengan hasil penelitian tampak pada tabel 4.1

Perbedaan antara kelompok perlakuan diuji menggunakan metode ANAVA satu arah dan didapatkan nilai $p < 0,01$. Hal ini berarti terdapat satu pasang kelompok perlakuan yang berbeda bermakna secara statistik. Kemudian dilakukan uji lanjut dengan metode Tukey *HSD* dengan hasil dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil uji beda rata-rata menggunakan metode Tukey *HSD* antar kelompok

Kelompok Perlakuan	I (4158,33)	II (2835,00)	III (3055,00)	IV (1806,67)
I (4158,33)		**	**	**
II (2835,00)			TB	**
III (3055,00)				**
IV (1806,67)				

Keterangan:

- Kelompok I : Mencit diberi ekstrak etanol purwoceng dosis 32mg/kgBB
- Kelompok II : Mencit diberi ekstrak etanol purwoceng dosis 16 mg/kgBB ditambah dengan serbuk *Zinc* dosis 0,13 mg per mencit
- Kelompok III : Mencit diberi tribulus dosis 1,625 mg per mencit sebagai kontrol pembanding
- Kelompok IV : Mencit diberi akuabidestilata sebagai kontrol negatif
- Kelompok IV : Mencit diberi akuabidestilata sebagai kontrol negatif selama 7 hari
- ** : Berbeda sangat bermakna
- TB : Tidak berbeda bermakna

Tabel 4.2 menunjukkan hasil uji beda rata-rata menggunakan metode Tukey *HSD*, kelompok I yang diberi ekstrak etanol purwoceng 32mg/kgBB selama 7 hari menunjukkan hasil berbeda sangat bermakna dibandingkan dengan kelompok III yang merupakan kelompok kontrol pembanding ($p < 0,01$) dan dengan kelompok IV yang merupakan kelompok kontrol negatif ($p < 0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat peningkatan jumlah spermatozoa yang bermakna pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol purwoceng dibandingkan dengan kelompok kontrol pembanding maupun negatif.

Kelompok II yang diberi kombinasi ekstrak etanol purwoceng 16 mg/kgBB dan *Zinc* 0,13 mg per mencit selama 7 hari menunjukkan hasil tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok III yang merupakan kelompok kontrol pembanding ($p > 0,05$), sedangkan bila dibandingkan terhadap kelompok IV yang merupakan kelompok kontrol negatif, menunjukkan hasil berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok II dan III, serta terdapat peningkatan jumlah spermatozoa yang sangat bermakna antara kelompok II dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol purwoceng mampu meningkatkan jumlah spermatozoa (4158,33 sel/ μ l) dibandingkan dengan kontrol negatif yang diberi akuabidestilata tunggal (1806,67 sel/ μ l). Peningkatan spermatozoa diduga berkaitan dengan peningkatan aktivitas testosteron.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Taufiqurrachman (1999) menyebutkan bahwa pemberian 50 mg ekstrak akar purwoceng dapat meningkatkan kadar hormon LH dan testosteron dibandingkan dengan kelompok kontrol. Menurut Taufiqurrachman, peningkatan kadar LH disebabkan oleh kandungan sitosterol pada purwoceng yang menstimuli kelenjar hipofisis anterior tanpa mempengaruhi sekresi FSH.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Juniarto (2004) dengan pemberian 25mg/2ml purwoceng dan 25mg/2ml pasak bumi pada tikus *Sprague dawley* selama 53 hari mampu meningkatkan jumlah spermatozoa secara berbeda bermakna dari kelompok kontrol. Menurut Juniarto, peningkatan tersebut disebabkan oleh kandungan *eurikomolakton* dan *amarolinda* yang dapat meningkatkan sekresi LH dan FSH dengan cara memperbaiki afinitas membran reseptor sel hipofise anterior. Komponen ini juga memperbaiki afinitas membran reseptor sel dan juga terhadap enzim 5- α reduktase yang berperan mengubah testosteron menjadi dehidrotesteron. Elvin (2012) melaporkan bahwa penggunaan 32 mg/kgBB purwoceng mampu meningkatkan spermatozoa mencit *Swiss webster* yang diberikan paparan gelombang elektromagnetik ponsel dibandingkan dengan kelompok kontrol. Elvin (2012:39) menjelaskan "Stress oksidatif yang akan terjadi dapat diantisipasi oleh

adanya antioksidan, sedangkan laju spermatogenesis dapat jalan dengan baik dengan adanya stimulasi dari stigmaterol yang bekerja mirip dengan testosteron.”

Kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* (2835,00 sel/ μ l) menunjukkan peningkatan jumlah spermatozoa dibandingkan dengan kontrol negatif (1806,67 sel/ μ l), tetapi terdapat perbedaan sangat bermakna bila dibandingkan dengan pemberian ekstrak etanol purwoceng tunggal (4158,33 sel/ μ l). Dengan demikian pemberian ekstrak etanol purwoceng tunggal lebih baik dibandingkan dengan kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc*. Penambahan *Zinc* pada ekstrak etanol purwoceng diharapkan memberi efek akumulatif dalam meningkatkan spermatozoa pada mencit. Hal ini didasari pada penelitian oleh Yamaguchi, et al. (2009) yang menyelidiki peran *Zinc* dalam spermatogenesis belut Jepang (*Anguilla japonica*) menyebutkan bahwa *Zinc* berperan dalam mempertahankan dan mengatur spermatogenesis dan motilitas spermatozoa. Menurut Wijaya (2012), kemungkinan peran *Zinc* dalam spermatogenesis adalah untuk mempertahankan fungsi enzim superoksida dismutase yang menetralsir radikal bebas. Selain itu, *Zinc* dilaporkan meningkatkan kadar testosteron yang berfungsi untuk menstimulasi produksi sperma baik secara kuantitas maupun struktural (Falana, 2012).

Pemberian kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* (2835,00 sel/ μ l) memberikan hasil yang berbeda sangat bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif (1806,67 sel/ μ l). Pada penelitian ini, dosis ekstrak etanol purwoceng dengan pemberian tunggal yang digunakan merupakan adaptasi dari penelitian Elvin (2012) tentang efek protektif ekstrak etanol purwoceng terhadap radiasi gelombang elektromagnetik ponsel dengan dosis sebesar 32 mg/kgBB, sedangkan dosis ekstrak etanol purwoceng dalam bentuk kombinasi besarnya setengah dari bentuk tunggalnya. Peneliti berpendapat bahwa pemberian setengah dosis ekstrak etanol purwoceng yang dikombinasi dengan *Zinc* mampu memberikan efek akumulatif dan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian ekstrak etanol purwoceng dosis tunggal. Dosis *Zinc* diperhitungkan dari konversi dosis yang digunakan untuk manusia yaitu 0,13 mg/mencit/hari. Hasil perbandingan antara pemberian ekstrak etanol purwoceng secara tunggal dengan ekstrak etanol purwoceng bentuk kombinasi dengan *Zinc* memberikan hasil yang

berbeda sangat bermakna. Dengan demikian pemberian ekstrak etanol purwoceng secara tunggal lebih baik dibandingkan dengan bentuk kombinasinya. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis ekstrak etanol purwoceng dalam bentuk kombinasi dengan *Zinc* yang digunakan belum mampu menimbulkan efek farmakologik yang maksimal. Faktor-faktor yang menyebabkan timbulnya efek farmakologik adalah konsentrasi substansi yang beredar dalam tubuh, jumlah reseptor, dan afinitas reseptor yang mengikat suatu substansi (Juniarto, 2004). Selain itu, hasil yang tidak maksimal mungkin karena peningkatan kadar testosteron oleh purwoceng dan *Zinc* yang menyebabkan kadar testosteron dalam darah tinggi dan memberikan *feedback* negatif pada hipotalamus dan hipofisis anterior yang mungkin berdampak pada turunnya kadar testosteron dan spermatogenesis.

Tribulus terrestris L. telah dipasarkan dalam bentuk produk jadi dan diindikasikan untuk meningkatkan jumlah spermatozoa. Oleh karena itu, pada penelitian ini produk tersebut digunakan sebagai kontrol pembanding. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian efek ekstrak etanol purwoceng secara tunggal (4158,33 sel/ μ l) lebih baik dibandingkan produk jadi yang mengandung *Tribulus terrestris* L. dalam meningkatkan jumlah spermatozoa (3055,00 sel/ μ l). Hal ini menunjukkan bahwa efek ekstrak etanol purwoceng memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan dengan *Tribulus terrestris* L.

SIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini adalah :

- Ekstrak etanol purwoceng meningkatkan jumlah spermatozoa mencit.
- Kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* meningkatkan jumlah spermatozoa mencit.
- Kombinasi ekstrak etanol purwoceng dan *Zinc* meningkatkan jumlah spermatozoa mencit tidak lebih baik dibandingkan pemberian ekstrak purwoceng tunggal.

DAFTAR PUSTAKA

- 1 National Institute of Child Health and Human Development. National Institute of Child Health and Human Development. [Online].; 2012 [cited 2014 January. Available from: <http://www.nichd.nih.gov/health/topics/infertility/conditioninfo/Pages/default.aspx>.
- 2 Center for Disease Control and Prevention. Center for Disease Control and Prevention. [Online].; 2013 [cited 2014 January. Available from: <http://www.cdc.gov/reproductivehealth/Infertility/>.
- 3 Andrology Australia. Andrology Australia. [Online].; 2012 [cited 2014 January. Available from: <https://www.andrologyaustralia.org/reproductive-problems/male-infertility/>.
- 4 E. Efek Protektif Ekstrak Etanol Herba Purwoceng (*Pimpinella alpina*) Terhadap Radiasi Gelombang Elektromagnetik Ponsel dengan Parameter Konsentrasi Spermatozoa pada Mencit. 2012.
- 5 Falana BA, Oyeyipo LP. Selenium and Zinc Attenuate Lead-Induced Reproductive Toxicity in Male Sprague-Dawley Rats. *Research Journal of Medical Sciences* 6. 2012;; p. 66, 67.
- 6 Taufiqurrachman. Pengaruh Ekstrak *Pimpinella alpina* Molk. (purwoceng) dan Akar *Eurycoma longifolia* Jack. (pasak bumi) terhadap Peningkatan Kadar Testosteron, LH dan FSH serta Perbedaan Peningkatannya pada Tikus Jantan Sprague dawley. Semarang;; 1999.
- 7 Juniarto AJ. Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Ekstrak *Eurycoma longifolia* dan *Pimpinella alpina* pada Spermatogenesis Tikus Spraque Dawly. 2004;; p. 1,2.
- 8 Yamaguchi S, Miura C, Kikuchi K, Cellno FT, Agus T, Tanabe S, et al. Zinc is an essential trace element for spermatogenesis. *Proceedings of National Academy of Sciences*. 2009 Juni 30; 106: p. 10859-10864.
- 9 Wijaya DI. Efek Pemberian Suplemen Zinc yang Beredar di Indonesia Terhadap Motilitas dan Jumlah Spermatozoa Mencit Swiss Webster. 2012.