

## EFEK SPERMATISIDA EKSTRAK BIJI LAMTORO GUNG TERHADAP KUALITAS SPERMA MANUSIA *IN VITRO*

Rina Priastini\* dan Flora Rumiati\*\*

### *Abstract*

*From previous works it has been conformed that lamtoro gung seed (Leucaena leucocephala) has antifertility effect on male reproductive function of rabbit. But up to date it is still unknown whether mimosine or sitosterol has the same effect. The purpose of this study is to know the effect of the lamtoro gung seed extract on sperm quality in vitro.*

*A sample of 30 normozoospermia semen was taken where each of them were divided into 5 groups : L1 (control group), L2, L3, L4 and L5 were treated with 0.5%, 1.0%, 2.0% and 4.0% dose of lamtoro gung seed extract consecutively.*

*The result shows that lamtoro gung seed extract has spermicide effect where it can decrease the quality of the sperm i.e : motility and viability of the sperm. The significant effect was reached in those of 2.0% and 4.0% doses.*

*Key Words : motility, viability, lamtoro gung seed, spermicide*

### **Pendahuluan**

Danutirto (1984) mengungkapkan bahwa sampai saat ini penyediaan bahan baku kontrasepsi di Indonesia hampir seluruhnya berasal dari luar negeri.<sup>2</sup> Dalam upaya memenuhi kebutuhan tersebut perlu dicari jenis tanaman yang tumbuh di Indonesia yang berpotensi sebagai bahan kontrasepsi. Hal ini mengingat Indonesia kaya akan sumber daya tanaman obat, sehingga mempunyai peluang untuk memperoleh bahan kontrasepsi laki-laki yang berasal dari tanaman.

Menurut Suyono (1985), di Indonesia terdapat 52 jenis tanaman yang diduga dapat bersifat antifertilitas.<sup>8</sup> Salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia dan diduga dapat bersifat antifertilitas adalah tanaman lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*). Dalam biji lamtoro gung mengandung senyawa mimosin yang bersifat toksik (terhadap hepar dan ginjal), dan fitosterol (sterol yang diekstrak dari tanaman).

---

\* Dosen Departemen Biologi, FK. Ukrida

\*\* Dosen Departemen Fisiologi, FK. Ukrida

## Efek Spermatisida .....

Dari penelitian terdahulu pada kelinci yang dilakukan oleh Priastini dkk (2001), diketahui bahwa ekstrak biji lamtoro gung mempunyai sifat antifertilitas *post coital* yang cukup tinggi.<sup>4</sup>

Di sisi lain, diketahui bahwa mekanisme kerja suatu zat antifertilitas terhadap fungsi reproduksi laki-laki secara *in vitro* dapat digolongkan menjadi tiga lokasi, yaitu pre-testikular, testikular dan post-testikular.<sup>9</sup> Selain secara *in vitro*, gangguan terhadap spermatozoa juga bisa terjadi dengan cara penggunaan kontrasepsi dalam bentuk karet KB (kondom).

Sehubungan dengan hal tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak biji lamtoro gung yang diberikan pada semen manusia secara *in vitro* dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Beberapa parameter kualitas spermatozoa yang akan diteliti adalah motilitas (gerakan progresif dari spermatozoa) dan viabilitasnya (keabnormalan bentuk spermatozoa).

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah memberi bahan informasi bagi masyarakat umum dan para ahli andrologi khususnya, maupun ahli di bidang lain untuk bisa menggali lebih banyak lagi informasi-informasi lain yang berkaitan dengan tanaman lamtoro gung melalui penelitian-penelitian lebih lanjut.

## Bahan dan Cara Kerja

### Bahan

Biji lamtoro gung yang sudah tua (berwarna coklat kehitaman) pada umumnya mengandung mimosin yang lebih tinggi dibandingkan dengan biji lamtoro gung yang masih muda.

Semen normozoospermia diambil dari 30 laki-laki sebagai volunteer yang dinyatakan sehat. Sampel semen segar diperoleh dengan cara masturbasi setelah abstinensi paling sedikit tiga hari dari pengeluaran semen terakhir. Semen ditampung dalam botol kaca yang bersih dan bermulut lebar. Kriteria semen yang dipakai, yaitu mempunyai volume lebih besar atau sama dengan 2 ml, kecepatan gerak sperma lebih kecil atau sama dengan 1.2 detik/0.05 mm, dan jumlah sperma lebih besar atau sama dengan 20 juta/ml.

### Cara Kerja

Ekstrak biji lamtoro gung dilakukan dengan cara mengambil 2 kg biji lamtoro gung yang sudah tua dan dikeringkan, ditumbuk dan kemudian diayak. Serbuk biji

lamtoro gung dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan dididihkan dengan menggunakan pendingin balik, serta menggunakan pelarut petroleum eter (selama 3x2 jam). Filtrat yang didapat dikumpulkan dan dipekatkan, kemudian dilakukan penyabunan dengan menggunakan larutan KOH 8% di dalam metanol, dan dididihkan dengan menggunakan pendingin balik selama 2 jam. Hasil penyabunan ditambah dengan air suling (5 kali volume), kemudian disaring. Residu dipanaskan dengan menggunakan pendingin balik dan menggunakan pelarut eter, kemudian disaring dan filtrat dikumpulkan. Filtrat dari hasil penyabunan diekstraksi dengan eter dan menggunakan corong pisah, fasa eter dikumpulkan, ditambah dengan natrium sulfat. Filtrat dikumpulkan dan dijadikan satu dengan filtrat hasil ekstraksi dari residu, kemudian diuapkan, dibuat suspensi dengan menggunakan pelarut akuades.

Misalnya untuk konsentrasi 4.0% ekstrak biji lamtoro gung, sebanyak 4.0 gram ekstrak dilarutkan dalam 100 ml akuabides. Selanjutnya untuk membuat dosis/konsentrasi yang lebih kecil dibuat dengan cara pengenceran.

### **Rancangan Penelitian**

Penelitian dilakukan dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) atau *Completely Randomized Design* (CRD), dengan jumlah ulangan sama. Setiap sampel semen yang memenuhi syarat normozoospermia, disentrifugasi dengan kecepatan 1.000 rpm selama 10 menit. Pelet yang diperoleh di-adjust dalam medium Hanks. Kemudian suspensi pelet dibagi dalam lima kelompok, masing-masing 1 ml dimasukkan dalam tabung *microcentrifuge*. Selanjutnya suspensi dalam keempat tabung tersebut disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1.000 rpm selama 10 menit.

Kelima kelompok pelet yang diperoleh dari tiap-tiap sampel, satu kelompok digunakan untuk kontrol dan keempat kelompok lainnya untuk perlakuan. Adapun kelima kelompok yang dimaksud adalah :

- I. Kelompok Kontrol (L1), terdiri atas pelet  $\pm$  100 ul medium Hanks
- II. Kelompok Perlakuan I (L2), terdiri atas pelet  $\pm$  100 ul ekstrak biji lamtoro gung konsentrasi 0.5%
- III. Kelompok Perlakuan II (L3), terdiri atas pelet  $\pm$  100 ul ekstrak biji lamtoro gung konsentrasi 1.0%
- IV. Kelompok Perlakuan III (L4), terdiri atas pelet  $\pm$  100 ul ekstrak biji lamtoro gung konsentrasi 2.0%

## Efek Spermatisida .....

V. Kelompok Perlakuan IV (L5), terdiri atas pelet  $\pm$  100 ul ekstrak biji lamtoro gung konsentrasi 4.0%

Dari masing-masing kelompok spermatozoa tersebut, kemudian dilakukan pengukuran terhadap kualitas spermatozoa, yaitu :

- a. Motilitas spermatozoa, dengan menghitung jumlah spermatozoa motil yang progresif (dalam persen)
- b. Viabilitas spermatozoa, dengan menghitung jumlah spermatozoa yang abnormal (dalam persen) dengan pewarnaan apus Eosin

## Analisis Data

Data yang diperoleh dari tiap-tiap kelompok dalam penelitian ini dievaluasi secara statistik yaitu meliputi data persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa yang abnormal. Jika sebaran data menunjukkan distribusi normal dan variance yang homogen, maka dilakukan uji Anova satu arah. Sebaliknya, kalau sebaran data tidak normal atau tidak homogen digunakan uji non parametrik Friedman dan uji *Critical Range*.

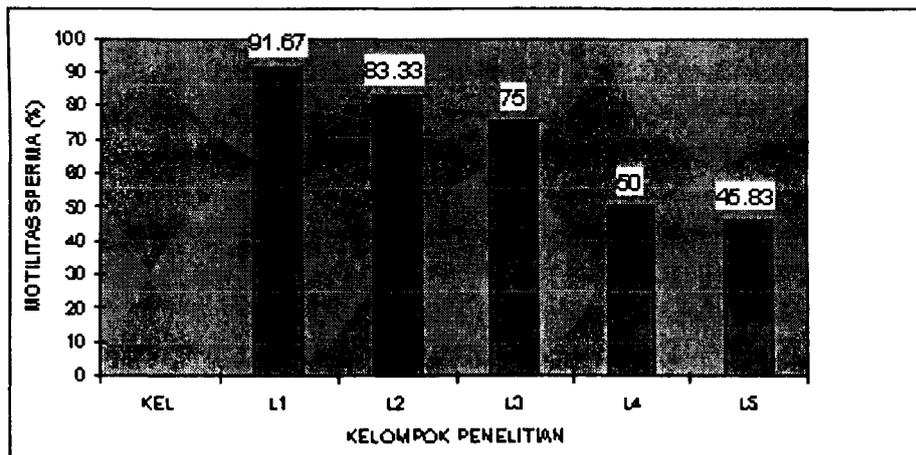
## Hasil Penelitian

### Motilitas Spermatozoa

Motilitas (daya gerak) spermatozoa dijadikan sebagai standar atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen. Gelombang-gelombang sperma yang berenang dalam arah yang sama merupakan suatu ciri khas semen yang belum diencerkan bila dilihat di bawah mikroskop. Kecepatan pergerakan sperma bervariasi sesuai dengan kondisi lingkungan, di mana pada suhu 37o C kecepataannya dapat berkisar antara 30-75 mikron per detik.<sup>1</sup>

Walaupun kecepatan sperma tidak cukup untuk menelusuri saluran kelamin perempuan sampai mencapai tempat pembuahan di tuba Faloppii, namun motilitas atau pergerakan sperma sendiri mungkin memegang peranan penting sewaktu pertemuannya dengan ovum. Pada umumnya terdapat korelasi yang cukup baik antara motilitas dan kapasitas fertilisasi.<sup>10</sup>

Rata-rata persentase spermatozoa motil pada kelompok L1, L2, L3, L4 dan L5 masing-masing adalah sebesar 91.67%, 83.33%, 75.00%, 50.00% dan 45.83% (Gambar 1).



Gambar 1. Diagram Rata-Rata Persentase Spermatozoa Motil (Motilitas) Kelompok Kontrol Dan Kelompok Perlakuan Ekstrak Biji Lamtoro Gung

Dari Gambar 1 tersebut dapat diketahui adanya penurunan persentase spermatozoa motil pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perhitungan secara statistik dengan uji statistik Anova satu arah menunjukkan ada perbedaan yang sangat bermakna di antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

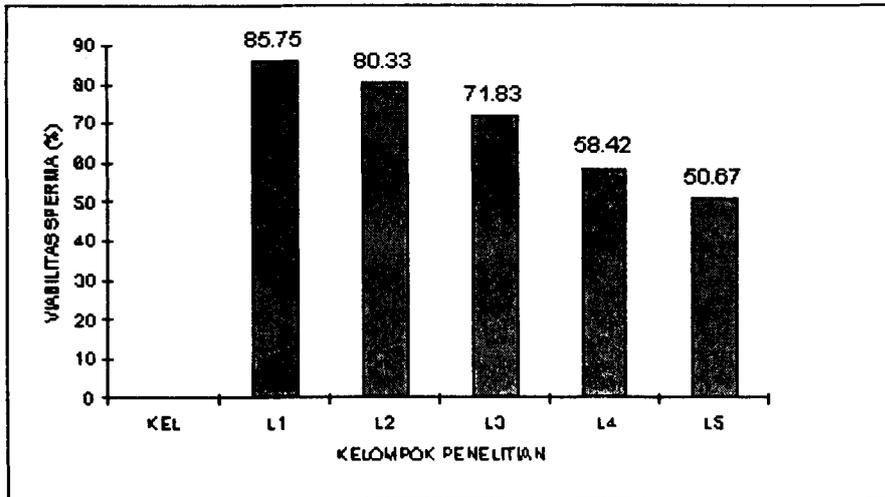
Selanjutnya dengan uji BNT diketahui penurunan motilitas spermatozoa mulai terjadi pada kelompok L4 (ekstrak biji lamtoro gung 2.0%), sedangkan kelompok L2 (ekstrak biji lamtoro gung 0.5%) dan kelompok L3 (ekstrak biji lamtoro gung 1.0%) tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ( $p > 0.05$ ). Selain itu diketahui pula, bahwa antara kelompok L2 dengan kelompok L3 dan kelompok L5 (ekstrak biji lamtoro gung 4.0%) menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna ( $p < 0.01$ ).

### Viabilitas Spermatozoa

Penghitungan sperma yang hidup dan mati perlu dinilai secara kritis. Zat warna atau teknik pewarnaan yang kurang baik sangat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Suatu kejadian necrospemia yang tinggi berhubungan dengan motilitas dan fertilitas yang rendah. Akan tetapi motilitas yang rendah dapat berkaitan dengan persentase sperma yang hidup dan normal yang tergantung pada sebab rendahnya motilitas, dapat disertai oleh fertilitas yang normal atau bahkan rendah.

## Efek Spermatisida .....

Nilai rata-rata persentase spermatozoa yang hidup dan normal (viabilitas) dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan L2, L3, L4 dan L5 masing-masing adalah sebesar 85.75%, 80.33%, 71.83%, 58.42% dan 50.67% (Gambar 2).



Gambar 2. Diagram Rata-Rata Persentase Viabilitas Spermatozoa Kelompok Kontrol Dan Kelompok Perlakuan Ekstrak Biji Lamtoro Gung

Sebagaimana halnya terhadap motilitas, maka pemberian ekstrak biji lamtoro gung ternyata dapat juga menyebabkan terjadinya penurunan terhadap nilai rata-rata viabilitas spermatozoa. Penghitungan secara statistik dengan uji Anova satu arah menunjukkan adanya perbedaan sangat bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ekstrak biji lamtoro gung.

Selanjutnya dari hasil uji BNT diketahui, penurunan terhadap viabilitas spermatozoa mulai terjadi pada kelompok L4 (ekstrak biji lamtoro gung 2.0%). Dalam hal ini terdapat perbedaan yang sangat bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok L4 (ekstrak biji lamtoro gung 2.0%) dan kelompok L5 (ekstrak biji lamtoro gung 4.0%) ( $p < 0.01$ ), demikian juga halnya antara kelompok L2 dan L3 dengan kelompok L4 dan kelompok L5 juga terdapat perbedaan sangat bermakna ( $p < 0.01$ ). Sebaliknya antara kelompok kontrol dengan kelompok L2 dan L3 tidak berbeda bermakna ( $p > 0.05$ ).

## Pembahasan

Analisis terhadap 1.600 ekstrak tanaman menunjukkan bahwa 30 ekstrak tanaman mempunyai efek spermatisida pada tikus, dan 16 ekstrak tanaman menyebabkan immotilitas spermatozoa manusia.<sup>7</sup> Selain itu, bahan kontrasepsi yang berasal dari tanaman sudah lama diketahui dan digunakan oleh ibu-ibu di kampung dan desa untuk menjarangkan kehamilan, sebagai suatu warisan nenek moyang yang masih berlangsung sampai sekarang.

Dari beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa biji dan daun tanaman lamtoro mengandung berbagai zat yang diduga berpengaruh terhadap sistem reproduksi, antara lain mimosin dan sterol.

Purwaningsih (1995) telah pula melakukan penelitian efek spermatisida dari 10 merk atau jenis kondom yang beredar di pasaran terhadap kualitas spermatozoa *in vitro*. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa, kondom jenis atau merk Ktx dan YO3 memiliki efek spermatisida yang cukup besar dan dapat menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa hampir mencapai 0%.<sup>5</sup>

Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan kemudian timbul masalah, yaitu pada konsentrasi berapa persen ekstrak biji lamtoro gung memiliki efek spermatisida yang sama dengan efek spermatisida dari jelly kondom yang telah beredar di pasaran.

Penurunan kualitas spermatozoa akibat pemberian ekstrak biji lamtoro gung mungkin disebabkan oleh adanya zat aktif dalam biji lamtoro gung yang bersifat toksisitas atau mempunyai efek spermatisida terhadap spermatozoa. Sebagaimana telah disebutkan oleh Sethi dan Kulharni (1995) bahwa biji lamtoro gung mengandung kira-kira 10% mimosin yang dapat bersifat sitotoksis. Dalam hal ini, diduga senyawa mimosin yang dapat menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa *in vitro*.<sup>6</sup>

Dalam hal ini ada dugaan bahwa mimosin mengganggu aktivitas enzim ATP-ase yang ada dalam membran sel spermatozoa. Enzim ATP-ase ada di bagian tengah ekor (*mieddle piece*) spermatozoa dan berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion natrium dan kalium. Di samping itu, diketahui pula bahwa motilitas spermatozoa sangat bergantung pada komposisi kalium dan natrium.<sup>3</sup>

Jika pernyataan Grady dan Nelson (1976) tersebut benar, maka dapat diduga bahwa senyawa mimosin dapat menyebabkan potensial membran spermatozoa berubah, dan akhirnya dapat menurunkan motilitas spermatozoa manusia. Namun demikian, hal ini masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

## Efek Spermatisida .....

Efek sitotoksis senyawa mimosin yang ada di dalam biji lamtoro gung juga dapat dilihat dari meningkatnya persentase sperma yang abnormal. Beberapa struktur yang diamati adalah bentuk ekor sperma yang melingkar, bentuk ekor yang bengkok dan putusnya ekor dari kepala sperma.

Dari hasil penelitian yang diperoleh dalam pengukuran motilitas dan viabilitas spermatozoa menunjukkan bahwa penurunan persentase terhadap kedua parameter penelitian tersebut sudah dimulai pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak biji lamtoro gung 2.0%. Sedangkan konsentrasi ekstrak biji lamtoro gung 4.0% memberikan pengaruh yang paling besar dibandingkan ketiga kelompok perlakuan lainnya.

Hal ini berarti bahwa zat yang dikandung dalam biji lamtoro gung mempunyai efek spermatisida, dan yang paling besar pengaruhnya adalah konsentrasi 4.0%. Namun demikian, nilai penurunan kualitas spermatozoa pada dosis tersebut belum mencapai nilai nol sebagaimana halnya yang diharapkan pada cara kontrasepsi laki-laki, khususnya dalam bentuk spermatisida di dalam kondom.

## Kesimpulan

Dari hasil penelitian terhadap 30 pria normozoospermia yang diambil semennya, dapat disimpulkan sebagai berikut : penurunan persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa terjadi pada percobaan dengan ekstrak biji lamtoro gung konsentrasi 2.0% dan 4.0%. Pada ekstrak biji lamtoro gung konsentrasi 4.0% efek spermatisidanya paling besar, terutama terhadap motilitas sperma dan tingkat keabnormalitas struktur sperma manusia secara in vitro.

## Kepustakaan

1. Baker, V., Daniel, W., and Meddis, R. 1957. *Cell and molecular biology*. Philadelphia : Saunders College.
2. Danutirto, H. 1984. *Prospek industri farmasi bahan baku obat sintetik*. *Dinamika Farmasi* 5 : 53.
3. Grady, A.V. and Nelson, L. 1972. *Cationic influences on sperm biopotential*. *Exp. Cell Res.* 73 : 192 - 195.
4. Priastini, R., Winata, S.D., Gunardi, W.D., dan Hartono, B. 2001. *Efek spermatisida ekstrak biji lamtoro gung terhadap kualitas sperma kelinci in vitro*. Laporan Penelitian Lembaga Penelitian Universitas Kristen Krida Wacana Jakarta.

5. Purwaningsih, E. 1995. *Efek spermatisida ekstrak daun kembang sepatu (Hibiscus rosa sinensis L.) terhadap kualitas sperma manusia in vitro*. Jurnal Kedokteran YARSI 8 (3) : 13 - 18.
6. Sethi, P. and Kulharni, P. R 1995. *Leucaena leucocephala a nutrition profile*. *Food and Nutrition Bulletin*. Printed from Internet.
7. Setty, N., Nath, D., Singh, R.K., and Jain, A.K. 1977. *Commonly used Indian abortifacient plants with special reference to their teratologic effects in rats*. Journal of Ethnol. Pharmacol. 36 : 147 -154.
8. Suyono, H. 1985. *Pokok-pokok arahan kepala BKKBN tentang kebijaksanaan pemerintah dalam pelaksanaan kontrasepsi di Indonesia*. KONAS III PANDI.
9. Tadjudin, M.K. 1986. *Cara keluarga berencana hormonal pada pria*. Prosiding KONAS I Perkumpulan Endokrinologi Indonesia.
10. Toelihere, M. 1977. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Angkasa Bandung.