

Efek Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Akar Saluang Balum (*Lavanga Sarmentosa* (Blume) Kurz) terhadap Aktivitas Afrodisiaka dan Spermatogenesis pada Tikus Hiperglikemia

Effect of Ethanol Extract and Fractions of Saluang Balum Root Lavanga Sarmentosa (Blume) Kurz on Aphrodisiac Activity and Spermatogenesis in Hyperglycemia Rats

Febriandi Ramadhan Dwiannur^{1*}, Jason Merari Peranginangin², Opstaria Saptarini³

^{1,2,3} Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia

Abstract

High blood glucose levels or hyperglycemia can increase reactive oxygen species (ROS). Complications of secondary diabetes mellitus in the form of sexual dysfunction and impaired fertility in men. This is one of the causes of decreased sexual desire and sperm count, which can cause infertility in men. Saluang balum root (*Lavanga sarmentosa* (Blume) Kurz) with flavonoid, steroid, and tannin compounds is a traditional medicine that has the potential as an aphrodisiac and spermatogenesis. The purpose of this study was to obtain a histological picture of the seminiferous tubules, a decrease in blood glucose levels, aphrodisiac activity, and spermatogenesis. This study used 35 male wistar rats which were divided into 7 groups, normal group, negative control (CMC Na 1%), positive control (pasak bumi), ethanol extract of saluang balum root at a dose of (225 mg/kgBW), n-hexane fraction. (19.81 mg/kgBW), ethyl acetate fraction (64.5 mg/kgBW) and water fraction (140.67 mg/kgBW). All of these groups were induced by alloxan (100 mg/kgBW), except the normal group. The extracts and fractions were given for 14 days, then observed a decrease in blood glucose levels, aphrodisiacs, spermatogenesis and histological features in the seminiferous tubules. The results showed that the extract and fractions of saluang balum root had reduced blood glucose levels, aphrodisiac and spermatogenesis in hyperglycemic rats.

Keywords: aphrodisiac, saluang balum root, sexual dysfunction, spermatogenesis

Article history:

PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:

info@salnesia.id, jika@salnesia.id

Phone:

+62 85255155883

Submitted 25 November 2023

Accepted 30 Agustus 2024

Published 31 Agustus 2024



Abstrak

Tingginya kadar glukosa darah atau hiperglikemi dapat mengakibatkan tingginya reactive oxygen species (ROS) di dalam tubuh. Tingginya reactive oxygen species (ROS) di dalam tubuh tersebut dapat memicu komplikasi sekunder berupa disfungsi seksual dan gangguan kesuburan pada pria. Hal inilah yang menjadi salah satu penyebab penurunan gairah seksual dan jumlah sperma, sehingga dapat menyebabkan infertilitas pada pria. Akar saluang balum (*Lavanga sarmentosa* (Blume) Kurz) dengan kandungan senyawa flavonoid, steroid, dan tannin adalah obat tradisional yang berpotensi sebagai afrodisiaka dan spermatogenesis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan gambaran histologi pada tubulus seminiferus, penurunan kadar glukosa darah, aktivitas afrodisiaka, dan spermatogenesis. Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus putih jantan galur wistar yang dibagi menjadi 7 kelompok, yaitu kelompok normal, kontrol negatif (CMC Na 1%), kontrol positif (pasak bumi), ekstrak etanol akar saluang balum dosis 225 mg/kgBB, fraksi n-heksana (19,81 mg/kgBB), fraksi etil asetat (64,5 mg/kgBB) dan fraksi air (140,67 mg/kgBB). Semua kelompok tersebut diinduksi aloksan (100 mg/kgBB), kecuali kelompok normal. Ekstrak dan fraksi diberikan selama 14 hari, kemudian dilihat penurunan kadar glukosa darah, afrodisiaka, spermatogenesis dan gambaran histologi pada tubulus seminiferus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok ekstrak dan fraksi-fraksi akar saluang balum mempunyai aktivitas sebagai afrodisiaka, spermatogenesis, dan mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemia.

Kata Kunci: afrodisiaka, akar saluang balum, disfungsi seksual, spermatogenesis

*Penulis Korespondensi:

Febriandi Ramadhan Dwiannur, email: rdfebriandi@gmail.com



This is an open access article under the **CC-BY** license

PENDAHULUAN

Diabetes ialah gangguan metabolisme yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (PERKENI, 2015). Hal ini terjadi ketika kadar glukosa dalam darah meningkat karena tubuh tidak dapat memproduksi cukup insulin atau menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif (Ding *et al.*, 2015; Vignera *et al.*, 2015; Maresch *et al.*, 2017). Tingginya kadar glukosa darah atau hiperglikemi dapat mengakibatkan tingginya *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) di dalam tubuh. Pembentukan ROS terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi dan ekskresi antioksidan dalam tubuh, serta akumulasi ROS di jaringan dapat menyebabkan stres oksidatif. Hal ini dapat mengganggu respirasi sel kemudian merusak membran mitokondria dan berpotensi menyebabkan hilangnya fungsi membran mitokondria (Inoue *et al.*, 2016; Vignera *et al.*, 2015). Hal tersebut menyebabkan kebocoran transmembran, depolarisasi membran dan proses apoptosis. ROS yang berlebihan pada sperma memicu jalur apoptosis intrinsik akibat kerusakan yang diinduksi dan mengurangi produksi sperma akibat penurunan produksi hormon (Ko *et al.*, 2014; Victor *et al.*, 2015). Hal inilah yang menjadi salah satu penyebab penurunan jumlah sperma atau oligozoospermia saat ejakulasi, yang pada akhirnya menyebabkan infertilitas pada pria (Ko *et al.*, 2014).

Salah satu tanaman obat yang memiliki keunggulan dalam pengobatan tradisional dan dimanfaatkan oleh masyarakat Kalimantan Tengah adalah akar tanaman saluang balum. Secara empiris menunjukkan bahwa akar tanaman saluang balum digunakan

sebagai afrodisiaka. Adanya efek tersebut meningkatkan pencarian bahan alami yang dapat mengobati penderita libido rendah tanpa efek samping. Tanaman ini digunakan oleh masyarakat Dayak sebagai obat tradisional untuk penyembuhan, ginjal dan vitalitas. Akar dan batang tanaman saluang balum positif mengandung flavonoid dan steroid. Steroid adalah salah satu komponen testosteron yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik. Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor *Phosphodiesterase 5*, sehingga dapat mempengaruhi aktivitas perilaku seksual tikus jantan yang diberi akar saluang balum (Musfirah et al., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme yang berhubungan dengan penyakit diabetes melitus melalui studi *in vivo* dan menjelaskan efek perbaikan tanaman obat terutama pada disfungsi reproduksi pria akibat diabetes melitus. Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti akan melakukan mengenai aktivitas afrodisiaka dan peningkatan spermatogenesis ekstrak etanol dan fraksi-fraksi akar saluang balum (*Lavanga sarmentosa* (Blume) Kurz) pada tikus hiperglikemia.

METODE

Penelitian dilakukan selama 8 bulan (Maret - Oktober 2022) di Laboratorium Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta. Penelitian ini menggunakan bagian akar dari tanaman saluang balum (*Lavanga sarmentosa* (Blume) Kurz) yang diperoleh dari Desa Tumbang Samba, Kalimantan Tengah. Bahan ekstraksi dan fraksinasi yaitu etanol 70%, *n*-heksana, etil asetat, dan aquadest. Bahan uji afrodisiaka dan spermatogenesis yaitu tikus galur wistar umur 3-4 bulan dengan berat badan rata-rata tikus 180-210. Alat yang digunakan adalah seperangkat alat bedah, bilik hitung *Neubauer*, dan mikroskop (Olympus Microscope Cx 21).

Kadar glukosa darah diperiksa menggunakan metode enzimatik yang sebelumnya diinduksi aloksan secara peritoneal. Kelompok normal tidak dilakukan induksi aloksan karena digunakan sebagai kelompok pembanding. Untuk mengukur kadar glukosa darah, digunakan alat Gluko-Dr® test, yang bereaksi secara spesifik dengan glukosa dalam darah. Jumlah darah yang diperlukan untuk pengukuran adalah antara 2,5-4,0 µL. Darah secara otomatis diserap oleh strip, kemudian setelah 10 detik hasil pengukuran dibaca oleh Gluko-Dr® test. Kadar glukosa darah dikategorikan hiperglikemi dengan kadar gula darah puasa ≥ 126 mg/dl (Saputra, 2018).

Penelitian ini memiliki izin kode etik dengan No.16/I/2022/Komisi Bioetik dari Komisi Etik Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pengamatan afrodisiaka dilakukan dengan berdasarkan parameter waktu mount pertama setelah terjadi pengenalan pertama (*Mount latency*), waktu yang diperlukan untuk pengenalan pertama sampai terjadi ejakulasi (*Intromission latency*), jumlah *mount* yang dilakukan oleh tikus jantan dengan atau tanpa intromisi dari saat introduksi hingga ejakulasi (*Mount Frequency*), sebagai jumlah intromission dari saat pengenalan wanita sampai ejakulasi oleh tikus jantan (*Intromission frequency*), dan jumlah ejakulasi dari waktu pengenalan tikus betina ke jantan dalam interval waktu tertentu (30 menit) (*Ejaculation frequency*), sedangkan spermatogenesis berdasarkan parameter bobot testis, jumlah sperma, viabilitas, motilitas, dan morfologi.

Pengamatan histologi dilakukan pada hari ke-15, tikus pada semua kelompok dislokasi pada tulang leher. Selanjutnya dibedah untuk membuka isi perut sampai nampak organ testis, *vas deferens*, prostat, dan *vesikula seminalis*. Setelah dipisahkan

dari jaringan lain selanjutnya organ testis kanan, ditimbang, dan difiksasi pada 10% v/v larutan formalin. Dua hari kemudian, testis yang difiksasi dalam larutan formalin 10% dipotong melintang untuk mendapatkan preparat histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin* (Meyer) eosin. Preparat diperiksa menggunakan alat mikroskop pada perbesaran 400x. Sel dihitung dari rata-rata 9 lapang pandang histologi testis: 3 lapang pandang bagian bawah, 3 lapang pandang bagian tengah dan 3 lapang pandang bagian atas sediaan histopatologi testis. Jumlah sel spermatogenik yaitu spermatid, spermatisid dan spermatogonia dihitung dan dirata-rata untuk setiap kelompok.

Hasil uji afrodisiaka dan spermatogenesis dianalisis untuk menentukan apakah data parametrik atau non-parametrik, normalitas dan homogen data diperiksa terlebih dahulu. $P > 0,05$ menunjukkan distribusi normal dan homogenitas setiap varian; jika P kurang dari 0,05, data diuji secara nonparametrik. Uji *Kruskal-Wallis* dapat digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan antar perlakuan, dan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95% dapat digunakan jika ada perbedaan signifikan jika data terdistribusi tidak normal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar glukosa dalam darah yang tinggi yang dapat diindikasikan sebagai diabetes mellitus. Diabetes adalah penyakit kronis serius yang terjadi ketika pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur gula darah atau glukosa) atau tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya. Kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan penelitian ini diperoleh dengan cara pemberian aloksan.

Tabel 1 menunjukkan bahwa peningkatan kadar glukosa terjadi pada hari ke-7 (H7) dan ke-14 (H14) disebabkan kerusakan sel beta pankreas setelah pemberian aloksan. Hasil uji statistik menunjukkan kelompok ekstrak etanol dan fraksi-fraksi memiliki perbedaan terhadap kelompok kontrol negatif, hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas penurunan kadar glukosa darah. Pada kelompok kontrol positif tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Kelompok ekstrak etanol tidak memiliki perbedaan terhadap kelompok kontrol positif dan kelompok fraksi-fraksi. Sehingga pada penelitian ini antar kelompok kontrol positif, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air tidak memiliki beda nyata atau memiliki aktivitas yang sama terhadap penurunan kadar glukosa darah.

Aktivitas antihiperglikemia tersebut diduga berasal dari senyawa aktif flavonoid dan tanin. Flavonoid mempunyai efek antidiabetes dengan cara mengatur metabolisme glukosa berada di hepatosit, meningkatkan sekresi insulin, dan meningkatkan ambilan glukosa di otot rangka dan jaringan adiposa (Lavle *et al.*, 2016). Flavonoid bekerja dengan menghambat transporter glukosa tergantung natrium (SGLT1), sehingga dapat membatasi masuknya glukosa bebas ke sistem. Enzim glukogenik juga dapat dihambat oleh flavonoid untuk menurunkan laju glukoneogenesis, yang melibatkan biosintesis glukosa dari sumber nonkarbohidrat. Selain itu, flavonoid juga sebagai antioksidan yang memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas, flavonoid mampu untuk meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel melalui penggunaan GLUT4, yang berkontribusi pada pengurangan glukosa bebas dalam sistem (Afroz *et al.*, 2016; Fransisca *et al.*, 2018).

Tabel 1. Aktivitas penurunan kadar glukosa darah

Kelompok	Rata-rata kadar glukosa darah tikus (rata-rata±SD)				Aktivitas antihiperqlikemia (%)
	(H0) T0	(H7) T1	(H14) T2	AUC total	
Normal	91,00±6,51	93,20±10,84	90,80±5,76	1288,7±113,12	-
CMC Na	95,20±7,82	234,60±14,24	308,20±5,45	3054,1±169,80 ^a	0
Pasak bumi	95,60±6,11	217,20±8,57	105,80±9,50	2225,3±496,81 ^a	27,14
Ekstrak	98,00±9,30	223,40±14,12	107,40±5,18	2282,7±83,68 ^a	25,26
Fraksi <i>n</i> -heksana	88,60±15,50	226,60±36,14	102,00±8,51	2253,3±214,42 ^a	26,22
Fraksi etil asetat	96,40±12,86	239,60±12,70	97,40±11,13	2355,5±103,08 ^a	22,87
Fraksi air	102,40±7,89	227,20±10,64	125,60±9,15	2388,4±74,27 ^a	21,8

Sumber: Data primer, 2022

Tanin memiliki potensi antihiperqlikemia karena kemampuannya menurunkan kadar glukosa darah dengan menunda penyerapan glukosa usus dan pada jaringan sensitif insulin. Selanjutnya, menunda timbulnya diabetes melitus dengan mengatur lingkungan antioksidan sel β pankreas (Sieniawska, 2015).

Mount latency didefinisikan sebagai waktu *mount* pertama setelah terjadi pengenalan pertama. Hasil pengamatan *mount latency* pada kontrol negatif memiliki skor yang tertinggi. Artinya kelompok kontrol negatif mempunyai waktu yang lama untuk mencapai *mount* pertama kali. Hasil yang diperoleh dari pengamatan *mount latency* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kategori skor hasil *mount latency* dalam waktu 30 menit

Kelompok		waktu (menit)	Skor
Normal	rata-rata	2,96	0,84 ^b
	SD	23,19	8
CMC Na	rata-rata	26,29	10
	SD	2,68	1,14
Pasak bumi	rata-rata	5,10	2,4
	SD	2,79	1,14
Ekstrak	rata-rata	7,53	3 ^a
	SD	1,68	0,7
<i>n</i> -heksana	rata-rata	17,67	6,4 ^{ab}
	SD	1,94	0,5
Etil asetat	rata-rata	14,41	5,4 ^{ab}
	SD	2,86	0,89
Fraksi air	rata-rata	23,78	8,4 ^a
	SD	2,99	1,14

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Berdasarkan Tabel 2 tersebut, terjadi peningkatan waktu terhadap *mount latency* pertama kali pada kelompok perlakuan. Secara statistik *mount latency* pada kontrol normal, *n*-heksana dan etil asetat terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan kelompok fraksi *n*-heksana dan etil asetat

memiliki pengaruh terhadap *mount latency*. Sedangkan pada kelompok ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Pengaruh lama waktu *mount latency* disebabkan karena faktor hormonal tikus, perawatan dan kondisi kandang (Sulistiawan, 2017).

Intromission latency adalah waktu yang diperlukan untuk pengenalan pertama sampai terjadi ejakulasi. Hasil pengamatan *intromission latency* didapatkan skor yang paling tinggi ialah kontrol negatif, menunjukkan kelompok kontrol negatif mempunyai waktu yang lama untuk mencapai pengenalan pertama kali.

Tabel 3. Kategori skor hasil *intromission latency* dalam waktu 30 menit

Kelompok		waktu (menit)	Skor
Normal	rata-rata	23,34	8,40
	SD	2,71	1,14
CMC Na	rata-rata	28,45	10,60
	SD	1,61	0,55
Pasak bumi	rata-rata	7,71	3,20
	SD	3,98	1,10
Ekstrak	rata-rata	10,87	4,20 ^a
	SD	2,74	1,10
<i>n</i> -heksana	rata-rata	21,68	7,80 ^{ab}
	SD	2,62	0,84
Etil asetat	rata-rata	17,08	6,20 ^{ab}
	SD	3,46	1,30
Fraksi air	rata-rata	27,32	10,20
	SD	1,99	0,84

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Hasil uji statistik *intromission latency* antara kelompok fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Berarti kelompok fraksi *n*-heksana dan etil asetat memiliki pengaruh terhadap *intromission latency*. Selain itu, kelompok ekstrak menunjukkan beda yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Pengaruh lama waktu *intromission latency* disebabkan karena faktor hormonal tikus, perawatan dan kondisi kandang (Sulistiawan, 2017). *Mount frequency* didefinisikan sebagai jumlah mount yang dilakukan oleh tikus jantan dengan atau tanpa intromisi dari saat introduksi hingga ejakulasi

Tabel 4. Hasil *mount frequency* dalam waktu 30 menit

	Kelompok						
	Normal	CMC Na	Pasak bumi	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Rata-Rata	8,8 ^a	1,2	12,8	13,2 ^a	9,6 ^a	11,2 ^a	8,6 ^a
SD	2,77	1,79	3,70	4,21	2,19	2,28	2,07

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Berdasarkan Tabel 4 di atas didapatkan hasil analisis SPSS bahwa terdapat beda yang signifikan antara dua kelompok kontrol, yaitu kelompok kontrol normal terhadap kelompok pemberian kontrol negatif. Pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan signifikan terhadap semua kelompok perlakuan. Sedangkan pada kontrol positif tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan. Hal tersebut menunjukkan kelompok perlakuan mempunyai aktivitas afrodisiaka berupa peningkatan jumlah mount pertama mendekati kontrol positif.

Intromission frequency didefinisikan sebagai jumlah intromission dari saat pengenalan wanita sampai ejakulasi oleh tikus jantan. Hasil uji statistik pada Tabel 5 menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol normal terhadap kelompok kontrol negatif. Pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok fraksi air. Sedangkan pada kelompok kontrol positif menunjukkan tidak terdapat perbedaan terhadap kelompok perlakuan. Ekstrak etanol dan fraksi-fraksi menunjukkan adanya aktivitas afrodisiaka berupa peningkatan jumlah pengenalan hampir sama terhadap kontrol positif.

Tabel 51. Hasil *intromission frequency* dalam waktu 30 menit

	Kelompok						
	Normal	CMC Na	pasak bumi	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Rata-rata	7,2 ^a	0,8	10,6	7,6 ^a	6,8 ^a	7 ^a	6,2
SD	1,30	1,30	4,16	2,41	1,64	1,58	1,92

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Ejaculation frequency adalah jumlah ejakulasi dari waktu pengenalan tikus betina ke jantan dalam interval waktu tertentu (30 menit). Berdasarkan Tabel 6 di atas, frekuensi ejakulasi tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif dan terendah pada kelompok kontrol negatif. Hasil uji statistik kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol positif, ekstrak dan fraksi etil asetat akar saluang balum.

Tabel 6. Hasil *ejaculation frequency* dalam waktu 30 menit

	Kelompok						
	Normal	CMC Na	Pasak bumi	ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi air
rata-rata	0,4	0	0,8	0,6	0,4	0,6	0,2
SD	0,55	0,00	0,45	0,55	0,55	0,55	0,45

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Pada penelitian ini dapat diketahui adanya peningkatan perilaku seksual pada tikus jantan. Hal ini karena terdapat senyawa aktif di ekstrak dan fraksi akar saluang balum seperti flavonoid, steroid dan tanin. Flavonoid merupakan senyawa yang dapat meningkatkan kualitas sperma untuk mempengaruhi aktivitas afrodisiaka. Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor *Phosphodiesterase 5*. Flavonoid berfungsi meningkatkan

hormon testosteron dan perilaku seksual dengan cara meningkatkan aliran darah ke testis dan meningkatkan produksi NO di Medial Preoptic Area (MPOA).

Steroid adalah hormon peningkat *dehydroepiandrosterone* dan dapat mempengaruhi perilaku seksual. Sehingga dapat mempengaruhi aktivitas perilaku seksual tikus jantan yang diberikan ekstrak dan fraksi akar saluang balum. Senyawa tanin diduga berperan sebagai antioksidan sekunder karena mampu untuk menunda oksidasi dan menangkal radikal bebas (Fithriani *et al.*, 2015; Sieniawska, 2015).

Hasil aktivitas spermatogenesis yang pertama adalah pengamatan bobot testis pada tikus dilakukan dengan cara menimbang berat testis kemudian dibagi berat badan tikus. Menunjukkan kontrol positif memiliki rasio berat yang paling tinggi, sedangkan rasio berat terendah pada kelompok kontrol negatif. Hasil perhitungan berat testis dapat dilihat berikut ini.

Tabel 7. Rasio rata-rata bobot testis

	Kelompok						
	normal	CMC Na	pasak bumi	ekstrak	n-heksana	etil asetat	air
Rata-rata	0,0159	0,0144	0,0190	0,0185	0,0153	0,0159	0,0146
SD	0,0029	0,0020	0,0015	0,0018	0,0028	0,0019	0,0020

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Hasil statistik menunjukkan kelompok normal tidak berbeda signifikan terhadap semua kelompok perlakuan. Kelompok ekstrak dan fraksi mengalami peningkatan rasio bobot testis. Hal itu menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi akar saluang balum mampu melakukan perbaikan terhadap *tubulus seminiferus* yang mengalami kerusakan.

Untuk menghitung jumlah sperma menggunakan bilik hitung Neubauer. Setelah bagian cauda epididimis dilukai, pipet hematokrit digunakan untuk menghisap sperma yang keluar. Bilik hitung Neubauer dipenuhi dengan satu tetes suspensi sperma. Selanjutnya, hitung berapa banyak kepala sperma yang masuk ke lima bilik hitung. Nutrisi adalah faktor yang dapat memengaruhi jumlah dan kualitas sperma.

Tabel 82. Jumlah rata-rata sperma

	Kelompok						
	normal	CMC Na	pasak bumi	ekstrak	n-heksana	etil asetat	Air
Rata-rata (x10⁶)	150,72 ^{ab}	112,00	201,72	186,64 ^a	179,84 ^{ab}	181,92 ^a	175,88 ^{ab}
SD	8,66	2,24	1,33	3,72	1,80	2,94	4,41

Keterangan :

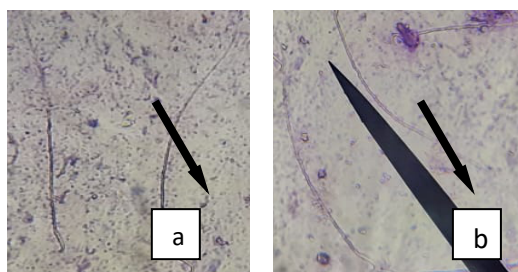
a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi akar saluang balum mengalami peningkatan jumlah sperma. Peningkatan yang paling tinggi pada kontrol positif sedangkan penurunan jumlah sperma terendah pada kontrol negatif. Terjadi peningkatan jumlah sperma pada kelompok perlakuan yang dipengaruhi kandungan senyawa akar saluang balum. Sehingga, mampu memperbaiki kualitas jumlah sperma.

Hasil statistik menunjukkan kelompok kontrol positif berbeda signifikan terhadap

kelompok fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Pada kelompok ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki beda yang signifikan terhadap kontrol negatif. Sehingga menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dapat mempengaruhi dan memperbaiki kualitas jumlah sperma.



Gambar 1. (a) Sperma mati dan (b) sperma hidup

Viabilitas sperma diamati dengan menggunakan preparat sperma yang diwarnai dengan eosin 1 % dan negrosin 10 %. Viabilitas ditentukan oleh adanya perbedaan warna pada sel spermatozoa. Sperma yang masih hidup berwarna terang sedangkan sperma yang mati memiliki warna ungu.

Tabel 9. Jumlah rata-rata sperma hidup

Tikus	Kelompok						
	normal	CMC Na	pasak bumi	ekstrak	<i>n</i> -heksana	etil asetat	air
rata-rata	61,00 ^{ab}	45,40	91,20	81,20 ^a	68,00 ^{ab}	74,80 ^{ab}	64,80 ^{ab}
SD	7,71	3,21	3,19	7,33	3,67	4,60	5,40

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Berdasarkan Tabel 9, jumlah sperma hidup tertinggi pada kelompok kontrol positif dan terendah pada kelompok kontrol negatif. Secara statistik kelompok kontrol positif menunjukkan beda yang signifikan terhadap kelompok fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Sedangkan pada kelompok ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air terdapat beda yang signifikan terhadap kontrol negatif. Hal ini menunjukkan kelompok perlakuan mampu mempengaruhi dan meningkatkan kualitas sperma yang hidup.

Motilitas sperma merupakan gerakan kecepatan yang ditunjukkan sperma. Motilitas sperma yang baik yaitu memiliki gerakan yang lincah, cepat, lurus, dan berirama. Progesivitas gerakan spermatozoa adalah factor menentukan proses fertilisasi spermatozoa dengan ovum (sel telur) (Han et al., 2019).

Tabel 10. Jumlah rata-rata motilitas sperma

	Kelompok						
	normal	CMC Na	pasak bumi	ekstrak	<i>n</i> -heksana	etil asetat	air
rata-rata	69,60 ^{ab}	45,20	91,80	84,20 ^a	78,40 ^a	82,20 ^a	66,20 ^{ab}
SD	4,62	5,40	3,56	6,38	11,87	6,98	3,56

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Peningkatan motilitas sperma pada pemberian ekstrak dan fraksi-fraksi akar saluang balum. Secara statistik kelompok kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol normal dan fraksi air. Sedangkan pada kelompok ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan kelompok perlakuan mampu mempengaruhi kualitas motilitas sperma.

Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengetahui kelainan bentuk sperma. Morfologi sperma dikatakan abnormal dengan adanya satu atau lebih bagian sperma yang abnormal (kepala, bagian tengah, ekor bulat, kepala kecil, ekor ganda) dan hasilnya dinyatakan dalam persen.

Tabel 113. Jumlah rata-rata morfologi sperma

	Kelompok						
	Normal	CMC Na	pasak bumi	ekstrak	<i>n</i> -heksana	etil asetat	air
rata-rata	62,80 ^{ab}	46,80	84,80	77,80 ^a	68,00 ^{ab}	72,60 ^{ab}	66,00 ^{ab}
SD	2,39	4,97	2,39	2,77	3,87	4,39	2,74

Keterangan :

a = berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

b = berbeda signifikan terhadap kontrol positif

Hasil pemeriksaan morfologi sperma didapatkan adanya peningkatan pada setiap kelompok perlakuan. Secara statistik kelompok kontrol positif memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Sedangkan pada kelompok ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air mempunyai perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif. Sehingga kelompok perlakuan mampu mempengaruhi dan meningkatkan kualitas morfologi sperma.

Tabel 12. Jumlah rata-rata sel spermatogenik pada *tubulus seminiferus*

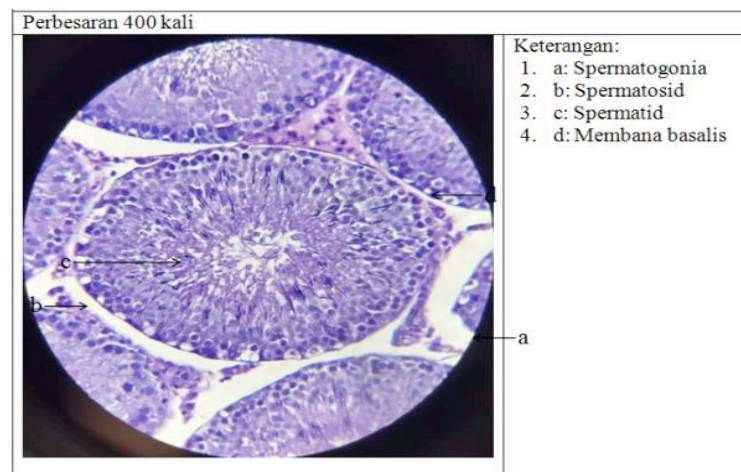
Jenis Sel	Normal	CMC Na	pasak bumi	ekstrak	<i>n</i> -heksana	etil asetat	Air
Spermatogonium	62,00±1,4 1	33,00±2,8 3	54,00±1,4 1	44,00±1,4 1	48,00±1,4 1	50,00±2,1 2	41,00±1,4 1
Spermatisid	99,50±1,1 2	46,00±2,8 3	84,00±5,5 6	53,50±2,12 12	57,50±2,12 12	65,50±2,1 2	49,00±1,4 1
Spermatid	89,50±0,7 1	27,00±4,2 4	79,00±1,4 1	58,50±2,1 2	62,50±3,54 54	66,00±1,4 1	30,50±2,1 2

Pemberian ekstrak dan fraksi akar saluang balum pada tikus jantan pada kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan pada kualitas sperma meliputi bobot testis, jumlah sperma, motilitas sperma, viabilitas sperma, dan morfologi sperma normal. Hal tersebut diduga karena adanya aktivitas dari senyawa flavonoid, steroid, dan tanin pada tanaman akar saluang balum. Steroid merupakan salah satu senyawa penyusun testosteron, sehingga steroid diduga mampu meningkatkan kadar testosteron, spermatozoa hidup, dan meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik (Musfirah *et al.*, 2016). Dengan mengurangi stres oksidatif, flavonoid meningkatkan parameter kesehatan sperma. Waterman *et al.* (2020), melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa daun kelor mengandung flavonoid, yang dapat meningkatkan kualitas sperma dengan meningkatkan konsentrasi, motilitas, dan viabilitas. Dengan memanfaatkan penangkapan radikal bebas dan melindungi DNA dan molekul penting

lainnya dari kerusakan oksidasi, aktivitas antioksidan dapat membantu meningkatkan kualitas sperma. Karena kemampuan tanin untuk mengkelat ion besi dan menunda oksidasi, serta untuk menghambat peroksidasi lipid dan melindungi radikal bebas, tanin dapat berfungsi sebagai antioksidan sekunder (Fithriani *et al.*, 2015; Sieniawska, 2015).

Berdasarkan pengamatan histologi, (Gambar 2), kelompok kontrol normal tidak mengalami perubahan di dalam *tubulus seminiferus*. *Tubulus seminiferus* terisi penuh oleh spermatid, spermatisid, dan spermatogonia. Data rata-rata jumlah sel spermatogenik diperoleh lebih tinggi dari kelompok lain. Hal ini menunjukkan bahwa proses spermatogenesis berjalan normal.

Pada kelompok kontrol negatif mengalami perubahan yang parah pada *tubulus seminiferus*. Terjadinya kerusakan tersebut disebabkan oleh peningkatan radikal bebas sehingga mengganggu proses sel-sel pembentuk spermatozoa. Radikal bebas adalah salah satu mekanisme utama dalam perkembangan disfungsi spermatogenik diabetes karena hiperglikemia dengan tingkat radikal bebas yang tinggi menginduksi kerusakan parah pada membran sperma, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid untuk menghasilkan MDA (Maresch *et al.*, 2017; Asadi *et al.*, 2017). Peroksidasi lipid adalah faktor terpenting dari disfungsi spermatogenik. Kerusakan testis diabetes dikaitkan dengan peningkatan MDA pada kelompok diabetes (Chen *et al.*, 2017).



Gambar 2. Histologi testis

Kerusakan terjadi pada sel-sel pembentuk spermatozoa dengan ditandai berkurangnya spermatogonia, spermatisid, dan spermatid, sehingga menunjukkan adanya gangguan pada proses spermatogenesis. Hal tersebut ditandai dengan jumlah rata-rata sel yang paling sedikit dibandingkan kelompok lain. Sementara pada kontrol positif terjadi perubahan tetapi tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok normal. Hasil jumlah rata-rata sel dalam *tubulus seminiferus* mendekati dari kelompok normal. Hal tersebut menunjukkan bahwa kontrol positif mampu melakukan perbaikan.

Saluang balum mengandung flavonoid, steroid, dan tanin dalam fraksi etanol, n-heksana, etil asetat, dan air akar. Diduga bahwa senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan untuk melindungi tubulus seminiferus dari stres oksidatif. Mekanisme spermatogenesis di tubulus seminiferus, yang dipengaruhi oleh sistem hormon, sangat memengaruhi kualitas sperma (Freitas *et al.*, 2017).

Menurut hasil penelitian Musfirah *et al.* (2016), menunjukkan bahwa ekstrak akar saluang balum mengandung flavonoid. Senyawa flavonoid dapat mempengaruhi produksi sperma dan kualitas sperma karena aktivitas antioksidannya. Secara umum,

antioksidan dapat mencegah *reactive oxygen species* (ROS) yang terbentuk sebagai akibat dari stres oksidatif. Aktivitas oksidatif ROS dihambat oleh antioksidan, sehingga memungkinkan sel-sel reproduksi berkembang menjadi sel-sel spermatis dan spermatid. Hal tersebut menyebabkan spermatozoa menjadi matang dan memenuhi *tubulus seminiferus*. *Tubulus seminiferus* yang dipenuhi spermatozoa mencerminkan adanya perbaikan terhadap proses spermatogenesis. Salah satu bahan penyusun testosteron ialah steroid yang memiliki kemampuan untuk mengubah proses spermatogenesis dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik (Musfirah *et al.*, 2016). Tanin mampu untuk mengkelat ion besi dan menunda oksidasi, yang membuatnya berfungsi sebagai antioksidan sekunder. Tanin juga memiliki kemampuan untuk mencegah peroksidasi lipid dan melindungi tubuh dari radikal bebas (Fithriani *et al.*, 2015; Sieniawska, 2015).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari akar saluang balum mempunyai aktivitas afrodisiaka dan spermatogenesis pada tikus putih. Diharapkan penelitian lebih lanjut terhadap organ ginjal dan hati, serta penelitian lanjutan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dari fraksi paling aktif dan aman pada akar saluang balum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada berbagai pihak, termasuk Laboratorium Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta sebagai lokasi penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Afroz R., Tanvir EM., Zheng WH., Little PJ. 2016. Molecular Pharmacology of Honey. *Journal of Clinical and Experimental Pharmacology*, 6(3): 1-13. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1459.1000212>
- Asadi N., Bahmani M., Kheradman A., Kopaei MR. 2017. The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and The Role of Antioxidants in Improving It: A Review. *Journal of Clinic Diagnostik Research*, 11(5): 1-5. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2017/23927.9886>
- Chen M., Chai F., Zha D., Wang Y., He Y., Huang Q., Zuang H. 2017. Astragaloside-Induced Cell Death is Caspase-Dependent and Enhances the Susceptibility of Lung Cancer Cells to Tumor Necrosis Factor by Inhibiting the NF- κ B Pathway. *Oncotarget*, 8(16): 26941-26958. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15264>
- Ding GL., Liu Y., Liu ME. 2015. The Effects of Diabetes on Male Fertility and Epigenetic Regulation During Spermatogenesis. *Asian Journal of Andrology*, 17(6): 948-953. <https://doi.org/10.4103/1008-682x.150844>
- Fithriani D., Amini S., Melanie S., Susilowati R. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* sp, *Chlorella* sp, dan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 10(2): 101-109. <http://dx.doi.org/10.15578/jpbkp.v10i2.222>
- Fransisca F., Kalangi GE., Candrasari DS., Hendra P. 2018. The Effect of Pasak Bumi Roots Towards Blood Glucose Level in Glucose-Loaded Mice. *Journal of*

- Pharmaceutical Sciences and Community, 15(1): 1-6. <https://e-journal.usd.ac.id/index.php/JFSK/article/view/965>
- Freitas MJ., Vhijayaraghvan S, Fardilha M. 2017. Signaling Mechanisms in Mammalian Sperm Motility. *Handbook Biology of Reproduction*, 96(1): 2-12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.144337>
- Han XX., Jiang YP., Liu N., Wu J., Yang JM., Xiang Y., Sun M. 2019. Protective Effects of Astragaloside on Spermatogenesis in Streptozotocin-Induced Diabetes in Male Mice by Improving Antioxidant Activity and Inhibiting Inflammation. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110: 561-570. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.012>
- IDF. 2019. *Diabetes Atlas Ninth Edition*. International Diabetes Federation.
- Inoue T., Murakami N., Ayabe T., Oto Y., Nichino I., Goto YI., Koga Y., Sakuta R. 2016. Pyruvate Improved Insulin Secretion Status in a Mitochondrial Diabetes Mellitus Patient. *Journal Clinic Endocrinol Metabolism*, 101(5): 1924-1926. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-4293>
- Ko EY., Sabanegh ES., Agarwal A. 2014. Male Infertility Testing : Reactive Oxygen Species and Antioxidant Capacity. *Fertil Steril*, 102(6): 1518-1527. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.020>
- Lavle N., Shukla P., Phancal A. 2016. Role of Flavonoids and Saponins in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*, 6(4): 535-541. <https://www.semanticscholar.org/paper/Role-of-Flavonoids-and-Saponins-in-the-Treatment-of-Lavle-Shukla/1842903c16bf916c518f29efa536ed1304c637e3>
- Maresch CC., Stute DC., Alves MG., Oliveira PF., Kretser DM., Linn T. 2017. Diabetes-Induced Hyperglycemia Impairs Male Reproductive Function: A Systematic Review. *Human Reproduction Update*, 24(1): 86-105. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx033>
- Musfirah Y., Bachri MS., Nurani LH. 2016. Efek Ekstrak Etanol 70% Akar Saluang Balum (*Lavanga Sarmentosa*, Blume kurz) terhadap Spermatogenesis dan Gambaran Histopatologik Testis Mencit. *Jurnal Pharmascience*, 3(2): 131-141. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience/article/view/5748>
- PERKENI. 2015. *Konsensus Pengendalian dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia.
- Saputra NT., Shuarta IN., Dharmayuda AG. 2018. Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. *Udayana Networking*, 10(2): 116-121. <https://udayananetworking.unud.ac.id/lecturer/publication/2911-i-nyoman-suartha/agen-diabetagonik-streptozotocin-untuk-membuat-tikus-putih-jantan-diabetes-mellitus-6605>
- Sieniawska E. 2015. Activities of Tannins-From in Vitro Studies to Clinical Trials. *Natural Product Communications*, 10(11): 1877-1884. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501001118>
- Sulistiawan WD. 2017. Uji Aktivitas Afrodisiak Ekstrak Etanol Kelopak Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffa* L.) terhadap Tikus Jantan Galur Wistar. [Skripsi]. Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
- Victor R., Bender D., Botham K., Kennelly P., Weil P. 2015. *Harper's Illustrated Biochemistry 30th Edition*. USA.
- Vignera S., Condorelli RA., Mauro MD., Presti DL., Mongjoi LM., Russo G., Calogero AE. 2015. Reproductive Function in Male Patients with Type 1 Diabetes Mellitus. *Andrology*, 3(6): 1082-1087. <https://doi.org/10.1111/andr.12097>

Watermann DP., Haber JE., Smolka MB. 2020. Checkpoint Responses to DNA Double-Strand Breaks. *Annual Review of Biochemistry*, 89: 103–133. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-011520-104722>