

Gambaran Histopatologis Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Telah Diberi Ekstrak Daun Senggugu (*Clerodendron serratum*)

Indra Rahmawati¹

¹Laboratorium Histologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
Indra_rachma07@yahoo.com

Abstrak

Telah ditemukan suatu senyawa dari daun senggugu (*Clerodendron serratum*) yang dapat bekerja sebagai anti fertilitas, yaitu propil kolesterol (C30 sterol, C30H50O). Pada penelitian ini diamati pengaruh pemberian ekstrak tersebut terhadap gambaran histopatologi testis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Tikus putih sejumlah 24 ekor dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kontrol (K) yang diberi aquadest, perlakuan 1 (P1) yang diberi ekstrak daun senggugu dosis 5%, perlakuan 2 (P2) yang diberi ekstrak daun senggugu dosis 15%, dan perlakuan 3 (P3) yang ekstrak daun senggugu dosis 25%. Perlakuan secara per oral diberikan setiap hari sebanyak 0,5 ml selama 28 hari. Hasil histopatologi testis dianalisis dengan metode skoring Johnsen, hasil menunjukkan terjadi penurunan kualitas spermatogenik pada tubulus seminiferus pada kelompok kontrol 20,17 skor, kelompok P1 14,92 skor, kelompok P2 8,25 skor, dan kelompok P3 6,67 skor. Gambaran histopatologis dengan metode *Kruskall-Wallis Test* hasil yang diperoleh adalah $P < 0.01$ yaitu adanya perbedaan sangat nyata pada kelompok kontrol dan perlakuan 1 (P1) terhadap kelompok perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3).

Kata kunci : Antifertilitas, senggugu, spermatozoa, testis, tikus putih

Pendahuluan

Pemeliharaan hewan kesayangan terutama anjing dan kucing meningkat dengan pesat. Anjing dan kucing tidak hanya dijadikan sebagai hewan penjaga rumah tetapi juga sudah dianggap sebagai bagian dari anggota keluarga. Memiliki beberapa ekor anjing dan kucing tentu sangat menyenangkan tetapi apabila populasi mereka meningkat secara tidak terkontrol akibat perkawinan yang tidak diinginkan tentu akan sangat merepotkan, sehingga perlu dilakukan pengendalian populasi misalnya dengan metode kontrasepsi. Pengendalian populasi hewan dengan menggunakan metode kontrasepsi selain untuk menurunkan jumlah populasi juga dimaksudkan untuk pencegahan penyakit zoonosis misalnya disebabkan karena hewan liar seperti tikus. Populasi tikus liar yang terlalu banyak sangat merugikan baik dari segi kesehatan dan segi ekonomi, terutama kepada para petani yang sering dirugikan akibat serangan hama tikus liar (Madyawati, *et al*, 2009). Menurut (Hartanto, 2002) metode kontrasepsi yang sering digunakan pada hewan adalah penyuntikan hormonal dan pengambilan organ kelamin utama (sterilisasi) seperti kastrasi dan ovariohisterektomi. Beberapa kendala pada metode sterilisasi adalah terjadinya infeksi pasca operasi, perubahan tingkah laku, dan obesitas. Perlu bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai antifertilitas yang aman, mudah diberikan, dan tetap memperhatikan kesejahteraan hewan.

Penggunaan tanaman tradisional sekarang semakin berkembang dengan dilakukan penelitian secara ilmiah. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah tanaman senggugu (*Clerodendron serratum*). Tanaman senggugu (*Cleodandrum serratum*) merupakan tanaman obat yang tumbuh di daerah tropis dan temperatur hangat. Tanaman ini banyak digunakan oleh masyarakat daerah Imogiri, Yogyakarta untuk praktek guruh yaitu menghilangkan lendir dan kotoran di saluran nafas, pencernaan, lubang hidung, dan mata (Patelet *et al.*, 2014).

Menurut Grainge and Ahmed (1988) yang menyatakan bahwa ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) diketahui mempunyai aktivitas *pest control antifertility* dan Viswanathan *et al.* (1999) yang melaporkan adanya efek antinosiseptik (anti kehamilan). Ekstrak daun senggugu (*Clerodendron serratum*) dapat menurunkan motilitas dan viabilitas, serta menaikkan abnormalitas spermatozoa (Julaeha *et al.*, 2008).

Penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak daun senggugu sebagai bahan obat antifertilitas sampai saat ini belum berkembang lagi. Oleh karena itu, menarik untuk diteliti lebih lanjut mengingat tanaman senggugu tumbuh subur di Indonesia dan berpotensi dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Penelitian ini, bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah diberikan ekstrak daun senggugu (*Clerodendron serratum*).

Materi dan Metode

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan jenis kelamin jantan, sebanyak 24 ekor, dengan kisaran umur 2-3 bulan dan berat badan 150-250 gram. Bahan yang digunakan adalah plasebo (aquadest), ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*), pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Khloroform digunakan untuk melakukan euthanasi sebelum dinekropsi dan Formalin 10% digunakan untuk mengawetkan sampel testis setelah dilakukan nekropsi sampai akan dibuat preparat.

Tikus putih jantan berusia antara 2-3 bulan yang sehat dengan berat badan 150- 200 gram dilakukan pengelompokan dengan skrining jenis kelamin, ras, berat badan, dan umur secara seragam. Tikus dengan berat badan hampir sama ditempatkan dalam satu kelompok perlakuan. Diupayakan demikian, agar mendapatkan hasil yang tidak berbeda jauh dalam satu kelompok perlakuan. Selanjutnya tikus dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol dengan 6 ekor tikus dan kelompok perlakuan yang terdiri dari perlakuan 1, 2, dan 3 yang masing-masing kelompok perlakuan terdapat 6 ekor tikus. Dilakukan adaptasi selama seminggu sebelum dilakukan perlakuan, setiap kelompok dipelihara dalam kandang terpisah diberi makan dan minum secara *adlibitum*. Kelompok kontrol tidak diberi perlakuan, hanya diberi aquadest. Kelompok P₁ diberikan ekstrak daun senggugu

5%, kelompok P2 diberikan ekstrak daun senggugu 15%, dan kelompok P3 diberikan ekstrak daun senggugu 25%.

Langkah awal dari perlakuan adalah pemberian induksi ekstrakdaun senggugu secara per oral menggunakan sonde sampai ke dalam lambung pada kelompok P1, P2, dan P3 di hari ke-8 setelah dilakukan adaptasi. Pemberian induksi ekstrak daun senggugusecara oral diberikan satu kali sehari selama 28 hari dan selama itu dilakukan pengamatan terhadap aktivitas hewan sebelum dan sesudah perlakuan yang meliputi gejala klinis, dan penurunan nafsu makan. Volumeekstrak daun senggugu diberikan secara oral sebanyak 1 ml yang merupakan volume yang boleh diberikan berdasarkan pada volume normal lambung tikus yaitu 3-5 ml. Jika volume ekstrak melebihi volume lambung, dapat berakibat dilatasi lambung secara akut yang dapat menyebabkan robeknya saluran cerna (Ngatidjan, 2006).

Setelah 28 hari mendapat perlakuan, maka hari ke 29 akan dilakukan euthanasia menggunakan khloroform secara inhalasi dan dinekropsi untuk semua populasi tikus. Kedua testis dikeluarkan, bagian cauda epididimis dipisahkan dan dibersihkan dari lemak-lemak yang masih menempel. Kemudian diambil organ testisnya dan dimasukkan ke dalam pot plastik ukuran 50 cc yang sudah diisi dengan formalin 10 %. Sampel testis kemudian dibuat menjadi preparat histopatologi di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dengan teknik pewarnaan *Haematoxylin dan Eosin* (HE).

Preparat histopatologi testis yang telah didapat kemudian dilakukan pengamatan di bawah mikroskop. Pengamatan untuk melihat perbedaan, antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing-masing preparat testis kemudian diamati dan dibaca pada 5 lapangan pandang secara acak dari kiri ke kanan. Pengamatan dan pembacaan preparat ini dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Pengamatan ini dilakukan untuk menilai tingkat kerusakan tubulus seminiferus. Hasil yang diperoleh kemudian didokumentasikan dan dilakukan metode skoring.

Kriteria yang digunakan untuk menilai tingkat kerusakan tubulus seminiferus adalah kriteria Skor Johnsen yang telah dimodifikasi berdasarkan perhitungan kuantitas dengan penilaian 1-10. Adapun yang diamati di tubulus seminiferus adalah epitel tubulus seminiferus, gambaran spermatogenesis tubulus, lumen tubulus, sel spermatogonium, spermatosit primer, sel spermatid, sel spermatozoa dan sel sertoli. Ciri utama sel spermatogonia yaitu berukuran relatif besar, berbentuk bulat, sitoplasma sel pucat, inti sel besar dengan kromatin ireguler, inti yang sangat rapat, warna inti yang sangat gelap dan terletak di dekat membran basal epitel tubulus. Sel spermatosit primer sangat khas karena sel ini merupakan sel yang paling besar dibandingkan dengan sel spermatogenik lainnya, dan memiliki inti yang lebih jarang atau sedikit jika dibandingkan dengan sel spermatogonia. Sel spermatid pada tubulus seminiferus berada disekitar lumen yaitu pada lapisan setelah spermatosit primer, berukuran paling kecil, berbentuk bulat, memiliki sitoplasma yang sedikit dan kromatin pada

inti selnya padat. Sel sertoli memiliki ciri khas berbentuk piramidal dengan dasar sel melekat pada lamina basalis dan ujung apikalnya menjorok ke lumen tubulus, sel sertoli ini terletak di antara sel spermatogenik (Akbar, 2014).

Table 1. Skoring kerusakan tubulus seminiferus berdasarkan modifikasi Skor Johnsen dengan perhitungan kuantitas (Akbar, 2014)

Nilai	Keterangan
10	Epitel tubulus normal, spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 10
9	Epitel tubulus rusak, lumen tubulus tertutup, sel spermatozoa ≥ 10
8	Sel spermatozoa < 10
7	Sel spermatozoa 0, Sel spermatid ≥ 10
6	Sel spermatozoa 0, Sel spermatid < 10
5	Sel spermatozoa dan Sel spermatid 0, sel spermatosit ≥ 5
4	Sel spermatozoa dan Sel spermatid 0, sel spermatosit < 5
3	Sel spermatogenik hanya terdiri atas sel spermatogonium
2	Sel spermatogenik 0, hanya ada sel sertoli
1	Tidak ada sel sama sekali dalam tubulus

Hasil dan Pembahasan

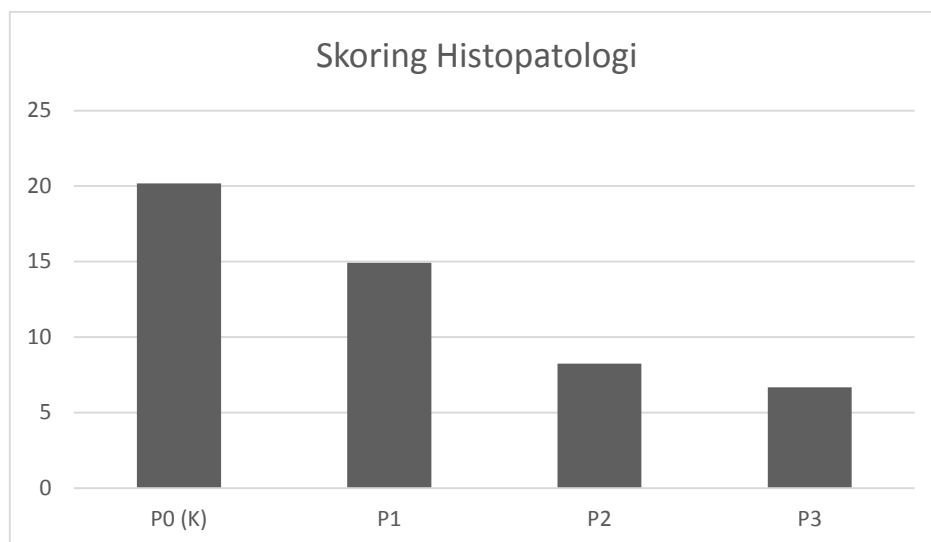
Pengambilan sampel organ testis dan pembuatan preparat histopatologi telah dilakukan, selanjutnya dilakukan pemeriksaan menggunakan mikroskop cahaya biasa merk *Nikon H600L* yang dilengkapi dengandigital camera DS Fi2 300 megapixel dan *soft ware* pengolah gambar Nikon Image System. Penilaian dilakukan secara semikuantitatif menurut metode Johnsen (1970) dimana gambaran histologis sel spermatogenik pada setiap tubulus seminiferous dinilai dengan metode skoring. Adapun rataan hasil skoring dan persentase hasil skoring pemeriksaan histopatologi kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3) tersebut terlampir di bawah ini.

Tabel 2. Rataan Hasil Skoring Pemeriksaan Histopatologi Kelompok Kontrol (K), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), dan Perlakuan 3 (P3). Berdasarkan Analisis statistik *Kruskall-Wallis Test*

Perlakuan	Skor	P
P0 / K (0 %)	20,17 ^a	0,003
P1 (5%)	14,92 ^a	
P2 (15%)	8,25 ^b	
P3 (25%)	6,67 ^b	

Keterangan : Rataan hasil skoring dari 6 sampel tiap masing-masing kelompok perlakuan. Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0.01$)

Setelah diperoleh hasil rata-ran skoring di atas maka dapat dibuat diagram batang untuk tiap analisis spermatozoa untuk kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) yaitu sebagai berikut :



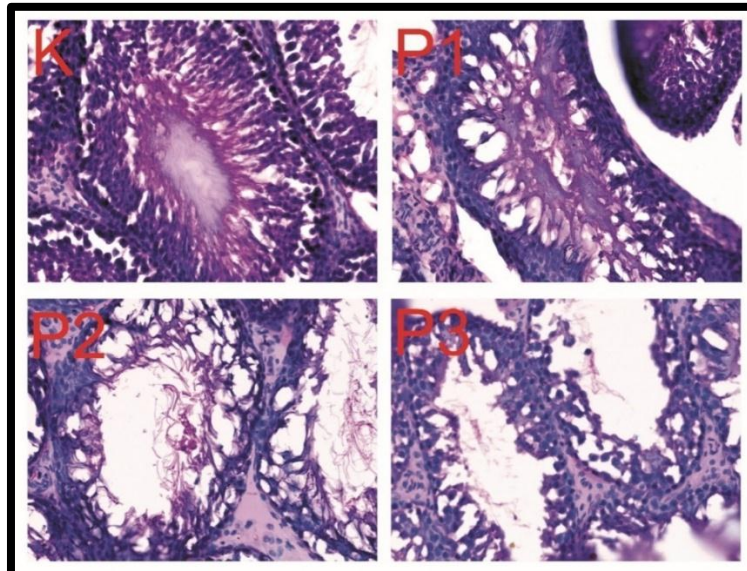
Gambar 1. Diagram batang rata-ran hasil skoring gambaran histopatologis sel-sel spermatogenik pada setiap tubulus seminiferous kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3)

Hasil rata-ran persentase perhitungan skoring histopatologis testis pada tabel 4.3, terlihat adanya perbedaan pada diagram batang dari kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan (3) sesuai dengan gambar 4.9. Gambar diagram tersebut menunjukkan adanya penurunan sel-sel spermatogenik tidak signifikan pada kelompok P1 yang diberi ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) konsentrasi 5%, masih dalam kategori *Obstructive cases/normal* (kategori 1). Menurut Johnsen (1970) kategori ini lumen tubulus masih tampak dan terjadi proses spermatogenesis. Kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) konsentrasi 15% mengalami penurunan signifikan kualitas sel-spermatogenik, dan pada kelompok perlakuan 3 yang diberi ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) konsentrasi 25% juga mengalami penurunan signifikan kualitas sel-sel spermatogenik. Kelompok perlakuan P2 dan perlakuan P3 mengalami penurunan kualitas sel-sel spermatogenik termasuk dalam kategori *late maturity arrest* (kategori 2). Menurut Johnsen (1970) kategori ini tidak ditemukan sel spermatozoa sama sekali, tetapi masih terdapat sel spermatid. Ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) dapat menurunkan kualitas sel-sel spermatogenik pada tubulus seminiferus.

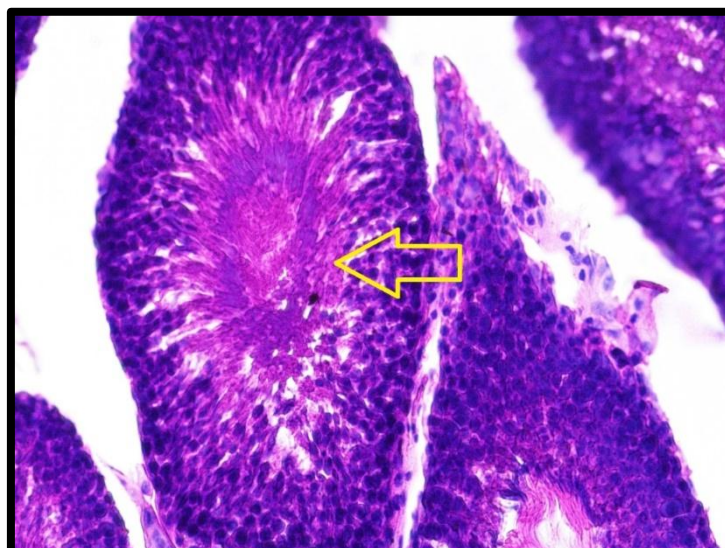
Data yang diperoleh tersebut kemudian dianalisis menggunakan *Statistical Program for Social Science (SPSS)*, dengan metode *Kruskall-Wallis Test* untuk menentukan perbedaan data pada

kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3). Hasil yang diperoleh dari analisa statistik tersebut adalah $P < 0.01$ (perbedaan sangat nyata).

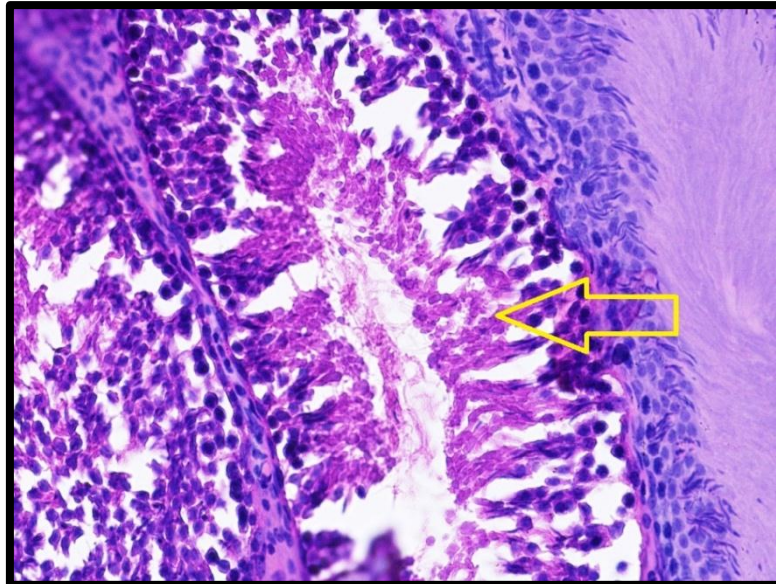
Disamping hasil dari analisis statistik diatas, didapat juga gambar dari gambaran histologis sel-sel spermatogenik pada setiap tubulus seminiferous pada kelompok kontrol, perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3).



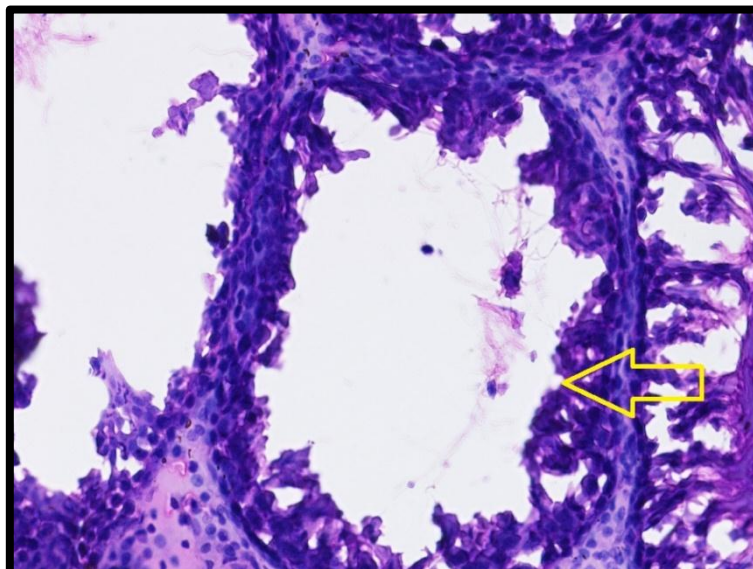
Gambar2. Menunjukkan perbedaan gambaran sel-sel spermatogenesis diantara kelompok perlakuan (Pewarnaan HE. Pembesaran 200x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).



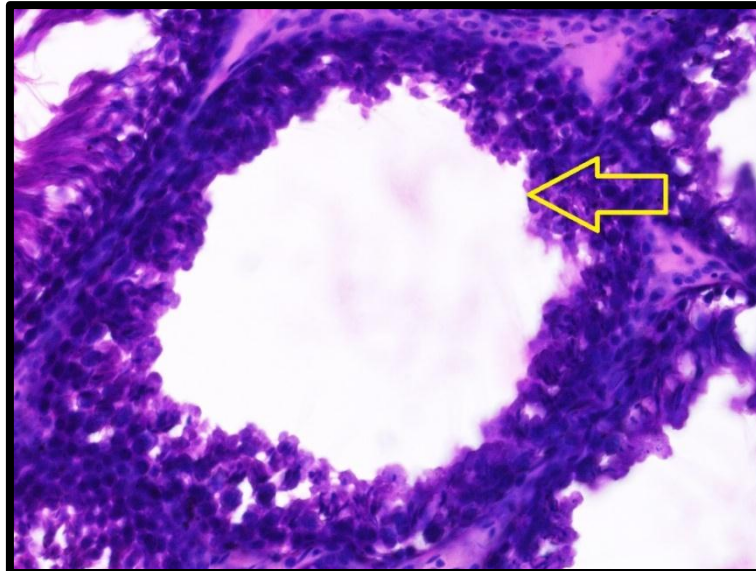
Gambar3. Menunjukkan lumen tubulus seminiferus tampak jelas, sel-sel spermatogenesis, spermatozoa terlihat pada kelompok perlakuan K (Pewarnaan HE. Pembesaran 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).



Gambar4. Menunjukkan lumen tubulus seminiferus, sel-sel spermatogenesis nilai kurang teratur pada kelompok perlakuan P1 (Pewarnaan HE. Pembesaran 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).



Gambar5. Menunjukkan lumen tubulus seminiferus, sel spermatozoa tidak ada pada perlakuan P2 (Pewarnaan HE. Pembesaran 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).



Gambar6. Menunjukkan lumen tubulus seminiferus, sel spermatozoa tidak ada pada perlakuan P3 (Pewarnaan HE. Pembesaran 400x; mikroskop Nikon H600L; camera DS Fi2 300 megapixel).

Ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) memiliki kandungan senyawa propil kholesterol (C30 sterol, C30H50O) bekerja sebagai anti fertilitas, semakin tinggi pemberian dosis maka kualitas sel spermatogenik semakin menurun. Hal ini diduga karena adanya pengaruh terhadap penurunan hormon testosteron. Hormon testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis pada sel spermatosit. Bila spermatosit mengalami kerusakan maka akan mengalami degenerasi dan difagositosis oleh sel sertoli sehingga jumlah spermatosit menjadi berkurang dan jumlah spermatid ikut menurun. Menurunnya hormon testosteron mengakibatkan terlepasnya sel spermatid dari sel sertoli ke lumen tubulus. Hal ini mengakibatkan kegagalan tahap spermiogenesis, dimana spermatid gagal menjadi spermatozoa (Sukmaningsih, 2009).

Hal ini diduga karena setelah masuk ke dalam lambung senyawa di dinding usus akan mengalami osmosis dan difusi ke aliran darah dan akan sampai ke target organ testis, kemudian akan menghambat proses respirasi dan glikolisis sel. Ekor spermatozoa terdapat mitokondria sebagai tempat terjadinya metabolisme yang menghasilkan paket-paket energi berupa ATP pada proses respirasi dan glikolisis. Penurunan motilitas karena adanya penghambatan yang terjadi saat pengangkutan ion Na^+/K^+ . Penghambatan ini menyebabkan penurunan aktivitas *ATPase*, dengan demikian energi yang diperlukan untuk bergerakpun menjadi menurun. Semakin tinggi pemberian dosis maka abnormalitas spermatozoa semakin meningkat. Peningkatan abnormalitas spermatozoa terjadi karena adanya kegagalan dalam proses spermatogenesis di tubulus seminiferus serta destabilitas membran sel dengan terganggunya lalu lintas ion melalui membrane sehingga homeostatis membrane tidak dapat dipertahankan lagi (Julaeha *dkk*, 2013).

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil dan pembahasan penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun senggugu (*Cleodandrum serratum*) dapat memberikan perubahan histopatologi testis berupa penurunan kualitas sel spermatogenik pada tubulus seminiferus.

DaftarPustaka

- Akbar MA. 2014. *Pengaruh Paparan Insektisida Bakar Bentuk Lingkar dan Insektisida Cair Terhadap Spermatogenesis Tiskus Sprague Dawley Dilihat Secara Histopatologis*. Fakultas Kedokteran. Semarang: Universitas Diponegoro-Semarang.
- Grainge, M., Ahmed,S. 1988. *Handbook of plant with Pest-control Properties*. New York :John Willey and Sons.
- Hartanto, Hanafi. 2004. *Keluarga Berencana dan Kontrasepsi*. Jakarta : Pustaka Sinar Harapan.
- Johnsen SG, 1970. *Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones*. 1970;1(1):2-25
- Julaeha, E., Supriyatna., Subarnas. A.,Supratman. U., Kurnia. D., Hayashi. H. 2008. *Antifertility Compounds Isolated from Leaves of Senggugu (Clerodendron serratum L.Moon)*. Proceeding of The International Seminar on Chemistry
- Julaeha, E., Malini.D. M., Sondang. O. S. 2013. *Pengaruh Pemberian Senyawa C30 Sterol Yang Diisolasi Dari Daun Clerodendron Serratum Terhadap Kualitas Sperma Mus Musculus Secara In Vivo*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi NuklirPTNBR
- Madyawati, S.P., Lailia, N.A., Setiawan, B., Widjiati., Ratnahi, H. 2009. *Induksi Antibodi Poliklonal Tirosin Kinase Sebagai Alternatif Metode Imunokontrasepsi Terhadap Fertilitas Mencit Jantan (Mus musculus)*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Muzakki, D. L. 2014.*Pengaruh Pemberian Susu Kambing Terhadap Gambaran Mikroskopis Testis Dan Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Tikus Wistar Yang Terpapar Asap Kendaraan Bermotor*. Fakultas Kedokteran. Semarang: Universitas Diponegoro-Semarang.
- Ngatidjan. 2006. *Metode Laboratorium Dalam Toksikologi*. Yogyakarta : Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Pattel, J.J., Acharya, S.R., & Acharya, N.S., 2014, *Clerodendrum serratul (L.) Moon. A Review on Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities, Journal of Ethnopharmacology*, 154 (2), 268-285.
- Sukmaningsih A.A.SG.A.2009.*Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatid Tubulus Seminiferus Testis pada Mencit (Mus musculus) yang Dipaparkan Asap Rokok*. Jurnal Biologi ;XII(2):31-5.
- Viswanathan S., Vijayasekan, V., Sukumar, E. 1999. *Antinociceptive, Anti-Inflammatory and Antypyretic Effects of Ethanol Extract of Clerodendron serratum Roots in Experimental Animal. Journal of Ethnopharmacology*. 65 (3) 237-241.