

Pengaruh Fraksi Metanol Ekstrak Saluang Belum (*Luvunga Sarmentosa*) Terhadap Motilitas Spermatozoa *In Vitro*

Effect of Methanolic Fraction of Beginning Saluang Extract (*Luvunga Sarmentosa*) on Spermatozoa Motility *In Vitro*

Tasya¹

Silvani Permatasari^{2*}

Farah Fauziyah

Fadhiyatulqalbi Ahmad³

Septi Handayani²

Elsa Trinovita²

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

²Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

*email:

silvani.permatasari@med.upr.ac.id

Abstrak

Salah satu penyebab infertilitas adalah penurunan kualitas sperma yang disebabkan oleh stress oksidatif. Pemberian antioksidan eksogen yang didapatkan dari akar saluang belum (*Luvunga sarmentosa*) dapat menurunkan stres oksidatif. Penelitian terkait bioaktivitas *Luvunga sarmentosa* terhadap motilitas spermatozoa *in vitro* masih terbatas. Untuk mengetahui pengaruh fraksi metanol ekstrak akar saluang belum terhadap motilitas spermatozoa secara *in vitro* dan konsentrasi efektif untuk meningkatkan motilitas spermatozoa. Sampel yang digunakan adalah spermatozoa manusia *in vitro* sebanyak 15 sampel yang dicuci dan ditambahkan medium BWVW (Biggers, Whitten, and Whittingham) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam dengan fraksi methanol ekstrak akar Saluang Belum dengan konsentrasi 100, 500, 1000, 5000 ng/ml serta kelompok kontrol (BWVW). Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan di mikroskop untuk melihat gerak motilitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi metanol ekstrak akar *Luvunga sarmentosa* mengandung senyawa seperti alkaloid, amino acid, phenylpropanoid, dan terpenoid. Motilitas spermatozoa meningkat secara signifikan pada konsentrasi 100, 500, 1000 dan 5000 ng/mL dan kelompok kontrol. Fraksi metanol akar *Luvunga sarmentosa* efektif pada konsentrasi 100 ng/mL. Fraksi metanol akar saluang belum *Luvunga Sarmentosa* meningkatkan motilitas spermatozoa. Fraksi metanol, saluang belum, motilitas spermatozoa.

Kata Kunci:

Fraksi Metanol
Saluang Belum
Motilitas Spermatozoa

Keywords:

Methanol Fraction
Saluang Belum Root
Spermatozoa Motility

Abstract

One of the causes of infertility is decreased sperm quality caused by oxidative stress. Providing exogenous antioxidants obtained from saluang root yet (*Luvunga sarmentosa*) can reduce oxidative stress. The research on the bioactivity of *Luvunga sarmentosa* on spermatozoa motility *in vitro* is still limited. To identify the effect of methanol fraction of saluang root extract on spermatozoa motility *in vitro* and the effective concentration to increase spermatozoa motility. The samples used were *in vitro* a total of 15 sampels human spermatozoa which were washed and added to BWVW (Biggers, Whitten, and Whittingham) medium then incubated at 37°C for 1 hour with methanol fraction of Saluang Belum root extract with concentrations of 100, 500, 1000, 5000 ng/ml and group control (BWVW). Subsequently, an examination was carried out on a microscope to see the motility of spermatozoa. The study results showed that the methanolic fraction of *Luvunga sarmentosa* root extract contains compounds such as alkaloids, amino acids, phenylpropanoids, and terpenoids. Spermatozoa motility increased significantly at concentrations of 100, 500, 1000 and 5000 ng/mL and the control group. The methanol fraction of *Luvunga sarmentosa* root was effective at a concentration of 100 ng/mL. The methanol fraction of saluang belum root increased motility of spermatozoa. Methanol fraction, saluang belum root, spermatozoa motility.



PENDAHULUAN

WHO menunjukkan 50 sampai 80 juta pasangan subur mengalami infertilitas sedangkan di Indonesia sekitar 36 % infertilitas terjadi pada pria (Arindia et al., 2019). Faktor penyebab terjadinya infertilitas salah satunya adalah adanya penurunan kualitas sperma yang dipengaruhi oleh gaya hidup yang kurang baik, seperti merokok, minum alkohol, dan lain sebagainya. Faktor penyebab lainnya yang memiliki pengaruh besar dalam menurunkan kualitas sperma adalah stress oksidatif (Ningsih et al., 2016). Stres oksidatif ditandai dengan adanya peningkatan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan penurunan antioksidan. ROS berperan untuk meregulasi sejumlah jalur sel, namun jika terjadi peningkatan ROS yang melebihi pertahanan antioksidan akan menyebabkan kerusakan pada kualitas spermatozoa dan motilitas sperma (Al-Snafinet al., 2016). Salah satu bentuk pengobatan yang digunakan untuk mengatasi stres oksidatif adalah dengan pemberian antioksidan eksogen. Antioksidan bisa didapatkan dari tanaman herbal salah satunya adalah akar saluang belum (*Luvunga sarmentosa*). (Edy L, et al., 2022)

Saluang belum (*Luvunga sarmentosa*) adalah salah satu tanaman yang berasal dari hutan kalimantan dan dipercayai oleh masyarakat suku Dayak bahwa akarr dari tumbuhan ini dapat menjadi obat penunjang kesuburan pria (Mulyyono, 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh syarpin dkk, Fraksinasi akar saluang belum (*Luvunga sarmentosa*) mengandung senyawa alkaloid, amino acid derivative, fenilpropanoid, terpenoid. Alkaloid memiliki sifat antioksidan sebagai penangkap radikal bebas yang dapat membantu untuk meningkatkan kualitas sperma. Terpenoid juga terbukti dapat meningkatkan motilitas pada tikus *Rattus norvegicus*. Pada penelitian yang dilakukan Nazari dkk, menunjukkan pemberian suplementasi antioksidan yang mengandung amino acid derivative dapat meningkatkan kualitas sperma pada pasien oligoasthenoteratozoospermia (K. Lin et al., 2021).

Penelitian Wijaya dkk, bahwa kandungan terpenoid yang terdapat pada fraksi metanol buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) dapat meningkatkan motilitas spermatozoa pada tikus jantan *Sprague dawley*. (Wijayanti, 2021). Senyawa–senyawa aktif hasil identifikasi yang terkandung dalam fraksi metanol akar saluang belum (*Luvunga sarmentosa*) belum diuji bioaktivitasnya terhadap kualitas spermatozoa. Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui efektivitas senyawa aktif fraksi metanol ekstrak saluang belum (*Luvunga sarmentosa*) terhadap motilitas spermatozoa *in vitro*.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *rotary evaporator*, *waterbath*, inkubator, kolom kromatografi, silica gel G₆₀, tabung *eppendorf* 1,5 mL *centrifuge*, tabung *falcon* 15 mL, tabung *falcon* 50 mL, *neubauer chamber*, mikroskop cahaya. Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah sperma manusia, medium BWV (*Biggers, Whitten, and Whittingham*), medium percoll 50%, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 96%, metanol, akar saluang belum (*Luvunga sarmentosa*), *sperm diluting fluid*

Metode Pelaksanaan

Pada penelitian sebelumnya oleh syarpin dkk dilakukan fraksinasi ekstrak etanol 96% akar saluang belum (*Luvunga sarmentosa*). Sebanyak 5000 gram akar *L. sarmentosa* dicuci dan dikeringkan selama tujuh hari untuk membuat simplisia dengan menggunakan blender, kemudian diayak dengan menggunakan saringan berukuran 60 mesh. Simplisia sebanyak 1000 g dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 x 24 jam. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental difraksinasi dengan menggunakan kolom kromatografi vakum dengan metanol sebagai eluen, dan 50 g silika gel

G60 digunakan sebagai fasa diam. Lima gram ekstrak kental dielusi dengan 5 x 250 mL metanol (Syarpin et al, 2023). Penelitian ini menggunakan sampel sperma dari donor dengan kriteria umur 20-30 tahun serta melakukan abstinensia 2-3 dan tidak ada gangguan sperma yang di ketahui melalui wawancara, donor didapatkan dari pria yang telah menyetujui informed consent. Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan rumus dari Stanley Lemeshow sebanyak 15 orang dengan teknik consecutive sampling.

Semen ditampung dalam wadah steril dan dibiarkan pada suhu ruangan selama 30 menit untuk proses pencairan, kemudian dicuci menggunakan gradien percol 50%. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang, pelet dicuci dengan 3 ml medium BWV. Kemudian tabung disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1900 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, pelet murni diberikan 1 ml BWV lalu dihomogenkan. Setelah itu, konsentrasi spermatozoa diukur dengan memberikan 95 µL cairan pengencer sperma dan 5 µL spermatozoa yang telah dicuci dalam tabung 1,5 ml lalu dihomogenkan. Ambil 10 µL sampel dan letakkan di dalam ruang Neubauer. Selanjutnya, perhitungan konsentrasi perhitungan konsentrasi dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x menggunakan metode analisis semen standar menurut WHO (Permatasari dkk, 2023).

Spermatozoa dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing berisi ±10 juta sel, yaitu kontrol (tanpa perlakuan), pemberian fraksi metanol ekstrak Luvunga sarmentosa dengan konsentrasi 100, 500, 1000, dan 5000 ng/mL. Kelima kelompok tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam, kemudian dilakukan perhitungan motilitas menggunakan mikroskop dalam perbesaran 400x dan rumus WHO sebafei berikut:

$$\% \text{ motilitas} = \frac{A+B}{200} \times 100\%$$

A= Aktif bergerak

B= Lambat Bergerak

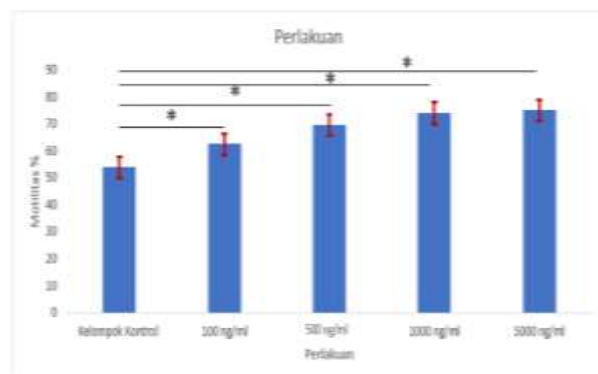
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan pengaruh fraksi metanol akar saluang belum Luvunga sarmentosa terhadap motilitas spermatozoa terlihat pada tabel berikut;

Tabel I. Hasil Pengamatan Motilitas

Sam pel	Kelom pok kontr ol (%)	Konsen trasi 100 ng/ml (%)	Konsen trasi 500 ng/ml (%)	Konsen trasi 1000 ng/ml (%)	Konsen trasi 5000 ng/ml (%)
1	58	68	72	82	70
2	55	69	65	53	61
3	62	67	70	75	85
4	42	64	75	78	83
5	42	55	69	52	59
6	44	70	78	74	66
7	52	57	60	68	75
8	55	56	62	79	83
9	53	68	75	88	92
10	42	50	72	85	58
11	70	73	81	89	90
12	53	58	63	67	72
13	56	59	64	71	75
14	71	71	79	85	87
15	54	54	60	65	71
Mea n	53.93 %	62.6 %	69.67 %	74.067 %	75.13%
SD	9.137	7.336	7.057	13.084	11.205

Berdasarkan data, konsentrasi efektif dimulai dari dosis 100 ng/ml. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin tinggi jumlah motilitas juga motilitas. Gambar pengaruh frisk metanol ekstrak akar saluang belum terhadap motilitas spermatozoa dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Fraksinasi Metanol Ekstrak Akar Saluang Belum (*Luvunga Sarmentosa*) Terhadap motilitas spermatozoa.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Syarpin dkk, 2023 mengenai analisis komponen fitokimia fraksi akar Saluang Belum (*Luvunga sarmentosa*) menggunakan metode LCMS/MS diketahui bahwa fraksi metanol ekstrak saluang belum mengandung alkaloid, amino acid derivative, phenyl propanoid, dan terpenoid. Alkaloid memiliki sifat senyawa sebagai antioksidan yang secara langsung berperan untuk melindungi sel, karena sifatnya yang mampu menangkal radikal bebas maka tidak terjadi kerusakan pada membrane sel mitokondria yang dapat menyebabkan metabolisme pada sperma menurun, Metabolisme membrane tidak terganggu dan menurun maka suplai ATP menjadi melimpah dan membuat motilitas sperma menjadi meningkat. alkaloid sangat berperan penting sebagai antioksidan primer yang dapat melindungi sel dan zat beracun serta dapat mencegah kerusakan genetik akibat oksidan H_2O_2 (Pemasari et al., 2023). Senyawa lain yang terdapat pada fraksi metanol ekstrak saluang belum (*Luvunga sarmentosa*) adalah amino acid derivative. Senyawa turunan amino acid derivative yang terdapat pada fraksi metanol ekstrak saluang belum adalah L-Carnitine dan L-Proline, yang berperan sebagai osmoprotektan dan antioksidan, menjaga sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas (Faranak, 2023) L-Carnitine dapat mengurangi peroksidasi lipid membrane plasma melalui penghambatan ROS, selain itu) L-Carnitine bertindak sebagai pembawa mentranslokasi asam lemak rantai Panjang melintas membrane dalam mitokondria untuk

oksidasi dalam siklus krebs dan produksi ATP untuk motilitas sperma, dengan adanya bantuan DI-karnitin maka kriopreservasi tetap baik serta meningkatkan motilitas (Moradi et al., 2022).

Senyawa fenilpropanoid dapat menangkap radikal bebas melalui donor atom hydrogen pada gugus hidroksil dan mengurangi hidrogen peroksida dengan meningkatkan pertahanan antioksidan sperma, mencegah terjadinya kerusakan pada DNA mitokondria yang dapat menurunkan produksi ATP dan mencegah lipid peroksidasi pada membran spermatozoa sehingga motilitas pada spermatozoa tetap terjaga (K, Li N et al., 2021). Senyawa terpenoid termasuk salah satu senyawa yang mempengaruhi motilitas spermatozoa, terpenoid memiliki peran antioksidan yang dapat mempengaruhi peningkatan motilitas spermatozoa. Hal ini didukung dengan adanya penelitian wijayanti dkk, bahwa terpenoid pada ekstrak metanol buah parijoto dapat meningkatkan kualitas spermatozoa, termasuk motilitas spermatozoa tikus (Wijayanti, 2021).

KESIMPULAN

Fraksi metanol ekstrak saluang belum (*Luvunga Sarmentosa*) memiliki pengaruh terhadap motilitas spermatozoa secara meningkatn dari konsentrasi 100. 500. 1000, 5000, ng/mL. Fraksi metanol ekstrak saluang belum (*Luvunga Sarmentosa*) memiliki konsentrasi efektif mulai dari konsentrasi 100 ng/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini, antara lain kepada Laboratorium Biomedik Basah di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Palangka Raya.

REFERENSI

- Aghaz, F., & Esmaili, F. 2023. Machine learning-based prediction of the beneficial effects of L-proline supplementation on human sperm quality. *Reproductive Biomedicine Online*, 36(6), 715-723.
- Al-Snafi, P. 2016. A review on *Cyperus rotundus*: A potential medicinal plant. *IOSR Journal of Pharmacy*, 06(07), 32-48.
- Arindia, R. S. 2019. Pengaruh pemberian sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit Balbc yang dipapar asap rokok. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 17(1), 17-19.
- Ayu, I. G. A., & Wirawati, P. 2018. Methods for sperm examination. *Ilmu Patologi Klinik Universitas Udayana*, 32, 1-20.
- Eddy, L., Nindatu, M., & Reasoja, J. 2022. Peningkatan motilitas dan viabilitas spermatozoa *Rattus norvegicus* terpapar asap rokok pasca diterapi sirup cengkeh. *Jurnal Biologi Edukasi Ed 28*, 14(1), 14-20.
- Humairoh, N. 2021. In vitro effects of ethanol extract of *Saluang Belum* (*Lavanga sarmentosa*) on spermatozoa quality and viability. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Hewan*, 15(2), 106-112.
- Li, K., Yu, J., Yang, F., Shao, Y., et al. 2021. The effect of artemisinin on sperm quality, sperm DNA damage, and oxidative stress in male rats with varicocele. *Journal of Animal Science*, 101, 1-10.
- Moradi, B., Faramarzi, A., Ghasemi-esmailabad, S., Aghaz, F., Hossein, A., & Khazaei, M. 2022. L-proline as a novel additive to cryopreservation media improves post-thaw human sperm quality through reduction of oxidative stress. *Cryobiology*, 93, 103-110.
- Mulyyono. 2019. Metode penelitian dan pengembangan untuk bidang pendidikan, manajemen, sosial, teknik: Research and development. Yogyakarta: Gava Media.
- Ningsih, Y. J., & Farich, A. 2016. Determinan kejadian infertilitas pria di Kabupaten Tulang Bawang. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 242.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. 2018. Determination of phytochemical compounds (tannin, saponin, and flavonoid) as quercetin in inggu leaves (*Ruta angustifolia* L.) extract. *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19-29.
- Rahma, H. 2016. Pengaruh daun kepunung (*Chromolaena odorata*) terhadap kadar gula darah dan aktivitas antioksidan pada tikus model diabetes mellitus. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 35(4), 883-889.
- Syarpin, S., Permatasari, S., & Pujiyanto, D. A. 2023. Analysis of metabolite compounds and antioxidant activity from fraction of *Saluang Belum* root extract (*Lavanga sarmentosa*) using LCMS/MS. *Biodiversity*, 24(2), 1-11.
- Sutomo, A. V. V., & Arnida, A. 2022. Ethnobotanical study and phytochemical screening of medicinal plants used by local people in Belangian Village, South Kalimantan. *Borneo Journal of Pharmacy*, 5(1), 1-8.
- Wijayanti, W. (2021). Efek ekstrak metanol, fraksi metanol, dan fraksi n-heksan buah parijoto (*Medinilla speciosa*) terhadap parameter semen dan bobot testis tikus jantan Sprague Dawley. *Jurnal Veteriner*, 64(6), 1088-1096