

Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap Kadar Testosteron dan Bobot Organ Reproduksi Tikus Jantan
Effect of Methanolic Extract, n-Hexanic Fraction, and Methanolic Fraction of Saga Seed (Abrus precatorius Linn.) on Testosterone Level and Reproduction Organs Weight in Male Rat

Fadilah, Siti Muslichah, Fifteen April Fajrin
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37 Jember 68121
e-mail korespondensi: fadilah.kammal@yahoo.com

Abstract

Fertility control is an issue of global and national health problem. Many studies have been done for the female contraceptions, but for male are limited. This research aimed to study the effectiveness of natural source for male contraception alternative. Abrus precatorius L. was known to have antifertility activity. Testosterone hormone and reproduction organs weight are effected by antifertility activity. This study was conducted to compare the effect of the methanolic extract, n-hexane fraction, and methanolic fraction of saga seeds (dose 75 mg/kg BW) on testosterone level and reproduction organ weights (testis, epididymis, seminal vesicle, and prostate) in male rats. The extract and fractions were administered orally in male rats for 20 days. Among the three treatments, methanolic fraction and n-hexanic fraction decreased the epididymis weights, but it didn't affect to the other organs. However, testosterone level decreased significantly ($P < 0.05$) in the experimental group of metyhanolic fraction ($7,028 \pm 1,104$ ng/mL) and n-hexanic fraction ($7,308 \pm 1,095$ ng/mL) compared to controls ($10,986 \pm 0,841$ ng/mL).

Keywords: *saga seeds, testosterone level, reproductive organs weight*

Abstrak

Pengendalian kesuburan adalah masalah umum yang terjadi baik di dunia maupun di Indonesia. Penelitian-penelitian dalam rangka pengembangan kontrasepsi bagi perempuan sudah banyak dilakukan, namun untuk pria masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengkaji efektivitas bahan alam untuk alternatif kontrasepsi pada pria. Biji Saga (*Abrus precatorius* L.) diketahui memiliki aktivitas antifertilitas. Hormon testosteron dan bobot organ reproduksi diketahui mempengaruhi aktivitas antifertilitas. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji saga (dosis 75 mg/kg BB) terhadap kadar testosteron dan bobot organ reproduksi (testis, epididimis, vesika seminalis, dan prostat) tikus jantan. Seluruh kelompok diberi perlakuan secara per-oral selama 20 hari. Di antara ketiga perlakuan tersebut, fraksi metanol dan fraksi n-heksana mampu menurunkan bobot organ epididimis, namun pada bobot organ reproduksi lainnya tidak terjadi penurunan pada seluruh kelompok perlakuan. Kadar hormon testosteron mengalami penurunan secara signifikan pada kelompok fraksi metanol ($7,028 \pm 1,104$ ng/mL) dan fraksi n-heksana ($7,308 \pm 1,095$ ng/mL) dibandingkan kadar hormon testosteron pada kelompok control ($10,986 \pm 0,841$ ng/mL).

Kata kunci: biji saga, kadar testosteron, bobot organ reproduksi

Pendahuluan

Tingginya pertumbuhan penduduk bagi negara berkembang seperti Indonesia merupakan masalah yang cukup penting. Berdasarkan data yang diperoleh dari Badan Pusat Statistika (BPS) [1], jumlah penduduk Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Pemerintah selaku pihak yang paling tinggi dalam suatu negara berupaya mengatasi hal ini dengan menggalakkan program Keluarga Berencana (KB). Pelaksanaan KB merupakan tanggung jawab suami dan istri. Suami memiliki peranan penting dalam mencapai keberhasilan KB, namun sebagian besar program KB memberikan sedikit perhatian pada pemahaman peranan pria dalam penggunaan kontrasepsi yang efektif dan konsisten [2].

Biji saga (*Abrus precatorius* Linn.) adalah salah satu tanaman asli Indonesia yang diketahui memiliki aktivitas antifertilitas. Tumbuhan ini banyak ditemukan di semak-semak, perkebunan, atau sengaja dipelihara di pekarangan [3]. Kandungan dari biji saga yaitu alkaloid, minyak, steroid, lektin, flavanoid, dan antosianin. Alkaloid pada biji meliputi abrin, hipaforin, kholin, dan precatorin [4]. Dimana abrin dan steroid ini yang kemudian diduga merupakan salah satu senyawa yang bertanggung jawab memiliki aktivitas antifertilitas [5].

Kadar hormon testosteron digunakan sebagai parameter antifertilitas karena diketahui bahwa peningkatan atau penurunan kadar hormon testosteron dapat mempengaruhi spermatogenesis [6]. Selain itu penurunan bobot organ reproduksi juga perlu dilakukan pengamatan untuk mengetahui adanya penurunan fungsi dari organ reproduksi. Berat, ukuran dan fungsi dari sekresi organ reproduksi diatur secara ketat oleh hormon androgen [7], adanya penurunan bobot organ reproduksi dapat dikaitkan dengan adanya kehilangan elemen spermatogenik [5].

Penelitian aktivitas antifertilitas ekstrak biji saga telah banyak dilakukan sehingga penelitian perlu dikembangkan terhadap fraksi-fraksi ekstrak biji saga. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa (polar dari campuran non-polar). Pemisahan ini diharapkan menghasilkan senyawa yang lebih murni sehingga dapat dibandingkan pengaruh yang timbul saat berada dalam ekstrak kasar dan dalam bentuk fraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji saga terhadap kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi tikus jantan.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan *in vivo* pada tikus

jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dan merupakan jenis penelitian *True Experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *the post test control only group design*. Biji saga diperoleh dari petani di daerah Andongrejo, Kec. Tempurejo, Kab. Jember. Biji yang dipilih adalah biji tua yang kemudian dikeringkan dan selanjutnya dipisahkan antara kulit dengan isi. Isi biji yang diperoleh dihaluskan dengan cara diblender, diayak, dan ditimbang untuk perlakuan selanjutnya.

Bahan yang digunakan adalah pelarut metanol (7:3), pelarut n-heksana, CMC-Na, kit ELISA Testosterone (DRG Instruments GmbH, Germany), rotary evaporator (Heidolph), dan Elisa reader (Dialab).

Serbuk biji saga sebanyak 150 gram dimaserasi dalam metanol (7:3) dengan total pelarut sebanyak 1:7 dari berat serbuk. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali dan sekali maserasi dilakukan dalam 24 jam. Maserat yang diperoleh kemudian dipisahkan dari ampasnya dan dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi biji saga dilakukan dengan menimbang 500 gram serbuk biji saga. Prosedur maserasi sama dengan pembuatan ekstrak metanol yang telah dijelaskan sebelumnya. Metode fraksinasi dilakukan dengan cara ekstrak diencerkan terlebih dahulu dengan metanol (7:3) dan difraksinasi dengan n-heksana dengan perbandingan 1:1 ke dalam corong pisah. Corong pisah dikocok ± 5 menit untuk mencampurkan kedua pelarut. Setelah dikocok, campuran pelarut dibiarkan sampai terjadi pemisahan. Pemisahan ditandai dengan terbentuknya 2 lapisan yang tidak saling campur. Fraksinasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali agar dihasilkan fraksi yang optimal. Lapisan atas merupakan fraksi n-heksana dan lapisan bawah merupakan fraksi metanol. Kedua fraksi ini dipekatkan untuk mendapatkan fraksi kental. Ekstrak dan fraksi yang diperoleh selanjutnya disuspensikan dengan CMC-Na 1%.

Hewan coba sebanyak 20 ekor diadaptasikan selama 1 minggu dengan pemberian makan dan minum *ad libitum*. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang dipilih secara acak. Tikus diberi perlakuan dengan bahan uji satu kali sehari selama 20 hari secara per oral (kontrol negatif CMC-Na 1%, ekstrak metanol biji saga dosis 75 mg/kg BB, fraksi n-heksana dosis 75 mg/kg BB, dan fraksi metanol biji pepaya dosis 75 mg/kg BB).

Tabel 1. Rata-rata kadar hormon testosteron (ng/mL) dan rata-rata bobot testis relatif berat badan (%)

No	Kelompok	Kadar testosteron (ng/mL) ± SE	Bobot testis relatif berat badan (%) ± SE	Bobot epididimis relatif berat badan (%) ± SE	Bobot vesika seminalis dan prostat relatif berat badan (%) ± SE
1	Kontrol	10,986 ± 0,841 ^a	1,216 ± 0,102	0,426 ± 0,041 ^a	0,746 ± 0,072
2	Ekstrak metanol	8,540 ± 0,834 ^{ab}	1,584 ± 0,107	0,370 ± 0,013 ^{ab}	0,565 ± 0,044
3	Fraksi n-heksana	7,308 ± 1,095 ^b	1,269 ± 0,097	0,305 ± 0,037 ^b	0,592 ± 0,132
4	Fraksi metanol	7,028 ± 1,104 ^b	1,326 ± 0,116	0,329 ± 0,015 ^b	0,641 ± 0,063

Keterangan : Adanya notasi huruf yang sama (a, b) menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda secara bermakna ($p < 0,05$)

Pada hari ke 21 dilakukan pembedahan untuk pengambilan darah dari jantung dan pengambilan organ testis, epididimis, prostat, serta vesika seminalis untuk ditimbang. Hasil bobot organ reproduksi yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk persen bobot organ relatif berat badan, nilai ini diperoleh dari perhitungan bobot organ reproduksi dibagi dengan berat badan tikus dikalikan dengan 100%.

Pengukuran kadar hormon testosteron dilakukan dengan pengambilan darah yang diambil langsung dari jantung sebanyak 2 mL. Darah dipisahkan antara serum dan plasma melalui sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Serum kemudian dimasukkan kedalam tabung mikro dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -20 °C. Pengukuran kadar hormon testosteron dilakukan dengan *ELISA reader*.

Data kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi tikus yang diperoleh dianalisis menggunakan uji parametrik *One-Way Anova* dan dilanjutkan uji *post-hoc* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan. Sebelum dilakukan uji *One-Way Anova* data terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk Test* ($\alpha = 5\%$), dan diuji homogenitasnya menggunakan *Levene's Homogeneity of Variance Test* ($\alpha = 5\%$), apabila persyaratan normalitas dan homogenitas tidak terpenuhi, data dianalisis menggunakan uji non parametrik *Kruskall Wallis* dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui kelompok yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

Hasil Penelitian

Sebanyak 150 gram serbuk biji saga yang dimaserasi dengan pelarut metanol (7:1) diperoleh filtrat ekstrak metanol kental sebesar 22,95 gram. Rendemen ekstrak kental metanol yang didapatkan adalah 15,30% b/b. Sedangkan untuk fraksi n-heksana dan fraksi metanol, dari 500 gram serbuk biji saga yang dimaserasi dengan pelarut metanol (7:1) diperoleh ekstrak kental metanol sebesar 78,87

gram. Ekstrak kental ini kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana. Rendemen fraksi n-heksana yang diperoleh sebesar 3,254% b/b. Sedangkan untuk rendemen fraksi metanol yang didapatkan sebesar 7,042% b/b.

Hasil pengukuran rata-rata kadar hormon testosteron dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji menunjukkan bahwa kadar hormon testosteron yang diperoleh terdapat perbedaan secara signifikan pada kelompok fraksi n-heksana ($7,308 \pm 1,095$ ng/mL) dan fraksi metanol biji saga ($7,028 \pm 1,104$ ng/mL) terhadap kelompok kontrol ($10,986 \pm 0,841$ ng/mL). Hasil penurunan kadar hormon testosteron pada kelompok fraksi metanol biji saga lebih besar daripada penurunan kadar hormon testosteron pada kelompok fraksi n-heksana.

Tabel 1 juga menunjukkan hasil rata-rata penimbangan bobot testis, epididimis, dan vesika seminalis serta prostat pada hewan coba setelah pemberian bahan uji. Pemberian fraksi n-heksana dan pemberian fraksi metanol biji saga diketahui dapat menurunkan bobot organ epididimis pada hewan coba, namun untuk bobot organ reproduksi seperti testis, vesika seminalis dan prostat tidak menunjukkan penurunan yang signifikan pada seluruh kelompok perlakuan.

Pembahasan

Hormon testosteron diperlukan pria untuk mempertahankan kejantanan pria atau tidak menurunkan libido sehingga kadarnya diharapkan dalam batas normal [8]. Adanya penurunan kadar hormon testosteron pada kelompok perlakuan kemungkinan disebabkan oleh beberapa mekanisme penghambatan melalui senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam biji saga. Biji saga diketahui mengandung beberapa senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antifertilitas yaitu alkaloid abrin dan steroid [4].

Menurut Hartini [9], alkaloid yang terdapat pada tanaman dapat menekan seksresi dari hormon reproduksi sehingga proses spermatogenesis

terganggu. Adanya alkaloid abrin pada biji saga memberikan aktivitas antifertilitas dengan cara inaktivasi rRNA sehingga mengakibatkan penghambatan pada sintesis protein pada sel sertoli dan sel leydig [10], bila kerja sel leydig terhambat maka jumlah testosteron yang dihasilkan akan menurun dan kemampuan testosteron untuk merangsang sel sertoli untuk melakukan proses spermatogenesis juga akan berkurang [8]. Mekanisme lain dari abrin adalah berinteraksi langsung dengan membran mitokondria sehingga menyebabkan apoptosis pada spermatid [11], sedangkan steroid yang terdapat dalam biji saga dapat menyebabkan infertilitas dengan mekanismenya mengganti steroid alami dalam tubuh yaitu LH, FSH, dan testosteron sehingga terjadi penghambatan pada spermatogenesis [12].

Fraksi metanol biji saga menunjukkan penurunan kadar hormon testosteron paling tinggi dibandingkan pada dua kelompok perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena adanya kandungan abrin yang lebih banyak terlarut pada fraksi ini. Abrin adalah salah satu senyawa metabolit sekunder pada biji saga yang merupakan golongan alkaloid dan bersifat polar sehingga lebih banyak terlarut pada pelarut polar, yaitu fraksi metanol. Kelompok perlakuan fraksi n-heksana biji saga juga menunjukkan terjadinya penurunan kadar hormon testosteron yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok perlakuan ekstrak metanol. Hal ini diduga karena dalam fraksi n-heksana terdapat senyawa steroid yang bersifat non-polar dari biji saga yang terlarut didalamnya. Pelarut n-heksana yang bersifat non-polar memiliki kemampuan menarik suatu senyawa non-polar lain dalam biji saga yang lebih baik bila dibandingkan dengan pelarut metanol. Penurunan kadar hormon testosteron yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan fraksi metanol menunjukkan bahwa aktivitas dari abrin dalam biji saga lebih efektif menurunkan kadar hormon testosteron dibandingkan dengan senyawa steroid yang terdapat dalam fraksi n-heksana. Sedangkan penurunan hormon testosteron pada ekstrak metanol lebih rendah daripada masing-masing fraksi diduga karena pada ekstrak metanol terkandung banyak senyawa kimia yang memiliki mekanisme berlawanan atau berinteraksi dengan senyawa aktif biji saga. Adanya kemungkinan interaksi atau mekanisme kerja yang berlawanan ini menyebabkan aktivitas dari senyawa aktif kurang optimal dibandingkan pada kelompok fraksi. Hal ini sesuai dengan tujuan dari dilakukan fraksinasi, yaitu menghasilkan senyawa yang lebih murni sehingga dapat meningkatkan aktivitas tanaman dibandingkan saat berada dalam ekstrak kasar.

Penurunan bobot epididimis dapat terjadi akibat adanya vakuola kosong pada epitel epididimis

Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa 2015

[13]. Fungsi dari epididimis tergantung pada hormon testosteron, penurunan kadar hormon testosteron dapat mempengaruhi maturasi sperma di dalam epididimis [14]. Penurunan jumlah sperma pada cauda epididimis merupakan indikator terjadinya penurunan spermatogenesis akibat adanya agen toksisitas yang terdapat pada tanaman [15]. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yuliana [16], tikus yang diberi perlakuan ekstrak dan fraksi-fraksi biji saga terjadi penurunan morfologi spermatozoa normal dan peningkatan morfologi spermatozoa abnormal yang disebabkan oleh abnormalitas primer dan sekunder.

Abnormalitas spermatozoa primer disebabkan oleh penurunan kadar testosteron, penurunan kadar testosteron dapat menghambat pembentukan protein α -tubulin sebagai komponen dasar mikrotubuli dan mikrofilamen yang penting dalam proses spermiogenesis untuk menggerakkan sitoplasma ke arah belakang menuju flagel [14]. Sedangkan abnormalitas sekunder disebabkan adanya gangguan proses pematangan spermatozoa dalam epididimis [17].

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol dan fraksi n-heksana biji saga dengan dosis 75 mg/kg BB berpengaruh terhadap penurunan kadar hormon testosteron. Pemberian Fraksi n-heksana dan fraksi metanol juga berpengaruh terhadap penurunan bobot organ epididimis pada tikus jantan.

Beberapa saran yang dapat dilakukan peneliti selanjutnya adalah skrining atau isolasi untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam biji saga dalam kaitannya dengan efek penurunan kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi tikus jantan. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas dan reversibilitas kadar hormon testosteron dan bobot organ reproduksi tikus yang dipengaruhi oleh pemberian ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol biji saga ini.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Bersaing 2013.

Daftar Pustaka

- [1] BPS (Badan Pusat Statistik). Penduduk Indonesia Menurut Provinsi 1971, 1980, 1990, 2000, dan 2010; 2012. [dikutip 23 Mei 2014]. Diambil dari :

- http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=1&tabel=1&daftar=1&id_subyek=12¬ab=1
- [2] Musafaah, Noor FA. Faktor Struktural Keikutsertaan Pria dalam Ber-Keluarga Berencana (KB) di Indonesia (Analisis Data SDKI 2007). *Bul. Penelit. Kesehat.* 2012; 40(3): 154 – 161.
- [3] Lemmens RHMJ, Breteler FJ. *Abrus adanson.* Plant Resources of South-East Asia. 1999; 12 (1) : 73-77
- [4] Abu, Manirul, Majid, Anwarul. Antifertility Studies on Ethanol Extract of *Abrus precatorius* L. on Swiss Male Albino Mice. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2012; 3(1) : 288-292.
- [5] Talukder, Sarker, Hossain, Khan, Hannan, Islam. Evaluation of Fertility Disrupting Potentials of *Abrus precatorius* Seed Extracts in Male Rats for Arresting Spermatogenesis and Suppressed Fertility In Vivo. *Journal of Medical & Allied Health Sciences.* 2012; 1 (1) : 12-19.
- [6] Ganong MD, Wiliam F. *Fisiologi Kedokteran Edisi 22.* Terjemahan Brahm U. Pendit. Jakarta: EGC Kedokteran. 2008.
- [7] Choudhary, Singh, Verma, Singh. Antifertility Effects of Leaf Extracts of Some Plants in Male Rats. *Ind. J. of Experimental Biol.* 1990.
- [8] Guyton AC, John E. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11.* Editor Bahasa Indonesia oleh Luqman Yanuar Rahman. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2007.
- [9] Hartini. Pengaruh Dekok Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.) terhadap Jumlah Kecepatan dan Morfologi Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Tesis. Program Studi Ilmu Biomedik. 2011.
- [10] Bagaria, Surendranath, Ramagopal, Ramakumar, & Karande. Structure-Function Analysis and Insights into The Reduced Toxicity of *Abrus Precatorius* Agglutinin I in Relation to Abrin. *J Biol. Chem.* 2006; 281: 34465-34474.
- [11] Bhutia, Mallick, Stevens, Prokai, Vishwantha, Maiti. Induction of Mitochondria-Dependent Apoptosis by *Abrus* Agglutinin Derived Peptides in Human Cervical Cancer Cell. *Toxicol. In Vitro.* 2008; 22: 344-351.
- [12] Sinha S, Mathurm RS. Effect of Steroidal Fraction of Seeds of *Abrus precatorius* L. on Rat Testis. *Indian J. Exp. Biol.* 1990; 28: 752-756.
- [13] Verma RJ, Chinoy NG. Effect of Papaya Seed Extract on Contractile Response of Cauda Epididymal Tubules. *Asian Journal of Andrology.* 2002; 4 (1): 77-78.
- [14] Harlis WO. Morfologi Spermatozoa Epididimis Tikus (*Rattus norvegicus* L.) Setelah Diperlakukan Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Paradigma.* 2011;15 (1) : 39-34.
- [15] Joshi SC, Sharma P. Effect of Acephate on Testicular Functions of Albino Rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2012; 3(2): 137-146.
- [16] Yuliana, Rizka. Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol, Fraksi n-Heksana, dan Fraksi Metanol Biji Saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan. Skripsi. Jember: Universitas Jember. 2014.
- [17] Ermayanti NGAM, Suarni NMR. Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Perlakuan Infusa Kayu Amargo (*Quassia amara* Linn.) dan Pemulihannya. *Jurnal Biologi.* 2010; 14 (1) : 45-49.