

Pengaruh Ekstrak Ethanol Kemangi (*Ocimum canum* Sims.) terhadap Struktur Histologi Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Ivakhul Anzila¹⁾, Agung Pramana W. M.²⁾, Aris Soewondo³⁾, Sri Rahayu⁴⁾

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

E-mail: ³⁾ arisswnd@gmail.com, ⁴⁾ srahayu@ub.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak ethanol kemangi (*Ocimum canum* Sims.) terhadap struktur histologi testis mencit jantan (*Mus musculus*). Penelitian ini menggunakan 9 ekor hewan coba mencit strain Balb/c jantan berumur 3 bulan, berat badan 20 - 30 g. Hewan coba dibagi menjadi tiga (3) kelompok kontrol tanpa pemberian ekstrak kemangi (P0), kelompok yang diberi ekstrak kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB (P1) dan 200 mg/kgBB (P2). Ekstrak kemangi diberikan setiap hari secara oral selama 35 hari. Parameter yang diamati adalah diameter tubulus seminiferus, tebal epitel germinal, jumlah lapisan germinal dan jumlah sel spermatogenik meliputi spermatogonia, spermatosit dan spermatid. Data yang diperoleh dianalisis dengan *One-way ANOVA* ($p \leq 0,05$). Jika menunjukkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kemangi dosis 200 mg/kgBB meningkatkan diameter tubulus seminiferus, tebal epitel germinal, dan jumlah sel spermatid.

Kata kunci : *Ocimum canum*, spermatid, tubulus seminiferus

ABSTRACT

The research was conducted to observe the effect of kemangi ethanol extract (*Ocimum canum* Sims.) to the testis histology structure of male mice (*Mus musculus*). Research materials were using 9 BALB/c male mice on 3-4 months age with 20-30 g, which divided into 3 group (each group is 3 mice) is K (control), P1 (with 100 mg/kgBW of kemangi extract dose), P2 (with 200 mg/kgBW of kemangi extract dose). The extract was given orally every day for 35 days. On the 36th day, the animal model was sectioned for a testes organ isolation. Testes washed with PBS and fixed with 10% formalin for 24 hours, then made the histology of testes by paraffin method and Hematoxylin-Eosin staining. Observed parameters were the tubules seminiferous diameter, the thickness of germ epitel, the amount of germ layer and spermatogenic cell (spermatogonials, spermatocytes, and spermatids). The data were analyzed with *One-way ANOVA* ($p \leq 0,05$). If showed a significant difference, then continued with *Least Significant Difference* (LSD) Analysis. The results showed that giving 200 mg/kgBW of kemangi extract dose increased the tubulus seminiferous diameter, the thickness of germ epitel, and a number of spermatid cells.

Key words : *Ocimum canum*, spermatid, seminiferous tubules

PENDAHULUAN

Infertilitas merupakan gangguan reproduksi yang dapat dialami pria dan wanita. Infertilitas pada pria dapat disebabkan adanya gangguan pada proses spermatogenesis. Gangguan spermatogenesis dapat disebabkan oleh faktor internal (umur, psikologi, hormon dan genetik) atau factor eksternal. Sedangkan faktor eksternal (suhu, nutrisi, trauma, polusi lingkungan dan radiasi sinar X) (1).

Salah satu penyebab utama terganggunya proses spermatogenesis di dalam testis adalah adanya radikal bebas. Sumber radikal bebas ada

dua yaitu endogen dan eksogen. Sumber radikal endogen adalah reaksi-reaksi yang ada di dalam tubuh misalnya autoksidasi, oksidasi enzimatis maupun *respiratory burst*. Sedangkan sumber radikal eksogen antara lain asap rokok, radiasi, obat-obatan maupun makanan dari luar (2). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh dalam jumlah yang banyak akan merusak sel target seperti lemak, protein, karbohidrat dan DNA (3). Menurut Hadi (4), kerusakan ini dapat menyebabkan produksi spermatozoa di dalam testis menjadi berkurang.

Kemangi (*Ocimum canum* Sims) merupakan salah satu tanaman obat di Indonesia,

yang memiliki kandungan senyawa-senyawa antara lain *zinc*, flavonoid, protein dan lemak yang diduga dapat meningkatkan proses spermatogenesis (5). Kandungan flavonoid dalam kemangi sebesar 10 % (6; 5). Menurut penelitian Murod (7), senyawa flavonoid yang terdapat pada kemangi (*O. canum* Sims) berperan sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kemangi (*O. canum* Sims) terhadap spermatogenesis mencit jantan (*Mus musculus*).

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Kemangi

Simplisia kemangi dibersihkan, dicuci dan dikeringkan. Simplisia kemangi yang sudah kering kemudian digiling hingga menjadi serbuk. 175 gram serbuk kemangi dimeserasi dengan satu liter pelarut etanol 70% selama 24 jam dengan sesekali diaduk hingga mendapatkan meserat yang lebih bening. Meserat disaring dengan kertas saring *Wismen* hingga mendapatkan filtrat simplisia kemangi. Filtrat dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental.

Perlakuan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 9 ekor hewan coba mencit strain Balb/c jantan berumur 3 bulan, berat badan 20 - 30 g. Hewan coba dibagi menjadi tiga (3) kelompok, yaitu kelompok kontrol tanpa pemberian ekstrak kemangi (K), kelompok yang diberi ekstrak kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB (P1) dan 200 mg/kgBB (P2). Mencit diaklimatisasi selama dua minggu. Ekstrak kemangi diberikan setiap hari secara oral selama 35 hari. Selama aklimatisasi dan selama perlakuan hewan coba diberi pakan berupa pellet dan minum secara *ad libitum*.

Pembedahan Hewan Coba dan Koleksi Organ

Pada Hari ke-36, mencit didislokasi leher kemudian dibedah untuk diambil organ testisnya. Organ testis dibersihkan dengan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) sebanyak dua kali. Testis difiksasi dengan formalin 10% untuk selanjutnya dibuat preparat histologi testis. Pembuatan preparat histologi testis dengan metode parafin dan pewarnaan HE (Hematoxilin-Eosin).

Diameter Tubulus Seminiferus (DTS)

Diameter tubulus seminiferus diukur menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 200 kali pada 10 irisan melintang tubulus seminiferus yang utuh. Diameter diukur dengan 3 garis

berbeda yang diambil antar titik pada membran basal melalui sel spermatogenik.

Tebal Epitel Germinal (TEG)

Tebal epitel germinal diukur dari lapisan spermatogonia hingga lapisan spermatozoa. Pengukuran dilakukan dengan mikrometer menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 200 kali.

Jumlah Lapisan Germinal

Jumlah lapisan germinal diukur menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Lapisan germinal dihitung dengan cara membuat tiga garis yang bertemu pada titik tengah tubulus seminiferus dan dihitung sel yang dilewati garis yaitu dari sel yang melekat pada membran basal hingga sel yang mendekati lumen.

Jumlah Sel Spermatogenik

Jumlah sel spermatogenik meliputi spermatogonia, spermatosit dan spermatid dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x.

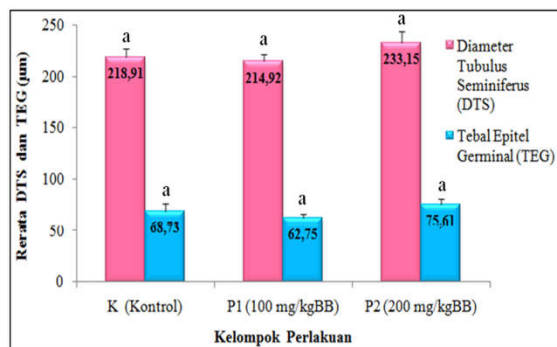
Analisis Data

Data hasil penelitian berupa diameter tubulus seminiferus, lapisan germinal dan jumlah sel spermatogenik dianalisis menggunakan *One-way ANOVA* dengan bantuan program SPSS 16. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$) maka analisis dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Diameter Tubulus Seminiferus (DTS) dan Tebal Epitel Germinal (TEG)

Rerata DTS pada kelompok K, P1 dan P2 berturut-turut adalah 218,91 μm , 214,92 μm dan 233,15 μm . Kelompok P2 memiliki nilai rerata diameter tubulus tertinggi dibandingkan kontrol maupun P1 (Gambar 1). Rerata TEG pada kelompok K, P1 dan P2 berturut-turut yaitu 68,73 μm , 62,75 μm dan 75,61 μm . Kelompok P2 memiliki nilai rerata TEG tertinggi dibandingkan kelompok lain (Gambar 1). Analisa statistik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada rerata DTS maupun TEG antar perlakuan.



Gambar 1. Rerata DTS dan TEG antara kelompok kontrol (K) dan perlakuan ekstrak kemangi (P1 dan P2)

Hasil penghitungan jumlah lapisan germinal diperoleh jumlah tertinggi pada P2 dan terendah pada kelompok P1 (Tabel 1). Pada semua tubulus seminiferus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memiliki spermatosit maupun spermatid. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses spermatogenesis semua kelompok mencit berjalan dengan normal.

Tabel 1. Rerata jumlah lapisan germinal (lapis) tiap-tiap kelompok

Kelompok	Jumlah lapisan (lapis)	ST	SD
K	7	√	√
P1	6	√	√
P2	8	√	√

Keterangan :

ST = Spermatosit

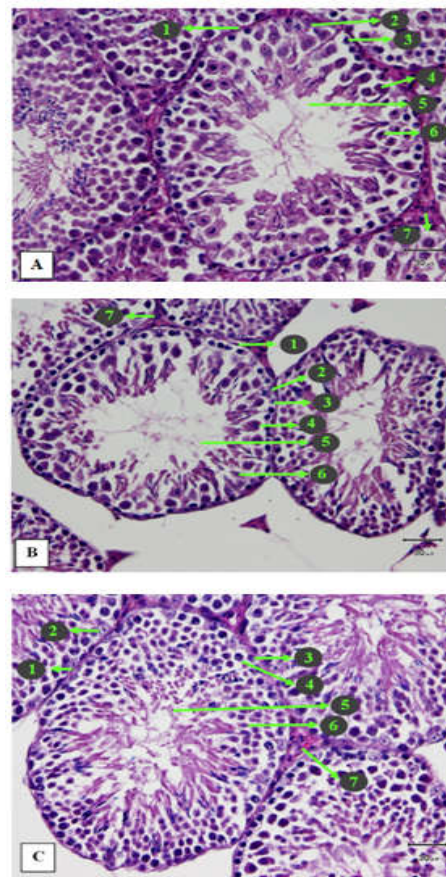
SD = Spermatid

(√) =ditemukan lapisan

Jumlah Sel Spermatogenik

Pada Gambar 2 menunjukkan adanya perkembangan sel spermatogenik pada sayatan melintang tubuli seminiferi testis hewan coba. Pada sayatan melintang tubuli seminiferi tersebut terlihat adanya sel spermatogenik yang meliputi spermatogonium, spermatosit, dan spermatid.

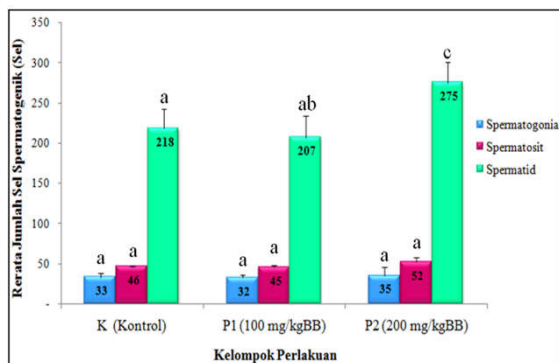
Rerata peningkatan jumlah sel spermatogonia dan spermatosit pada kelompok perlakuan P1, P2 tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan Kontrol, meskipun ada kecenderungan adanya peningkatan pada kelompok perlakuan P2. Adanya kecenderungan peningkatan jumlah sel spermatogonia dan spermatosit ini menunjukkan bahwa perlakuan kemangi dapat meningkatkan jumlah sel spermatogonia walaupun secara tidak signifikan (Gambar 3).



Gambar 2. Penampang melintang Tubulus seminiferus tikus setelah diberi perlakuan ekstrak kemangi. Keterangan: Kontrol (A), P1 (B), dan P2 (C); 1. Membran basal, 2. Sel sertoli, 3. Spermatogonia, 4. Spermatosit, 5. Lumen, 6. Spermatid, 7. Sel leydig

Perlakuan ekstrak kemangi dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB tidak dapat meningkatkan DTS dan TEG secara bermakna karena diduga dosis ekstrak kemangi yang digunakan belum mampu memicu peningkatan proses spermatogenesis pada mencit. Akan tetapi terdapat kecenderungan peningkatan DTS dan TEG pada kelompok P2 dibandingkan dengan kelompok K dan P1. Penelitian ini juga menunjukkan adanya keselarasan antara DTS dan TEG. Tubulus seminiferus dengan diameter lebih besar terbukti memiliki epitel germinal yang lebih tebal daripada normal. Peningkatan DTS dan TEG dapat menjadi indikasi adanya peningkatan jumlah sel spermatogenik yang diproduksi pada tubulus seminiferus. Cheng (8) mengatakan bahwa tubulus seminiferus tersusun atas sel-sel spermatogenik, sel sertoli dan sel leydig sehingga tingkat luasan tubulus seminiferus tergantung pada jumlah komponen

di dalamnya yang sebagian besar dipenuhi oleh sel-sel spermatogenik.



Gambar 3. Rerata Jumlah Sel Spermatogenik tiap tubulus seminiferus antara K dan perlakuan ekstrak kemangi (P1 dan P2)

Jumlah sel spermatid pada kelompok perlakuan P1 dan P2 mengalami peningkatan secara bermakna dibandingkan dengan Kontrol (Gambar 3). Hasil uji *Multiple Comparisons* menunjukkan bahwa ekstrak kemangi dapat meningkatkan jumlah sel spermatid secara bermakna pada dosis 200 mg/kgBB. Sel spermatozoa dan spermatid merupakan sel spermatogenik yang rentan terhadap perubahan fisiologis testis akibat paparan lingkungan karena spermatozoa khususnya spermatozoa pakiten sedang aktif mensintesis RNA. Berbeda dengan sel spermatozoa dan spermatid, spermatogonia lebih tahan terhadap paparan karena sel ini terletak pada membran basal yang terlindung oleh barrier yang dibentuk oleh sel sertoli (9). Sel spermatozoa dan spermatid yang terdapat didalam tubulus seminiferus dapat menjadi pedoman ada tidaknya penghambatan proses spermatogenesis.

Peningkatan jumlah sel spermatogenik pada perlakuan ekstrak kemangi dosis 200 mg/kgBB diduga karena pengaruh senyawa-senyawa yang terkandung dalam kemangi yang menyebabkan peningkatan sekresi hormon testosteron. Hormon testosteron tersebut kemudian bereaksi dengan baik dalam proses spermatogenesis. Kemangi memiliki kandungan senyawa flavonoid (10 g/kg), zinc (0,13 g/kg), protein kasar (0,4 g/kg), dan lemak kasar (70 g/kg) di dalam kemangi. Senyawa tersebut diduga dapat mempengaruhi spermatogenesis (5).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat menjaga testis dari stres oksidatif dan kerusakan DNA. Menurut Chauhan dan Dixit (10), antioksidan dapat mengubah level

androgen seperti hormon testosteron yang bertanggungjawab pada proses spermatogenesis.

Penelitian Somoyani (11) mengatakan bahwa pemberian antioksidan betakaroten selama 35 hari pada mencit mampu mencegah terjadinya gangguan spermatogenesis. Zinc merupakan komponen yang dapat merangsang sel leydig pada testis untuk memproduksi hormon testosteron (12). Menurut Cheah dan Wanxi (2011), Zinc berpartisipasi dalam meningkatkan aktivitas ribonuklease yang aktif selama mitosis spermatogonia dan meiosis spermatozoa.

Lemak (lipid) sangat penting di dalam testis karena dapat dirubah menjadi asam lemak esensial (13). Asam lemak esensial merupakan komponen utama dari membran sel dan berperan sebagai prekursor *hormone-like compounds* seperti prostaglandin. Kekurangan asam lemak dapat memicu degenerasi testis (14).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak kemangi (*Ocimum canum* Sims) pada mencit jantan (*Mus musculus*) strain Balb-c dengan 200 mg/kgBB berpotensi dapat meningkatkan proses spermatogenesis atau sebagai agen fertilitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh DPP/SPP Fakultas MIPA, Berdasarkan surat perjanjian Nomor : 06/UN 10.9/PG/2015 tanggal 20 Mei 2015

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Huhtaniemi, I.T. 2009. Endocrine Regulation Of Male Reproduction. University of Turku. Finland.
- [2] Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82:47-95.
- [3] Abuja, P.M., Albertini, R. 2001. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta.* 306 : 1-17.
- [4] Hadi, R.S. 2011. Apoptosis pada Sperma Sebagai Pertanda Adanya Gangguan Kesuburan Pria. *Majalah Kesehatan PharmaMedika.* Vol 3 (2).
- [5] Aluko, B.T., O.I. Oleyede., A.J. Afolayan. 2012. Full Length Research Paper Phytochemical and nutrient compositions of the leaves of *Ocimum canum* Sims.

- African Journal of Biotechnology*. Vol. 11 (63) hal: 12697-12701.
- [6] Shadia, S. 2007. Chemical Composition of *Ocimum Americanum* Essential Oil and Its Biological Effects Against, *Agrotis ipsilon*, (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. Vol 3(6): 740.
 - [7] Murod, Auva Marwah. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Air Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap Kualitas Sperma dan Densitas Sel Spermatogenesis Tikus Sprague – Dawley Jantan secara in vivo. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. Skripsi
 - [8] Cheng, C. Yan. 2008. Molecular Mechanisms in Spermatogenesis. Center for Biomedical Research The Population Council New York. USA
 - [9] Hayati, Alfiah., B. Yunaida., I.B.R. Pidada., W. Darmanto., D. Winarni. 2004. Efek 2-Methoxyethanol terhadap Struktur Histologi Testis Mencit (*Mus musculus*). *Berkas Penelelitian Hayati*. Vol (10): 7-12.
 - [10] Chauhan, N.S and Dixit V.K. 2008. Original Article Spermatogenic Activity of Rhizomes of *Curculigo orchioides* Gaertn in Male Rat. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. Vol. 1(2): 26-31.
 - [11] Somoyani, N. Ketut. 2011. Pemberian Astaxanthin Oral Mencegah Gangguan Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Pelatihan Fisik Berlebih. Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana. Denpasar. Tesis.
 - [12] Widhyari, S.D., A. Esfandiari., A. Wijaya., R. Wulandari., S. Widodo., L. Maylina. 2015. Tinjauan Penambahan Mineral Zn dalam Pakan Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Sapi *Frisian holstein* Jantan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. Vol. 20 (1): 72 77.
 - [13] Cheah, Yunsang., Wanxi. Yang. 2011. Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Bioscience and Biotechnology*. Vol 2 (182-197).
 - [14] Conquer, J.A., Martin, J.B., Tummon, I., Watson, L., Tekpetey, F. .2000. Effect of DHA Supplementation on DHA Status and Sperm Motility in Asthenozoospermic Males. *Lipids*. Vol 35: 149-154