

Pengaruh Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* Linn.) Terhadap Jumlah, Motilitas, Morfologi, Viabilitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*)

Dina Julia¹, Salni², Sri Nita³

¹Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

² Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya

³Departemen Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Jl. Dr.Mohd. Ali, Kompleks RSMH, KM.3,5, Palembang, 30126, Indonesia

Email : Dinajulia.amkeb@gmail.com

ABSTRAK

Partisipasi laki-laki dalam KB masih relatif rendah bila dibandingkan dengan keikutsertaan perempuan. Salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan adalah Bunga kembang sepatu yang bersifat antifertilitas. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak bunga kembang sepatu terhadap jumlah, motilitas, morfologi dan viabilitas spermatozoa tikus jantan (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel dalam penelitian ini menggunakan 25 tikus jantan strain Sprague Dawley usia 60-70 hari dengan berat badan 200-210 gram. Lama perlakuan 30 hari dengan dosis 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 400 mg/kgBB. Data disajikan dalam bentuk tabel dan diagram serta narasi untuk menginterpretasikan data tersebut. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya penurunan jumlah sperma pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol ($p=0,000$), terjadi penurunan motilitas sperma ($p=0,001$), terjadi peningkatan morfologi abnormal ($p=0,000$), dan terjadi penurunan viabilitas spermatozoa antara kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol ($p=0,000$). Dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna dari pengaruh ekstrak bunga kembang sepatu terhadap jumlah, motilitas, morfologi, viabilitas spermatozoa.

Kata kunci: Ekstraksi, Bunga kembang sepatu, jumlah, motilitas, morfologi, viabilitas spermatozoa.

ABSTRACT

*Male participation in family planning is still low relatively when compared to the participation of women. One of the traditional medicinal plants used are hibiscus flowers that are infertility. The purpose of this study to examine the effect of hibiscus flowers extract on the number, motility, morphology and viability of spermatozoa of male rats (*Rattus norvegicus*). This study was an experimental study using a completely randomized design. The sample in this study using 25 male rats Sprague Dawley strain of 60-70 days of age weighing 200-210 grams. Long treatment 30 days with a dose dosis 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 400 mg/kgBB. Data presented in tables and charts as well as narrative to interpret the data. The results of this study showed a decrease in sperm count in the treatment group than the control group ($p = 0.000$), decreased sperm motility ($p = 0.001$), an increase in abnormal morphology ($p = 0.000$), and decreased viability of spermatozoa between the treatment groups than in group controls ($p = 0.000$). It can be concluded that there is a significant difference from the effect of extracts of hibiscus flowers on the amount, motility, morphology, viability of spermatozoa.*

Keywords: Extract, hibiscus flower, amount, motility, morfology, viability spermatozoa

PENDAHULUAN

Berbagai metode sedang dikembangkan untuk menurunkan fertilitas pria dengan penggunaan senyawa yang bersifat antifertilitas, baik yang dapat menurunkan jumlah spermatozoa maupun yang berhubungan dengan pengaturan hormon.¹ Bahan yang digunakan untuk pengaturan fertilitas pria harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu: dapat menurunkan jumlah spermatozoa dalam jangka waktu tertentu, menurunkan kualitas spermatozoa dan daya fertilitasnya, tidak ada efek samping terhadap perilaku seksual dan dapat pulih kembali dalam jangka waktu relatif singkat.²

Di Indonesia, kembang sepatu digunakan sebagai obat gondongan, keputihan, sariawan, batuk berlendir, radang saluran nafas dan demam malaria.³ Dalam bidang pengobatan kembang sepatu juga bersifat hipoglikemik dan antifertilitas.⁴ Salah satu penelitian yang digunakan oleh Task Force WHO adalah mengembangkan metode kontrasepsi menggunakan zat dari herbal yang diasumsikan mengandung aktif agen anti kesuburan. Salah satu ramuan diharapkan untuk bertindak sebagai kontrasepsi adalah kembang sepatu.

Beberapa artikel telah menunjukkan bahwa bunga dari tanaman ini memiliki aktifitas antifertilitas, seperti anti implantasi dan anti spermatogenik pada hewan pengerat.⁵ Banyak penelitian juga menunjukkan efek anti kesuburan *Hibiscus rosa-sinensis* L sebagai penurunan progesteron pada tikus betina, yang mengarah ke penghentian kehamilan dan juga anti spermatogenik pada hewan jantan.⁶

Manfaat dan fungsi bunga sepatu sebagai obat herbal dapat diperoleh karena bunga sepatu mengandung berbagai senyawa seperti flavonoida, hibiscetine glikoside, cyanidin diglucosid, taraxeryl

acetat, polifenol, tanin, saponin, Ca-oksalat, zat pahit dan peroxidase. Senyawa-senyawa ini pada penyakit tertentu dapat membantu melemahkan berbagai jenis organisme penyebab penyakit. Senyawa flavonoid yang memiliki berbagai macam bioaktivitas, seperti antiinflamasi, antikanker, antifertilitas, antiviral, antidiabetes, antidepresant, diuretik, dll.⁷

Kembang sepatu baik bunga, daun, kulit batang dan akarnya mengandung hibiscetine glikoside, sebuah agen anti spermatogenesis yang digunakan sebagai kontrasepsi untuk pria. Selain itu bunga nya yang mekar juga mengandung kalsium oksalat dan mengandung flavonoid. Golongan flavonoid ini diketahui dapat mempengaruhi spermatogenesis dengan menekan sekresi hormon-hormon yang diperlukan untuk berlangsungnya spermatogenesis. Sebagai kontrasepsi pria, air rebusan kembang sepatu selain mengganggu keseimbangan hormon reproduksi (progesteron), juga memberikan efek menghambat sperma, mengganggu fungsi endokrin dan memperkecil ukuran testis.

Spermatozoa merupakan hasil dari proses spermatogenesis yang terjadi di dalam tubulus seminiferus pada testis. Proses spermatogenesis dipengaruhi oleh hormon testosteron. Kadar testosteron merupakan parameter antifertilitas.⁸ Kadar testosteron tinggi atau rendah (di bawah ambang normal) akan berakibat feed back negatif pada hipotalamus dan mengakibatkan proses spermatogenesis terganggu, jika kadar testosteron normal akan menggertak testis untuk melakukan proses spermatogenesis.⁹

Penurunan jumlah sel spermatozoa juga dimungkinkan melalui beberapa mekanisme seperti adanya gangguan dalam proses meiosis, gangguan proses spermatogenesis awal karena lepasnya

spermatid ke lumen tubulus, dan karena terjadi apoptosis spermatid, penurunan tersebut dihubungkan dengan penurunan testosteron dan FSH. Proses meiosis spermatosis primer menjadi spermatosit sekunder dan membentuk spermatid diatur oleh testosteron dan FSH melalui aksinya pada sel sertoli.¹⁰ Beberapa penelitian mengenai kembang sepatu telah dilakukan dengan khasiat dan pemanfaatan kembang sepatu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian Hibiscus rosa-sinensis L ekstrak bunga pada 250 mg/kgBB dapat mengurangi jumlah sel spermatogenetic sel-spermatogonium A, pakhiten spermatosit primer, dan spermatid-di testis. Selain itu, ada penurunan yang signifikan dalam konsentrasi sperma di vas deferens dan tubulus seminiferus diameter, terutama pada dosis 300 mg/kgBB.

Penelitian yang dilakukan oleh Arifiantini dengan menggunakan kelinci jantan menunjukkan bahwa ekstrak bunga kembang sepatu pada dosis 250 dan 500 mg/kgBB mengalami penghambatan pada spermatogenesis. Epididimis serta vas deferens kosong atau hanya mengandung sedikit spermatozoa. Kelenjar vesikularis, prostat dan Cowper mengalami peluruhan dan degradasi.¹¹

Dari uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak bunga kembang sepatu terhadap jumlah, motilitas, morfologi dan viabilitas spermatozoa tikus jantan Strain Sprague Dawley.

METODE

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan hewan percobaan tikus jantan Sprague Dawley. Rancangan penelitian yang digunakan untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan terhadap hewan uji adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelompok perlakuan dalam eksperimen ini adalah kelompok tikus yang

diberi ekstrak kembang sepatu secara oral, sedangkan kelompok kontrol diberi akuades steril sebagai kontrol.

Hewan uji yang dilakukan dalam penelitian adalah tikus putih jantan Strain Sprague Dawley usia 60-70 hari sebanyak 25 ekor, berat badan 200-210 gram. Hewan ini diperoleh dari Institut Teknologi Bandung.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Jana., et al (2013) menggunakan ekstrak bunga kembang sepatu dengan dosis 150mg/kgBB dan 300 mg/kgBB selama 60 hari. Pada penelitian ini akan diuji coba dengan pemberian dosis 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 500 mg/kgBB selama 30 hari.¹²

Hewan percobaan yang berupa tikus jantan sebanyak 25 dibagi menjadi 5 (lima) kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus jantan. Perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

Kelompok I sebagai kontrol: digavage dengan larutan CMC 1 %/kgBB

Kelompok II digavage dengan ekstrak bunga kembang sepatu 200 mg/kgBB ditambah dengan 2 ml CMC 1%

Kelompok III digavage dengan ekstrak bunga kembang sepatu 300 mg/kgBB ditambah dengan 2 ml CMC 1%

Kelompok IV digavage dengan ekstrak bunga kembang sepatu 400 mg/kgBB ditambah dengan 2 ml CMC 1%

Kelompok V digavage dengan ekstrak bunga kembang sepatu 500 mg/kgBB ditambah dengan 2 ml CMC 1%

Kembang sepatu yang didapatkan di timbang berat basah nya 3,5 kg, dibersihkan kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama beberapa hari hingga kering dan ditimbang berat keringnya, kemudian bunga kembang sepatu yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk dan didapatkan simplisia sebanyak 400 gr. Serbuk dibungkus dengan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam alat sokhlet, ditambah pelarut metanol 95%

sebanyak 1 liter. Kemudian di uapkan dengan alat evaporator sampai ekstrak kental. Ekstrak yang kental dikeringkan dengan hair dryer sampai menjadi seperti pasta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Bunga Kembang Sepatu

Bunga kembang sepatu yang di dapatkan dari lapangan sebanyak 3,5 kg. Dari 3,5 kg tersebut di dapatkan simplisia sebanyak 400 gram.

jumlah ekstrak yang diperoleh sebanyak 90 gram (22,5%). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia bunga kembang sepatu cukup besar dan ekstrak kembang sepatu sudah memenuhi syarat standar mutu obat.

BPOM (2005) menyatakan bahwa presentase $\geq 11\%$ sudah dapat digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan obat dan produk sediaan.¹³ Jumlah dari ekstrak tergantung pada jumlah serta jenis komponen atau zat yang larut di dalamnya. Selain jumlah, mutu ekstrak juga berkaitan dengan senyawa kimia yang dikandung karena respon biologis yang diakibatkan oleh ekstrak disebabkan oleh senyawa kimia. Menurut Depkes RI (2000), ekstraksi penting untuk dilakukan sebagai tahap awal untuk mengetahui respon biologis dari bahan uji terhadap ekstrak.¹⁴

Penentuan Golongan Senyawa Ekstrak Kembang Sepatu

Uji KLT dilakukan untuk menentukan golongan senyawa yang aktif. Prosedur kerja uji KLT yaitu, ekstrak 1 mg dimasukkan kedalam botol vial lalu ditambahkan pelarut methanol sebanyak 1 ml, aduk hingga rata. Kemudian dengan menggunakan pipet kapiler, ekstrak yang telah dilarutkan ditotolkan pada plat silica gel F254 sebanyak 2 kali tolotan, dikembangkan dengan fase gerak yang sesuai, semprot dengan larutan H₂SO₄. Letakkan di atas hot plate, lalu amati bercak warna yang muncul, seperti gambar di bawah ini:



Gambar 4.1. Hasil uji KLT pada ekstrak bunga kembang sepatu

Karakteristik Sampel

Dalam penelitian ini menggunakan karakteristik sampel yaitu berat badan dan umur tikus. Uji homogenitas dilakukan sebagai syarat untuk melakukan uji Anova. Dalam analisis of varian (Anova) populasi harus sama, jika nilai signifikasi (p value) lebih dari 0,05 maka dapat dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok data adalah sama.¹⁵ Perhitungan homogenitas sampel yang diukur dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 4.3 Uji Homogenitas Berat Badan Tikus

Kelompok Perlakuan	n	Berat badan tikus (gram) $\bar{x} \pm SD$	p value
CMC 1%	5	204,40 \pm 4,72	0,977
Ekstrak dosis 200mg/kgBB	5	205,00 \pm 5,00	
Ekstrak dosis 300mg/kgBB	5	203,60 \pm 3,50	
Ekstrak dosis 400mg/kgBB	5	204,60 \pm 4,56	
Ekstrak dosis 500mg/kgBB	5	203,40 \pm 4,66	

Levene test $p = 0,05$

Berdasarkan Tabel 4.3 hasil uji homogenitas rata-rata berat badan tikus sebelum perlakuan antar kelompok menunjukkan tidak ada perbedaan berat badan tikus antar kelompok dengan nilai $p=0,977$ ($p > \alpha$). Hal ini menunjukkan bahwa data berat badan tikus pada seluruh kelompok (kontrol negatif, ekstrak bunga

sepatu dosis 200mg/kgBB, dosis 300mg/kgBB, dosis 400mg/kgBB dan dosis 500mg/kgBB) homogen sehingga persyaratan penelitian eksperimental terpenuhi dan penelitian dapat dilanjutkan.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu terhadap Jumlah Spermatozoa

Tabel 4.4 Hasil Uji Anova Dilanjutkan Uji *Duncan* Jumlah Spermatozoa (Juta/ml) Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	N	Jumlahsperma $\bar{x} \pm SD$ (jt/ml)	<i>p value</i>
P0	CMC 1%	5	18,10 ± 1,994 a	0,000
P1	200mg/kgBB	5	14,94 ± 1,196 b	
P2	300mg/kgBB	5	14,36 ± 1,669 b	
P3	400mg/kgBB	5	14,93 ± 1,490 b	
P4	500mg/kgBB	5	13,08 ± 0,545 b	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut *Duncan* ($p < 0,05$)

Pada Tabel 4.4 didapatkan hasil uji Anova $p = 0,000$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kembang sepatu memiliki pengaruh terhadap penurunan jumlah sperma ($p = 0,000$). Penurunan jumlah spermatozoa setelah diberi ekstrak bunga kembang sepatu diduga karena adanya kandungan senyawa flavonoid (hasil uji KLT). Flavonoid yang terkandung dalam bunga kembang sepatu mampu menempati reseptor estrogen, dengan ditempatinya reseptor estrogen ini maka dapat menimbulkan feedback negatif, sehingga menyebabkan hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig dihambat sekresinya. Penghambatan sekresi hormon testosteron dapat menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa.

Mekanisme flavonoid menghambat spermatogenesis melalui poros hipotalamus, hipofisis, dan testis. Akibat sekresi LH dan FSH menurun. LH yang menurun akan menghambat sel leydig

dalam menghasilkan testoteron. Sedangkan kurangnya sekresi FSH dapat mempengaruhi sel sertoli dalam menghasilkan ABP (Androgen Binding Protein) untuk mengikat testoteron. Akibatnya proses spermatogenesis terganggu sehingga produksi sperma menurun.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu terhadap Motilitas Spermatozoa

Dari uji kromatografi (KLT) ekstrak bunga kembang sepatu mengandung flavonoid, flavonoid dapat menghambat pengeluaran hormon testosteron sehingga menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis. Gangguan yang terjadi pada proses spermatogenesis dapat menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa ini sangat berhubungan dengan kemampuan spermatozoa untuk melakukan fertilisasi.¹⁶ Motilitas spermatozoa berasal dari gerakan ekor sperma, hal ini berhubungan dengan morfologi dan viabilitas spermatozoa. Hal ini dikarenakan hanya sperma yang hidup yang dapat menghasilkan energi sehingga dapat terus bergerak, selain itu motilitas spermatozoa akan baik bila didukung oleh morfologi sperma yang baik.

Selain itu penurunan motilitas spermatozoa kemungkinan disebabkan oleh senyawa flavonoid yang diduga dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase pada membran sel spermatozoa dibagian tengah ekor.¹⁷ Enzim ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion natrium dan kalium. Jika aktivitas enzim ATP-ase terganggu, maka homeostasis ion natrium dan kalium akan terganggu sehingga konsentrasi Na intrasel meningkat, gradien Na⁺ melintasi membran sel akan menurun sehingga pengeluaran Ca juga akan mengalami penurunan. Apabila ion Ca²⁺ berkurang maka membran akan kehilangan kemampuannya untuk mengangkut bahan-bahan terlarut ke dalam sitoplasma.¹⁸ Dengan terganggunya

permeabilitas membran sperma akan menyebabkan terganggunya transpor nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoa untuk pergerakannya.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu terhadap Morfologi Spermatozoa

Tabel 4.6 Hasil Uji Anova Dilanjutkan Uji *Duncan* Morfologi Abnormal Spermatozoa Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	N	Morfologi(%) $\bar{x} \pm SD$	<i>p</i> value
P0	CMC 1%	5	51,11 ± 4,66 a	
P1	200mg/kgBB	5	74,67 ± 1,28 a	
P2	300mg/kgBB	5	80,30 ± 2,56 a	0,000
P3	400mg/kgBB	5	84,73 ± 3,39 b	
P4	500mg/kgBB	5	84,23 ± 1,54 c	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut *Duncan* ($p < 0,05$)

Flavonoid yang terkandung dalam bunga kembang sepatu diketahui mampu menempati reseptor estrogen. Dengan ditempatinya reseptor estrogen ini maka dapat menimbulkan *feedback* negatif, sehingga menyebabkan hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig dihambat sekresinya. Penghambatan sekresi hormon testosteron ini dapat menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis sehingga menyebabkan adanya peningkatan bentuk spermatozoa yang abnormal. Selain diakibatkan oleh gangguan hormonal, proses spermatogenesis juga dapat mengalami gangguan diakibatkan dari bahan kimia dan radikal bebas.

Abnormalitas spermatozoa adalah segala bentuk penyimpangan dari morfologi sperma. Penyimpangan dapat terjadi pada beberapa bagian spermatozoa, pada bagian

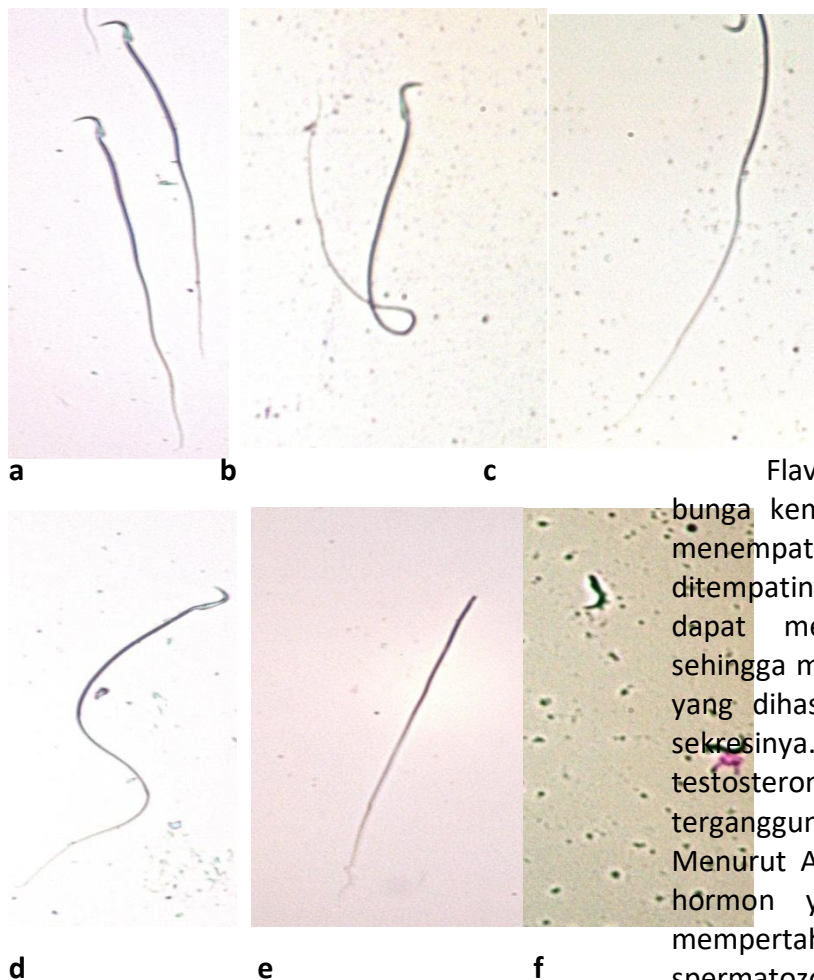
kepala bentuk penyimpangan dapat terjadi pada beberapa bagian spermatozoa, pada bagian kepala bentuk penyimpangannya antara lain berupa kepala yang terlalu besar, terlalu kecil, pipih, ganda bahkan tanpa kepala, pada bagian tengah bentuk penyimpangannya berupa lipatan atau lekukan, sedangkan penyimpangan pada bagian ekor berupa ekor melingkar, ekor patah dan ekor ganda.

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh bahwa pada perlakuan ekstrak kembang sepatu terjadi peningkatan morfologi spermatozoa abnormal dengan semakin meningkatnya dosis ekstrak kembang sepatu yang diberikan. Meningkatnya morfologi spermatozoa abnormal disebabkan oleh abnormalitas primer dan sekunder.

Abnormalitas primer dikarenakan adanya penurunan kadar testosteron sehingga menyebabkan terjadinya penghambatan pada pembentukan protein α -tubulin yang menjadi komponen dasar mikrotubuli dan mikrofilamen pada proses spermiogenesis untuk menggerakkan sitoplasma ke arah belakang menuju flagel.

Abnormalitas sekunder terjadi karena gangguan pada proses pematangan sperma di epididimis. Dalam epididimis spermatozoa mengalami serangkaian perubahan morfologi dan fungsional seperti ukuran, bentuk, ultrastruktur bagian tengah, DNA, pola metabolisme dan sifat membran plasma. Proses pematangan sperma di epididimis sangat tergantung pada kadar hormon testosteron, bila kadar testosteron menurun dapat menyebabkan morfologi spermatozoa menjadi abnormal.

Abnormalitas primer yang ditemukan dalam penelitian ini meliputi leher patah, ekor melingkar, ekor bergelombang, kepala putus, dan badan patah.



Gambar 5. (a) Sperma normal, (b) Ekor bergulung, (c) Leher patah, (d) Ekor bergelombang, (e dan f) Kepala putus
Pewarnaan : Giemsa
Pembesaran : 400x

Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu terhadap Viabilitas Spermatozoa

Tabel 4.7 Hasil Uji Anova Dilanjutkan Uji *Duncan* Viabilitas Spermatozoa Antar Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	N	Viabilitas (%) $\bar{x} \pm SD$	<i>p value</i>
P0	CMC 1 %	5	72,64 ± 7,657 a	0,000
P1	200mg/kgBB	5	65,57 ± 10,07 a	
P2	300mg/kgBB	5	54,04 ± 10,33 b	
P3	400mg/kgBB	5	48,46 ± 4,268 b	
P4	500mg/kgBB	5	45,31 ± 8,136 b	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada uji lanjut *Duncan* ($p < 0,05$)

Flavonoid yang terkandung dalam bunga kembang sepatu diketahui mampu menempati reseptor estrogen. Dengan ditempatinya reseptor estrogen ini maka dapat menimbulkan *feedback* negatif, sehingga menyebabkan hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel leydig dihambat sekresinya. Penghambatan sekresi hormon testosteron dapat menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis. Menurut Arsyad (1986) testosteron adalah hormon yang berperan penting untuk mempertahankan kemampuan hidup spermatozoa selama di epididimis.¹⁹ Proses spermatozoa di dalam epididimis akan terganggu bila terjadi penurunan pada hormon testosteron, di dalam epididimis juga akan di sekresikan zat-zat penunjang yang penting dalam proses spermatozoa seperti ion (Ca, Na, Cl), substrat (protein, asam sialat, glikogen, asam laktat, fosfolipid) dan enzim (LDH, fosfatase asam dan fosfatase basa). Apabila zat-zat penunjang tersebut tidak tersedia dalam jumlah yang cukup maka akan mempengaruhi terhadap kualitas spermatozoa.²⁰

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak bunga kembang sepatu dapat menurunkan jumlah spermatozoa tikus jantan pada dosis 200mg/kgBB sudah berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Pemberian ekstrak bunga kembang sepatu dapat menurunkan motilitas spermatozoa tikus jantan pada dosis 300mg/kgBB sudah berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Pemberian ekstrak bunga kembang sepatu dapat meningkatkan morfologi abnormal spermatozoa tikus jantan pada dosis 400mg/kgBB sudah berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Pemberian ekstrak bunga kembang sepatu dapat menurunkan viabilitas spermatozoa tikus jantan pada dosis 300mg/kgBB sudah berbeda nyata dengan kelompok kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ermayanti, N.G.A.M., A.A.S.A. Sukmaningsih, D. Ariani. 2005. *Pengaruh Infus Kayu Amargo Terhadap Testosteron Mencit (Mus Musculus L) dan Reversibilitasnya*. Jurnal Biologi IX (2) : 62-64.
2. Purwaningsih, E. 2003. Pengaruh Ekstrak Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*, L) terhadap proses spermatogenesis mencit jantan *strain AJ*. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 11.
3. Herbie, Tandi. 2015. *Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus.
4. Behera, T.K., S. Behera, and L. K. Bharathi. 2010. Bitter Gourd: Botany, Horticulture, Breeding. *Horticultural Reviews*. Volume 37
5. Murthy D. R. K., Reddy C. M. and Patil S. B. 1997. Effect of benzene extract of *Hibiscus rosa-sinensis* on the oestrous cycle and ovarian activity in albino mice. *Biol Pharm Bull*, 20: 756–8.
6. Kholkute SD. 1977. *Effects of Hibiscus rosea sinensis on 6. spermatogenesis and ascery reproduction organs in rats*. *Planta Medica*. p;31:129-35.
7. Tukiran, S., dan Hidayati, N., 2014. Skrining Fitokimia pada Beberapa Ekstrak dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*, L) dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum griff*), *Prosiding Seminar Nasional Kimia: Universitas Negeri Surabaya*.
8. Susetyarini, E, 2011. *Aktivitas dan Keamanan Senyawa Aktif Daun Beluntas Sebagai Antifertilitas Serta Pemanfaatannya Sebagai Buku Antifertilitas*. Disertasi. Pasca UM. Malang
9. Walker, W.H and Cheng, J. 2005. Review: FSH and Testosterone Signaling in Sertoli Cells. *Paper.Society for Reproduction and Fertility*. 130:15-28
10. Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd ed. Prentice-Hall, New Jersey.
11. Arifiantini, Iis. 1996. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (Hibiscus rosa-sinensis L) Sebagai Bahan Anti Fertilitas Pada Kelinci Jantan*. Tesis: IPB.
12. Jana. *Study Of The Effects of Hibiscus-Rosa-Sinensis Flower Extract on the Spermatogenesis of Male Albino Rats*. *J.Phys. Pharam. Adv.*, 2013, 3(6): 168-171.
13. Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI. 2005. Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. *Info POM*. 6(4): 1-12.
14. Departemen Kesehatan RI. 2014. *Survei Kesehatan Rumah Tangga*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

15. Sugiyono, 2008. *Metode Penelitian Bisnis*. Cetakan ke 12. Bandung: Alfabeta
16. Visconti, P.E., and Kopf, G, 1998. Regulation of Protein Phosphorylation during Sperm Capacitation. *Biology of Reproduction*, 59: 1-6.
17. Nisa, L.S. 2004. Kontrasepsi Alami untuk Pria. diakses tanggal 10 Januari 2016.
18. Haryati. 2003. Biomembran Available at: <http://www.usu.digital.library.com> Opened 27.04.2016.
19. Arsyad, Hayati. (Penterjemah). Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 1994. *Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Sperma-Getah Servik*. Edisi Ketiga. Palembang.
20. Rusmiati, 2007. Pengaruh Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L*) terhadap viabilitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus L*). *Bioscientiae Volume 4 no 2*: 63-70.