

**VIABILITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus L.*) JANTAN  
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK KUDA LAUT  
(*Hippocampus kuda Bleeker*)**

**Arum Setiawan, M.Si.  
Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya**

**ABSTRAK**

*Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) jantan setelah pemberian ekstrak kuda laut (*Hippocampus kuda Bleeker*). Penelitian ini dilakukan pada bulan September-November 2004, bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan yaitu kontrol yang diberi akuades dan perlakuan yang diberi ekstrak kuda laut dosis 75, 125, 175, 225, 275 mg/kg bb. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Perlakuan diberikan secara gavage dengan volume 0,1 ml/10 g bb pada satu siklus spermatogenesis selama 34 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kuda laut menyebabkan secara nyata meningkatnya persentase viabilitas spermatozoa dibandingkan kontrol.*

**Kata Kunci :** *Kuda Laut, Hippocampus kuda Bleeker, Mencit, Spermatozoa*

**ABSTRACT**

*The Study to investigate the effects of sea horse (*Hippocampus kuda Bleeker*) extracts to the male mice spermatozoon viability has been done on September to November 2004 in Physiology Laboratory at Biology Departement of Mathematic and Science Faculty, Sriwijaya University. The aims of this research was to know the effect of Sea horse (*Hippocampus kuda Bleeker*) extract on male mice spermatozoon viability. It was design used the Completely Randomized Design that consist of six treatments, they were control, a dosage of 75, 125, 175, 225 and 275 mg/kg bw. Each treatment was replicated four times. Sea horse extract was given at a volume of 0.1 ml/10 g bw and administrated by gavage at one spermatogenesis cycle during 34 days. The result of this research showed that this extract caused increassing of spermatozoon viability percentage and normal spermatozoon morfology percentage significantly compared with the control.*

**Key Words :** *Sea Horse, Hippocampus kuda Bleeker, mice, spermatozoon.*

## PENDAHULUAN

**K**uda Laut (*Hippocampus kuda* Bleeker) adalah salah satu hewan komoditas perikanan laut yang bernilai ekonomis dan diyakini mempunyai khasiat menyembuhkan berbagai penyakit ringan hingga berat, seperti penyakit kulit, infeksi tenggorokan, asma, dan impotensi (Vincent 1995). Menurut AlQodri (1988), di dunia internasional kuda laut dikenal sebagai *Traditional Chinese Medicine* (TCM) yang diakui oleh *World Health Organization* (WHO).

Kuda laut mengandung senyawa kimia yang berkaitan dengan sistem reproduksi yaitu progesteron dan taurin (Rui *et al.* 1993) dan (Zhaohui *dkk.*). Progesteron pada individu jantan merupakan hasil antara dalam biosintesis androgen yang berpengaruh terhadap sistem reproduksi jantan, terutama fungsi normal testes dalam menghasilkan spermatozoa (Partodiharjo 1992), sedangkan taurin berperan mengatur permeabilitas membran sel dalam rangka transpor aktif ion-ion yang dibutuhkan dalam metabolisme, seperti spermatogenesis (Montgomery *dkk.*). Selain itu, taurin juga berperan sebagai prekursor hormon pengatur spesifik di hipotalamus yang mengontrol sekresi hormon

gonadotropin (LH) yang berperan dalam pengaturan testosteron. Testosteron ini akan mempengaruhi spermatogenesis yang menentukan kualitas spermatozoa yang dihasilkan (Shills 1994).

Hasil penelitian Fitria (2000) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kuda laut dosis 100, 150, 200, 250 mg/kg berat badan (bb) secara oral selama 68 hari mampu meningkatkan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit. Selain itu, penelitian Santoso (2001) mengenai pemberian ekstrak kuda laut terhadap mencit secara oral menyebabkan meningkatnya pertumbuhan folikel primer menjadi folikel sekunder dan meningkatnya pembentukan folikel tersier, folikel de Graaf, korpus luteum dan folikel atresia. Peningkatan tersebut diduga berkaitan dengan kandungan progesteron dan taurin pada ekstrak kuda laut. Penelitian ini dilakukan menggunakan dosis terendah 75 mg/kgbb berdasarkan penelitian pendahuluan yang menunjukkan bahwa ekstrak kuda laut berpengaruh terhadap meningkatnya parameter pengamatan, dengan interval 50 mg/kg bb selama 34 hari perlakuan yang diberikan setiap hari secara *gavage*.

Kondisi spermatozoa dianggap sebagai tolak ukur penting terhadap evaluasi kemampuan reproduksi individu jantan karena berkaitan dengan fertilitas individu. Fertilitas suatu individu dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa yang meliputi motilitas, morfologi dan viabilitas spermatozoa (Partodiharjo 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) jantan setelah pemberian ekstrak kuda laut (*Hippocampus kuda* Bleeker), jangka waktu pengamatan selama satu periode spermatogenesis oleh karena viabilitas spermatozoa baru menunjukkan kemampuan spermatozoa untuk dapat terus bertahan hidup selama beberapa waktu setelah dikeluarkan dari saluran reproduksi jantan

## **METODE PENELITIAN.**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September sampai November 2004 bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Sriwijaya, Inderalaya

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan adalah akuades steril, etanol absolut, garam fisiologis (NaCl 0,9%), kuda laut, mencit jantan 24 ekor belum pernah kawin berumur 8-10 minggu dengan berat 45-50 gr, pakan (pellet) dengan nama dagang BK 02, sekam padi, dan zat warna giemsa 3%.

Alat yang digunakan adalah alat bedah, alat fotomikrografi, baskom yang berisi sekam dilengkapi botol minum dan wadah makan mencit, cawan petri, gelas arloji, gelas piala, gelas ukur, *haematocytometer Neubaeur*, *hand counter*, *hot plate*, mikroskop cahaya, pipet tetes, *stopwatch*, *syringe* dengan ujung jarum berkanul berukuran 1 ml.

### **Cara Kerja.**

#### **1. Persiapan Hewan Uji.**

Hewan uji yaitu mencit (*Mus musculus*) diperoleh dari Dinas Peternakan Bogor dan dikembangkan di kandang hewan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Seminggu sebelum digunakan mencit diaklimatisasi. Ruang pemeliharaan diperhatikan kebersihan kandang dan pencahayaannya, yakni memperoleh cahaya selama 14 jam dan gelap selama 10 jam

(Smith & Mangkoewidjojo 1988 : 18-20). Mencit diberi pakan (pellet) BK 02 dan air minum air ledeng secara berlebih (*ad libitum*). Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dewasa berumur 8-10 minggu dengan berat badan berkisar antara 45-50 gram.

## 2. Pembuatan Ekstrak Kuda Laut.

Kuda laut jenis *Hippocampus kuda*. Bleeker dengan ukuran  $\pm 20$  cm, berat kering  $\pm 2,5 - 3$  gr/ekor, diperoleh dari Balai Budidaya Laut (BBL). Kuda laut sebanyak 50 ekor dikeringanginkan secara tidak langsung di bawah sinar matahari kurang lebih 1 minggu. Selanjutnya kuda laut dihancurkan dengan menggunakan blender hingga dihasilkannya serbuk kasar dan dilakukan pengayakan dengan ayakan berukuran  $150 \mu\text{m}$  hingga diperoleh serbuk halus.

Setelah diperoleh serbuk halus, selanjutnya dilakukan ekstraksi. Untuk pembuatan ekstrak kuda laut digunakan metode Anief (1995).

### 2.1. Tahap I berupa Ekstraksi Fraksi Alkohol

Pada tahap ini digunakan etanol sebagai pelarutnya, tujuannya untuk

melarutkan zat-zat yang tidak larut di dalam air. Metode yang digunakan adalah maserasi, yaitu ekstrak direndam di dalam pelarutnya selama 24 jam. Setelah itu dilakukan filtrasi untuk memisahkan antara filtrat dan residunya menggunakan corong *Buchner*. Filtrat yang dihasilkan dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur  $40-50^{\circ}$  C dan tekanan vakum untuk menghilangkan kandungan air di dalamnya hingga dihasilkan ekstrak kering kuda laut I.

### 2.2. Tahap II berupa Ekstraksi Fraksi Air

Pada tahap ini residu hasil filtrasi dari ekstraksi tahap I dilarutkan dalam pelarut akuades steril dengan menggunakan metode yang sama dengan ekstraksi tahap I. Hasil akhir ekstraksi berupa ekstrak kering kuda laut II.

Kedua ekstrak kering dicampur menjadi satu dan diperoleh ekstrak kering total. Ekstrak kering total ini dilarutkan dalam akuades sesuai dosis yang dibutuhkan. Selanjutnya ekstrak dikemas dalam botol tertutup rapat dan dibungkus aluminium foil selalu disimpan di dalam refrigerator agar tahan lama dan terhindar dari kontaminasi mikroorganisme.

### 3. Rancangan Percobaan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 6 perlakuan yang terdiri atas 1 kontrol dan 5 perlakuan, yang masing-masing terdiri atas 4 ulangan. Kontrol diberi akuades dan perlakuan diberi ekstrak kuda laut dengan dosis 75, 125, 175, 225, dan 275 mg/kg berat badan (bb) secara *gavage* selama 34 hari.

### 4. Perlakuan.

Mencit jantan umur 8-10 minggu ditimbang kemudian diberi perlakuan dengan ekstrak kuda laut menggunakan syringe 1 ml dengan dosis berulang pada masing-masing mencit sebanyak 0,1 ml/10 g bb secara *gavage* (pemberian suatu zat melalui tube/tabung menuju ke rongga perut) (Ritschell 1974 : 22). Perlakuan diberikan selama 34 hari. Kelompok kontrol diberi akuades steril dengan cara pemberian dan volume yang sama seperti pada kelompok perlakuan. Setelah 34 hari perlakuan, mencit jantan dibunuh secara dislokasi leher. Selanjutnya mencit dibedah, diambil duktus deferensnya dan diperlakukan sesuai prosedur pembuatan sediaan spermatozoa.

### 5. Variabel Pengamatan.

#### - Viabilitas Spermatozoa.

Duktus deferens diambil, segera dicuci menggunakan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) dalam cawan petri. Selanjutnya duktus deferens dipotong-potong di dalam cawan arloji dan suspensi diperoleh dengan menambahkan 2 ml larutan garam fisiologis. Kemudian diaduk perlahan-lahan hingga homogen (Garner, D.L. and Hafez 1987 : 455).

Suspensi homogen ditetaskan secara merata pada gelas arloji yang bersih dan bebas lemak dan segera dikering angin dan difiksasi dengan metanol. Selanjutnya dibuat sediaan apusan menurut metode Romanowski dan pewarnaan Giemsa (Arsyad & Hayati 1994 : 55). Penentuan antara spermatozoa yang mampu bertahan hidup dan spermatozoa yang mati ini didasarkan atas reaksi spermatozoa terhadap afinitas penyerapan zat warna. Spermatozoa yang hidup cenderung tidak menyerap zat warna dan tetap jernih karena membran plasmanya yang berupa membran dwilapis semipermeable yang tersusun dari lipoprotein kondisinya masih baik dan berfungsi secara normal sehingga tidak dapat ditembus oleh molekul-molekul zat warna, ataupun kalau

ditembus hanya sedikit saja. Sedangkan spermatozoa yang mati lebih banyak menyerap zat warna karena kondisi permeabilitas membran plasmanya telah rusak terutama di daerah pangkal kepala yang tidak tertutup akrosoma sehingga dengan mudah dapat ditembus oleh molekul-molekul zat warna. Dengan pewarnaan giemsa spermatozoa yang hidup memiliki kepala transparan atau berwarna sedikit kehijauan, sedangkan spermatozoa yang mati memiliki kepala yang berwarna kemerahan.

Pengamatan terhadap spermatozoa hidup (transparan) dan mati (berwarna merah) dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran kuat (400

x) dan dihitung menggunakan *hand counter*. Selanjutnya, dihitung persentase masing-masing spermatozoa pada setiap 100 ekor spermatozoa.

#### 6. Analisis Data.

Pada penelitian ini pengujian statistika yang dipakai adalah ANOVA dua arah dengan uji *Completely Randomized Design* (CRD) pada tingkat ketelitian 0,05 dan 0,01. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT)  $\alpha$  5%.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN.

Hasil pengamatan terhadap tingkat viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel I berikut ini :

Tabel I. Persentase viabilitas spermatozoa dengan metode pewarnaan Giemsa

Perlakuan (mg/kg bb)	Viabilitas spermatozoa (%)
Kontrol	96,42 ± 0,95 a
75	96,83 ± 0,83 ab
125	97,25 ± 0,36 ab
175	97,92 ± 1,26 bc
225	98,25 ± 0,36 bc
275	99,25 ± 0,60 c

Ket : huruf sama dibelakang angka menunjukkan tidak ada beda nyata

Pada Tabel I. diketahui bahwa pada dosis 75 mg/kg bb menyebabkan persentase viabilitas spermatozoa meningkat secara tidak nyata dibandingkan kontrol. Demikian pula pada pemberian ekstrak kuda laut dosis 125 mg/kg bb. Pada pemberian ekstrak kuda

laut dosis 175 mg/kg bb menyebabkan meningkatnya persentase viabilitas spermatozoa secara nyata dibandingkan kontrol dan berbeda tidak nyata dibandingkan dosis 125 mg/kg bb. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 175 mg/kg bb

merupakan dosis efektif yang memberikan pengaruh meningkatkan secara nyata dibandingkan kontrol. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa pada dosis 75 m/kg bb dan 125 mg/kg bb pemberian ekstrak kuda laut sudah memberikan pengaruh meningkatkan viabilitas spermatozoa, meskipun secara statistik pengaruh tersebut belum nyata bila dibandingkan dengan kontrol.

Perlakuan dengan pemberian ekstrak kuda laut dosis 225 mg/kg bb memberikan pengaruh meningkatkan pesentase viabilitas spermatozoa yang berbeda tidak nyata dibandingkan dosis 175 mg/kg bb. Demikian pula pada dosis 275 mg/kg bb. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kuda laut menyebabkan meningkatnya persentase viabilitas spermatozoa secara perlahan seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Dapat dikatakan juga bahwa dosis 175 mg/kg bb merupakan dosis optimal dalam perlakuan ini. Dimana peningkatan dosis setelah dosis 175 mg/kg bb tidak memberikan pengaruh yang nyata, meskipun secara kuantitas menunjukkan adanya peningkatan.

Peningkatan persentase viabilitas spermatozoa disebabkan kandungan dalam

ekstrak kuda laut, diduga berperan dalam mengatur permeabilitas membran spermatozoa. Hal ini didukung oleh Jeyendran *dkk.* (1984) yang menyatakan bahwa permeabilitas membran spermatozoa berhubungan erat dengan viabilitas spermatozoa, yang akan mempengaruhi transportasi nutrisi bagi daya tahan hidupnya. Selain itu juga, penggunaan ekstrak kuda laut menyebabkan terjadinya penambahan progesteron dari luar tubuh yang akan disintesis sehingga terbentuk androgen. Bertambahnya androgen berarti meningkatnya kadar testosteron yang diikuti dengan peningkatan produksi cairan prostat. Cairan prostat ini berfungsi untuk melindungi spermatozoa dari lingkungan yang tidak menguntungkan sehingga dapat meningkatkan viabilitas spermatozoa (Garner & Hafez 1987).

Zat aktif yang terkandung dalam ekstrak kuda laut berperan dalam memfasilitasi proses-proses metabolisme yang dibutuhkan oleh spermatozoa, terutama biosintesis energi yang dibangkitkan melalui aktifitas seluler oleh mitokondria. Mekanisme aksi yang dipergunakan melalui dua cara yaitu : 1) dengan mempengaruhi pembentukan dan perombakan zat-zat

pengatur yang terdapat dalam spermatozoa, terutama aktifitas cAMP yang melibatkan enzim adenilat siklase, dan 2) dengan mengatur permeabilitas membran plasma spermatozoa sehingga lalu lintas zat-zat yang keluar masuk dapat dikendalikan dengan sebaik-baiknya ( Jeyendran *dkk.*). Dengan adanya kedua mekanisme aksi yang berjalan secara berdampingan maka kondisi fisiologis spermatozoa senantiasa dapat terpelihara dengan baik. Hal ini menyebabkan spermatozoa dapat bertahan hidup lebih lama apabila dibandingkan dengan tanpa adanya pengaruh zat aktif kuda laut. Kematian spermatozoa secara normal biasanya akibat faktor usia. Dengan adanya zat aktif tersebut maka usia spermatozoa dapat sedikit diperpanjang dan masih dapat mempertahankan kondisinya untuk tetap hidup dan berfungsi dengan baik.

Viabilitas spermatozoa sangat penting untuk diteliti karena menunjukkan kemampuan spermatozoa untuk dapat terus bertahan hidup selama beberapa waktu setelah dikeluarkan dari saluran reproduksi jantan. Selanjutnya viabilitas tersebut dapat digunakan untuk menunjukkan tingkat kondisi kesehatan spermatozoa karena hanya spermatozoa yang memiliki kondisi yang

baik saja yang mampu bertahan terhadap perubahan lingkungan, terutama perubahan temperatur, viskositas media, dan perubahan derajat keasaman. Saluran reproduksi betina memiliki kondisi lingkungan dengan kecenderungan temperatur tinggi, media dengan viskositas tinggi, dan lingkungan dengan pH asam. Hal ini jauh berbeda dengan kondisi lingkungan pada reproduksi jantan. Adanya perbedaan kemampuan spermatozoa untuk mempertahankan hidupnya disebabkan sejumlah faktor internal seperti aktivitas metabolisme energi, usia, dan kandungan biokimia dan faktor eksternal seperti kadar fruktosa, buffer, medium pengecer, dan komponen mineral (Salisbury & Demark 1985).

## KESIMPULAN.

### 4.1. Kesimpulan.

Dari analisis data dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kuda laut menyebabkan secara nyata meningkatnya persentase viabilitas spermatozoa dibandingkan kontrol dengan dosis yang optimal pada penelitian ini adalah 175 mg/kg bb.

#### 4.2. Saran.

Disarankan untuk melakukan penelitian yang menggunakan hewan dengan tingkatan lebih tinggi dari mencit dan mendekati sifat fisiologi manusia.

#### DAFTAR PUSTAKA

- AlQodri, A.H. 1988. Seahorse Culture in Indonesia. *Paper. Presented to International Workshop on the Management and Culture of Marine Species Used in Traditional Medicines. July 5-9. Cebu. Hal 1.*
- Anief, Moh. 1995. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktik. Cetakan 5. Gajah Mada University Press. Hal 166.*
- Arsyad, K.M. dan Lusya Hayati. 1994. *Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Sperma-Getah Servik. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Biologi Medik. Inderalaya. Hal 14-18, 55.*
- Fitria, L. 2000. Pengaruh Ekstrak Kuda Laut (*Hippocampus kuda* Bleeker) Terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* L.). *Skripsi. Biologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.*
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 1987. *Reproduction in Farm Animals. Edited by E.S.E. Hafez. 5<sup>th</sup> Edition. Lea & Febinger. Philadelphia. Hal 189-195, 197-189.*
- Jeyendran, R.S., Van der Ven HH, and Pelaez MP. 1984. Development of an Assay to Asses Functional Integrity of Human Sperm Membrane and Its Relationship to Other Semen Characteristics. *J. Reprod Fert. (70 : 219-228).*
- Montgomery, R., R.L. Dryer, T.W. Conway dan A.A. Spector. 1993. *Biokimia, Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus. Terjemahan oleh M. Ismadi. Jilid 2. UGM Press. Yogyakarta. Hal 354.*
- Partodiharjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan ke-3. Mutiara Sumber Widya. Jakarta. Hal 15, 25-27, 30-43, 79-86.*
- Ritschell, W.A. 1974. *Laboratory Manual of Biopharmaceutics. Drug Intelligence Publications. Hamilton. Hal 22.*
- Rui, S., Z. Youhui, and W. Zhongge, 1993. Nihailong Tiquwu De Shiyan Yanjiu (Experimental studies on hailong extracts from *Syngnathoides biaculeatus* I. The Influences of hailong extracts on human PBL proliferatin and human tumour cell lines). *Journal of Marine Drugs. 2 (46) : 4-7. Beijing*
- Salisbury, G.W. and N.L. Van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan oleh R. Djanuar. UGM Press. Yogyakarta. Hal 218-222, 225-229, 231-233.*
- Santoso, Sujoko. 2001. Pengaruh Ekstrak Kuda Laut (*Hippocampus kuda* Bleeker) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus* L.) Estrus. *Skripsi. Biologi UGM. Yogyakarta. Hal 7.*
- Sarwono, B., Jenny R.H., dan Sumarni. 1988. *Kuda Laut : Ikan Aneh Mirip Kuda.*

- Trubus*. No. 228. Edisi ke-19. November 1990. Jakarta. Hal 221.
- Shills, E.M., James, A.O., and Moshe, S. 1994. *Modern Nutrition on Health on Diseases*. 8<sup>th</sup> Edition. Har Court Brance & World. Inc. New York. Hal 903, 1120.
- Smith, Emil L., Hill, Robert L., Lehman, I. Robert., Lefkowitz, Robert J., Handler, Philip and White, Abraham. 1983. *Principles of Biochemistry*. 7<sup>th</sup> Edition. McGraw-Hill Company. United States of America. Hal 652.
- Smith, John B. dan Soesanto Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta. Hal 10-14, 18-20.
- Soehadi, K dan K.M. Arsyad. 1982. *Analisis Sperma*. Lembaga Penerbitan Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 16, 19-23.
- Vincent, A.C.J., , 1995. Exploitation of Seahorse and Pipefish. *Naga The ICLARM Quartely*. Philippines. Hal 18-19.
- Zhaohui, Z., X. Guojun, X. Luoshan, and, W. Qiang, 1995. Zhongyao Haima, Hailong De Bencao Kaozheng (Study on Traditional medicine use of seahorse and pipefish). *Journal of Chinese Medicine*. 20 (12) : 710-711. Beijing