

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdarifa. L*)
TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SEL SPERMATOGENIK PADA MENCIT
(*Mus musculus*) YANG DIBERI 2-METHOXYETHANOL

SUPARNIASRI

Pembimbing : Drh Sri Agus Sudjarwo, PhD

ROSELLA FLOWER; METHOXYETHANOL

KKA KK TKR 03 / 12 Sup p

Copyright© 2012 by Airlangga University Library Surabaya

RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdarifa L*) terhadap
Kualitas dan Kuantitas Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus*) yang diberi 2-
*Methoxyethanol***

Infertilitas sering terjadi akibat gangguan kualitas sperma yang dapat terjadi karena sperma terkontaminasi oleh bahan toksik, diantaranya adalah kelompok senyawa ester ftalat. Ester ftalat sering digunakan sebagai bahan pelentur dalam industri plastik, pelarut pada cat, vernis, pewarna, tinta, dan kosmetik. Ester ftalat masuk ke dalam tubuh manusia dengan berbagai cara, yaitu kontak melalui kulit, pernapasan, dan makanan. Salah satu ester ftalat yang paling berbahaya adalah *2-methoxyethylphthalate* (DMEP). Senyawa DMEP dalam tubuh dihidrolisis menjadi *2-methoxyethanol* (2-ME) yang selanjutnya akan dioksidasi oleh alkohol dehydrogenase menjadi *2-methoxyacetaldehyde* (MALD), kemudian oleh aldehyd dehydrogenase diubah menjadi methoxyacetic acid (MAA). Senyawa 2-ME dapat menyebabkan stres oksidatif pada spermatozoa sehingga menyebabkan kerusakan sel, yang merupakan penyebab utama disfungsi spermatozoa. Kerusakan sel akibat stres oksidatif dapat dikendalikan oleh antioksidan. Salah satu antioksidan eksogen yang berasal dari tanaman adalah bunga Rosella (*Hibiscus sabdarifa L*). Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga Rosella (*Hibiscus sabdarifa L*) terhadap kualitas dan kuantitas sel spermatogenik mencit (*Mus musculus*) yang diberi 2-Methoxyethanol.

Pada penelitian ini menggunakan 35 mencit jantan dewasa (*sexually mature*). Mencit tersebut dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor. Satu kelompok (kelompok kontrol negatif) diberi aqua, satu kelompok (kelompok kontrol positif) diberi larutan 2-ME, dan 3 kelompok diberikan ekstrak bunga Rosella dengan beberapa dosis, yaitu: 14mg/KgBB/hari, 28mg/KgBB/hari, dan 56mg/KgBB/hari. Ekstrak bunga Rosella tersebut bisa larut dalam aqua. Semua larutan tersebut diberikan peroral menggunakan sonde selama 5 hari untuk kelompok kontrol, dan 13 hari untuk kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak bunga Rosella yang 5 hari sebelumnya sudah diberikan larutan 2-ME. Setelah selesai perlakuan mencit dikorbankan dan diambil epididimisnya dan dibuat suspensi spermatozoa untuk diamati motilitas dan morfologinya, selanjutnya testis diambil dan dibuat preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Selanjutnya preparat diamati dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali untuk mengamati dan menghitung jumlah sel spermatogenik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata \pm simpangan baku pada masing-masing kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan dengan ekstrak bunga Rosella dosis 14 mg/KgBB/hari, 28 mg/KgBB/hari, dan 56 mg/KgBB/hari adalah: untuk jumlah spermatozoa dengan motilitas tipe A (72,14 \pm 3,44%; 4,78 \pm 5,71%; 22,67 \pm 13,11%; 19,24 \pm 5,15%; dan 73,81 \pm 6,94%), jumlah spermatozoa dengan morfologi normal (84,43 \pm 4,57%; 51,61 \pm 4,38%; 84,28 \pm 8,12%; 83,33 \pm 3,98%; dan 88,76 \pm 2,84%), jumlah spermatozoa (526,24 \pm 113,43; 147,22 \pm 78,84; 296,56 \pm 225,05; 300,38 \pm 113,88; dan 838,62 \pm 61,54), jumlah spermatogonium (49,48 \pm 1,18; 39,22 \pm 1,05; 44,05 \pm 0,65; 50,14 \pm 1,78, dan 51,43 \pm 1,36; jumlah spermatosit primer (48,49 \pm 0,94; 39,00 \pm 0,92; 43,72 \pm 2,07; 39,10 \pm 0,79; dan 50,95 \pm 1,32), dan jumlah spermatid (148,10 \pm 1,66; 129,89 \pm 3,66; 141,44 \pm 1,59; 151,28 \pm 2,60; dan 152,57 \pm 1,61).

Dari uji normalitas data didapatkan $p > 0,05$ pada semua data, maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal. Hasil penelitian dengan menggunakan uji Anova untuk motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang hanya diberi 2-ME dan semua kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella. Pada kelompok dengan pemberian ekstrak bunga Rosella dosis 14 mg/KgBB tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan dosis 28 mg/KgBB, sedang pada kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 56 mg/KgBB tidak beda bermakna dengan kelompok yang tidak diberi 2-ME. Hasil penelitian dengan menggunakan uji Anova untuk morfologi spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang hanya diberi 2-ME dan semua kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella. Di antara kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dengan berbagai dosis tidak terdapat perbedaan bermakna, dan semua kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella tidak beda bermakna dibanding kelompok yang tidak diberi 2-ME. Hasil penelitian dengan menggunakan uji Anova untuk jumlah spermatozoa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang hanya diberi 2-ME dan kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 28 mg/KgBB dan 56 mg/KgBB. Antara kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 14 mg/KgBB dengan dosis 28 mg/KgBB tidak terdapat perbedaan bermakna. Hasil penelitian dengan menggunakan uji Anova untuk jumlah spermatogonium menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang hanya diberi 2-ME dan semua kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella. Antara kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 28 mg/KgBB dengan dosis 56 mg/KgBB tidak terdapat perbedaan bermakna, dan antara kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 28 mg/KgBB dengan kelompok yang tidak diberi 2-ME tidak terdapat perbedaan bermakna. Hasil penelitian dengan menggunakan uji Anova untuk jumlah spermatosit primer menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang hanya diberi 2-ME dan kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 14 mg/KgBB dan dosis 56 mg/KgBB. Di antara kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella terdapat perbedaan bermakna. Kelompok tidak diberi 2-ME berbeda bermakna dengan semua kelompok. Hasil penelitian dengan menggunakan uji Anova untuk jumlah spermatid menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang hanya diberi 2-ME dan semua kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella. Antara kelompok yang diberikan ekstrak bunga Rosella dosis 28 mg/KgBB dan dosis 56 mg/KgBB tidak terdapat perbedaan bermakna.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak bunga Rosella meningkatkan motilitas spermatozoa, morfologi normal, jumlah spermatozoa, jumlah spermatogonium, jumlah spermatosit primer, dan jumlah spermatid pada mencit yang diberi 2-ME.

SUMMARY

The Influence of Rosella Flower's (*Hisbiscus sabdarifa L*) Extract to Quality and Quantity of Spermatogenic Cells of Mice (*Mus musculus*) That Be Given 2-Methoxyethanol

Infertility often be caused by disturbance of sperm quality that caused of contaminated of sperm by toxic material among of ester ftalat compound. Ester ftalat often be used as elastic material in plastic industry, solution in paint, varnish, dye, ink, and cosmetic. Esther ftalat came into the human body in many ways: contact through skin, breathing, and eating. One of esther ftalat that the most dangerous is 2-methoxyethylphthalate (DMEP). The compound of DMEP in body be hidrolitice be 2-methoxyethanol (2-ME) and than be oxydated by alcohol dehydrogenase be 2-methoxyacetaldehyde (MALD), than by aldehyd dehydrogenase be methoxyacetic acid (MAA). Compound of 2-ME can be cause stress oxidative at spermatozoa so that can caused damage of cells, that the main cause of spermatozoa dysfunction. The damage of cells caused by stress oxidative can be controlled by antioxidant. One of exogen antioxidant is Rosella flower (*Hisbiscus sabdarifa L*). The goal of this research to know the influence of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L*) extract to quality and quantity of spermatogenic cells of mice (*Mus musculus*) that be given 2-Methoxyethanol.

This study use 35 male adult mice (sexually mature). Those divided into 5 groups, each group consist of 7 mice. One group (negative control group) be given 2-ME solution, and three treatment groups be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L*) extract be solute by aqua in dosages: 14 mg/kg BW/day, 28 mg/kg BW/day, and 56 mg/kg BW/day. The solution was given orally for 5 days for control group, and 13 days for treatment groups. The treatment groups had been given 2-ME solution for 5 days before get Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L*) extract. After treatment the mice be sacrificed and be taken the epididimis to get the spermatozoa to get the spermatozoa to observe for mortality, morphology, and the amount of spermatozoa and than was made testis fixation by Hematoxillin Eosin (HE) fixation to account the amount of spermatogonium, primary spermatosit and spermatid. The fixation be observed by light microscope by 400 times to observe and account the amount of spermatogenic cells.

The result were the average of negative control group, positive control group, and the treatment groups (be given Rosella Flower's (*Hisbiscus sabdarifa L*) Extract) in dosages: 14 mg/kg BW/day, 28 mg/kg BW/day, 56 mg/kg BW/day is for the amount of spermatozoa with motility type A ($72,14\pm 3,44\%$; $4,78\pm 5,71\%$; $22,67\pm 13,11\%$; $19,24\pm 5,15\%$; and $73,81\pm 6,94\%$), the amount of spermatozoa with normal morphology ($84,43\pm 4,57\%$; $51,61\pm 4,38\%$; $84,28\pm 8,12\%$; $83,33\pm 3,98\%$; dan $88,76\pm 2,84\%$), the amount of spermatozoa ($526,24\pm 113,43$; $147,22\pm 78,84$; $296,56\pm 225,05$; $300,38\pm 113,88$; and $838,62\pm 61,54$), the amount of spermatogonium ($49,48\pm 1,18$; $39,22\pm 1,05$; $44,05\pm 0,65$; $50,14\pm 1,78$, and $51,43\pm 1,36$), the amount of

primary spermatosit ($48,49 \pm 0,94$; $39,00 \pm 0,92$; $43,72 \pm 2,07$; $39,10 \pm 0,79$; and $50,95 \pm 1,32$), and the amount of spermatid ($148,10 \pm 1,66$; $129,89 \pm 3,66$; $141,44 \pm 1,59$; $151,28 \pm 2,60$; and $152,57 \pm 1,61$).

The normality date test was $p > 0,05$ at all data, could be concluded that the data in normal distribution. The result of this research by Anova test for motility of spermatozoa to point to significant differences among 2-ME group and all of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract group. In dosages of 14 mg/kg BW/day group be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract did not had significant differences with 28 mg/kg BW/day, whereas 56 mg/kg BW/day group be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract did not had significant differences with the group of not be given 2-ME and all of treatment group that be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract. Among the groups that be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in many dosages did not had significant differences be compare of the group that no be given 2-ME. The result of this research by Anova test for the amount of spermatozoa showed that no significant differences among the group of 2-ME and the groups that be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages of 28 mg/kg BW/day group and 56 mg/kg BW/day group. Between the groups be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages of 14 mg/kg BW/day and 28 mg/kg BW/day there was no significant differences. The result of this research by Anova test for amount of spermatogonium showed there was significant differences among the 2-ME group and all of group be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages of 28 mg/kg BW/day group of no given 2-ME there is no significant differences. The result of this research by Anova test for amount primary spermatosit showed there is significant differences among the group of 2-ME and the group be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages of 14 mg/kg BW/day group and 56 mg/kg BW/day group. Among the group of be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract there was significant differences. The group of no be given 2-ME had significant differences with all of the groups. The result of this research by Anova test for amount of spermatid showed that significant differences among the group of 2-ME and all of the groups the be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract. Between be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages of 28 mg/kg BW/day group and 56 mg/kg BW/day group there was no significant differences.

The conclusion was Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract could increased the motility of spermatozoa, normal morphology, amount of primary spermatosit, and amount of spermatid in mice that be given 2-ME.

ABSTRACT

The Influence of Rosella Flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) Extract to Quality and Quantity of Spermatogenic Cells of Mice (*Mus musculus*) That Be Given 2-Methoxyethanol

The goal of this research was known the influence Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract to quality and quantity of spermatogenic cells of mice (*Mus*

musculus) that be given 2-Methoxyethanol (2-ME). The study used 35 male adult mice (sexually mature). Those divided into 5 groups, each group consist of 7 mice. One group (negative control group) be given 2-ME solution, and three treatments group be given Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages 14 mg/kg BW/day, 28 mg/kg BW/day, and 56 mg/kg BW/day. The solution was given orally for 5 days for control group and 13 days for treatment groups.

The treatment group had been given 2-ME solution for five days before got Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract. After the treatment, the spermatozoa was taken from epididimis was observed for mortality, morphology, and the amount of spermatozoa and than was made testis fixation by Hematoxillin Eosin (HE) fixation to account the amount of spermatogonium, primary spermatosit, and spermatid.

The result were (1) there was significant different among 2-ME group and all of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract group for spermatozoa motility; (2) there was significant different among 2-ME group and all of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract group for spermatozoa morphology; (3) there was significant different among 2-ME group and all of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages: 28 mg/kg BW/day, 56 mg/kg BW/day for amount of spermatozoa; (4) there was significant different among 2-ME group and all of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract groups for amount of spermatogonium; (5) there was significant different among 2-ME group and group of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract in dosages: 14 mg/kg BW/day, 28 mg/kg BW/day, 56 mg/kg BW/day for amount of primary spermatosit; and (6) there was significant different among 2-ME group and all of Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract groups for amount of spermatid.

The conclusion was Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract could increase the motility of spermatozoa, normal morphology, number of primary spermatosit and amount of spermatid in mice that be given 2-ME.

Keywords: Rosella flower's (*Hisbiscus sabdarifa L.*) extract, motility, morphology, spermatogonium, primary spermatosit, spermatid, 2-Methoxyethanol.