

Pengaruh Pemberian Ekstrak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa Linn*) Terhadap Jumlah Dan Kecepatan Spermatozoa, Berat Testis Tikus Jantan Strain Wistar Yang Terpapar Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Fauzan Abdullah ¹,

Institusi

Email: aan_kojenk@yahoo.com

Titin Ifayanti ²

Akbid Alifah Padang

Email: titin.titinifayanti@yahoo.com

Abstrak— Pemberian karbontetraklorida (CCl₄) pada tikus jantan strain wistar menyebabkan peningkatan radikal bebas. Karbontetraklorida berfungsi sebagai radikal bebas sehingga terjadi akomodasi radikal bebas yaitu CCl₃ yang merupakan zat reaktif. CCl₃ bereaksi dengan oksigen menghasilkan CCl₃O₂ bersifat sangat reaktif menyebabkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas yang berlebihan mengganggu proses

spermatogenesis, kerusakan membran spermatozoa akibat terbentuknya lipid peroksida pada membran akan menurunkan jumlah, kecepatan spermatozoa dan berat testis, sehingga diberikan antioksidan ekstrak rosella. Desain penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratoris menggunakan rancangan penelitian *post test only control group* yaitu digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen, membandingkan perlakuan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian jumlah spermatozoa tikus jantan yang terpapar karbontetraklorida (CCl₄) terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif serta pada kelompok perlakuan I dan perlakuan II karena nilai $p \leq 0,05$. Pada kecepatan spermatozoa menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan I dan perlakuan II karena nilai $p \leq 0,05$. Pada berat testis tidak menunjukkan pengaruh yang bermakna, dimana $p > 0,05$. Kesimpulan penelitian ini, pemberian ekstrak rosella dosis 250 dan 500 mg/kgbb memberi pengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah dan kecepatan spermatozoa pada tikus yang terpapar CCl₄, sedangkan pada berat testis tidak terdapat pengaruh yang signifikan.

Kata kunci : Ekstrak rosella, Karbontetraklorida (CCl₄), Jumlah Spermatozoa, Kecepatan Spermatozoa

Abstract— Administration of Carbon Tetrachloride to male Wistar Rats cause the increase of free radicals. Carbon Tetrachloride served as free radicals which resulted in free radicals accomodation, CCl₃, which is reactive substance, occurred. CCl₃ reactive oxygen and produced CCl₃ O₂, which was highly reactive, and caused the increase of Reactive Oxygen Species (ROS). Excessive free radicals would disturb the process of spermatogenesis. The damage to spermatozoa membrane which was caused by the formation of lipid peroxides at membrane would decrease the number and the speed of spermatozoa, and the weight of the testicle, so that antioxidant of Rosella extract was given. Teh design of the research was laboratory experimental reearch using post test only control group research design which was used to measure the effect to the treatment in the experimental group by comparing it to treatment of the control group. From the research of the number of spermatozoa of the male rats exposed to Carbon Tetrachloride (CCl₄), it was found out that there was a significant difference between the number of the spermatozoa of negative control group and the positive control group, and at treatment group I and treatment group II beacuse the p value was $\leq 0,05$. It was also found out that there was a significant difference of the spermatozoa speed between the negative control group and the positive control group, and at treatment group I and treatment group II because the p value was $\leq 0,05$. On the other hand, there was no significant difference of the testicle weight in which the p value $> 0,05$. The conclusion of the research was that Rosella extract administration with 250 and 500 mg/kgbw doses gave significant influence to the increase of the number and the speed of spermatozoa of rat exposed to CCl₄, whereas there was no significant influence on the testicle weight.

Key word: Rosella Extract, Carbon Tetrachloride, The Number of Spermatozoa, To Speed of Spermatozoa

I. PENDAHULUAN

Salah satu tujuan pernikahan adalah melangsungkan generasi penerus dengan memiliki anak, tetapi pada zaman sekarang ini, banyak pasangan suami istri yang mengalami masalah infertilitas baik dari pihak suami maupun istri atau keduanya. Infertilitas adalah kegagalan pasangan usia reproduktif untuk memiliki anak setelah satu tahun melakukan hubungan seksual aktif tanpa alat kontrasepsi (WHO, 2005). Infertilitas pria merupakan suatu masalah yang menunjukkan peningkatan angka kejadian dalam dekade terakhir ini. Angka insidensi infertilitas yang disebabkan oleh pria adalah sebesar 50% sehingga anggapan bahwa wanita lebih bertanggung jawab terhadap kesulitan mendapatkan anak tidak dapat diberikan (Hinting, 2000, Taher, 2008, Sri Utami, 2010).

Infertilitas pria dapat disebabkan oleh infeksi saluran kemih, penyakit hubungan seksual, penyakit sistemik substansi kimia seperti obat-obatan, zat toksik, alkohol dan rokok (Hinting, 2000., Wald M, 2006., Sri Utami, 2010). Selain dari penyebab yang lain, infertilitas pria dapat disebabkan oleh stress oksidatif. Stress oksidatif dihasilkan oleh ketidakseimbangan antara *reactive oxygen species* (ROS) dan antioksidan tubuh, yang dapat menyebabkan kerusakan sperma dan infertilitas pria (Agarwal, 2007). Pada penelitian ditemukan tinggi nya level *reactive oxygen species* (ROS) sampel semen 25% - 40% pada pria infertil (Saleh, 2002). Hasil penelitian menunjukkan bahwa salah satu penyebab penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa dipicu oleh peningkatan radikal bebas di dalam tubuh (Ahmadnia *et al.*, 2007). Beberapa obat dan bahan kimia yang telah dikenal dapat meningkatkan radikal bebas adalah karbon tetraklorida (CCl₄), galaktose dan haloten (Feter, 1992).

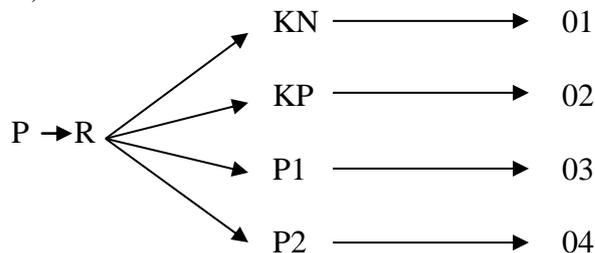
Dalam menghadapi serangan terhadap radikal bebas, tubuh memiliki mekanisme perlindungan melalui sistem antioksidan tubuh untuk menghasilkan spermatozoa abnormal. Akibat peningkatan radikal bebas di mitokondria, terjadi penurunan kemampuan antioksidan sehingga terjadi stress oksidatif. Secara umum, antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok yaitu: antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis. Antioksidan enzimatis yang termasuk di dalamnya adalah enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, *glutathion peroksidase* (GSH-px), serta *glutathion reduktase* (GSH) yang dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal oksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil (Chevion, Sp *et al*, 2003). Kekurangan salah satu komponen tersebut dapat menyebabkan terjadinya penurunan status antioksidan secara menyeluruh, sehingga perlindungan tubuh terhadap radikal bebas berkurang (Chevion. S *et al*, 2003).

Kandungan vitamin C yang terdapat dalam bunga rosella juga lebih banyak bila dibandingkan dengan buah lainnya. Setiap 100 gram bunga rosella mengandung 244,4 mg vitamin C, dengan berat yang sama, jeruk hanya mengandung 48 mg, belimbing hanya 25,8 mg sedangkan papaya mengandung 71 mg. Selain kandungan vitamin C yang sangat tinggi, rosella juga kaya akan mineral seperti kalsium, phosphor, potassium dan zat besi yang sangat penting bagi tubuh. Disamping itu rosella juga mengandung vitamin B1, B2, niasin dan vitamin D serta mengandung 18 asam amino. Kadar antioksidan yang tinggi pada kelopak rosella dapat menghambat radikal bebas (Rahmawati, 2012).

Saat ini penelitian tentang rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) sebagai obat pada infertilitas pria belum banyak diteliti. Sehingga hal ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap jumlah dan kecepatan spermatozoa, berat testis pada tikus jantan strain wistar yang terpapar CCl₄.

II. METODA PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian *post test only control group design* yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan perlakuan dengan kelompok kontrol (Zainuddin, 2000).



Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Untuk menilai kualitas spermatozoa dan berat testis dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2013 sampai dengan Februari 2014.

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan strain wistar yang di dapatkan dari unit pengembangan hewan penelitian (UHPH) Surabaya, dengan pertimbangan tikus adalah mamalia coba atau sering disebut hewan laboratorium karena sering dipakai pada penelitian biologi di laboratorium.

Jumlah sampel keseluruhan 4 x 6 = 24 ekor. Walaupun demikian sebagai cadangan untuk mengganti kemungkinan ada yang mati, maka dalam penelitian ini setiap kelompok dipelihara 8 ekor sehingga jumlah total tikus sebanyak 32 ekor.

Pemberian karbon tetraklorida dilakukan sebanyak 1 kali (dosis tunggal). Berdasarkan penelitian Dahiru (2003), bahwa CCl₄ diberikan dengan dosis tunggal 1.0 mg/kgBB. Pemberian ekstrak rosella dilakukan pada kelompok perlakuan I selama 48 hari dengan dosis 250mg/kgbb dan pada kelompok perlakuan II dengan dosis 500mg/kgbb

Pemeriksaan Jumlah Sperma, Kecepatan Spermatozoa dan Berat Testis dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Data hasil penelitian yang diperoleh dilakukan Uji Normalitas Shapiro-Wilk dan Uji Homogenitas. Apabila data tidak terdistribusi normal, dianalisa menggunakan uji Non Parametrik Kruskal Wallis Test. Dan apabila data terdistribusi normal, dilanjutkan analisa data dengan menggunakan uji ANOVA dengan derajat kepercayaan 95%. Jika didapatkan hasil yang bermakna dilanjutkan dengan uji statistik *Mutiple Comparisons (Post Hoc Test)* jenis *Bonferroni*, untuk melihat signifikansi antar kelompok (Sastroasmoro, 2010).

III. HASIL & PEMBAHASAN

A. HASIL

Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus jantan, penelitian dimulai 21 Februari sampai dengan 12 Maret 2016. Dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Andalas dan Pemeriksaan Serum Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai dengan Maret 2016.

Sebelum data diolah lebih jauh secara statistik, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu.

Tabel 3.1 Uji Normalitas Jumlah Spermatozoa Pada Hewan Uji

Jumlah Spermatozoa		
Rerata (nmol/ml)	Std. Deviasi	p
22.195	4.655	0.530

Kecepatan Spermatozoa		
Rerata (Juta/ml)	Std Devias (detik/0,05mm)	p

Pada tabel 3.1 Sebelum data dianalisa, terlebih dahulu data yang ada kita lakukan uji normalitas yaitu dengan menggunakan Uji Shapiro-Wilk. Didapatkan bahwa data terdistribusi normal, dimana $p = 0,576$ ($p > 0,05$).

Kelompok	Rerata Jumlah Spermatozoa		p
	n	Rerata±SD (juta/ml)	
KN	6	25.76±1.89	0,001
KP	6	18.31±3.86	
P1	6	18.71±3.09	
P2	6	25.98±2.54	

Tabel 3.2. Rata-Rata Jumlah Spermatozoa Tikus Jantan Strain Wistar Pada Tiap Kelompok Penelitian

Pada Tabel 3.2 Rata-rata jumlah spermatozoa tikus jantan strain wistar pada kelompok kontrol negatif adalah 25,76 juta/ml dan terjadi penurunan jumlah spermatozoa pada kelompok kontrol positif yang diberikan CCl₄ 1mg/kg bb yaitu 18,31 juta/ml. pada kelompok perlakuan I yang diberikan ekstrak rosella 250 mg/kg bb terjadi peningkatan jumlah spermatozoa yaitu menjadi 18,71 juta/ml dan pada kelompok perlakuan II ekstrak rosella 500 mg/kg bb terjadi peningkatan yang lebih signifikan yaitu 25,98 juta/ml. Dari rata-rata diatas dapat terlihat adanya kecenderungan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak rosella yang diberikan maka makin bertambah jumlah spermatozoa karena menurunkan kadar ROS (Reactive Oksigen Spesies).

Tabel 3.3. Tingkat Kebermaknaan hasil Uji *Post Hoc Bonferroni* terhadap Jumlah Spermatozoa Tikus Jantan Strain Wistar pada masing-masing kelompok penelitian.

Kelompok	KN	KP	PI	PII
----------	----	----	----	-----

KN	-	0.002*	0.003*	1.000
KP	0.002*	-	1.000	0.001*
PI	0.003*	1.000	-	0.002
PII	1.000	0.001*	0.002*	-

Pada Table 3.3 Dari hasil analisa data dengan menggunakan uji statistik *Post Hoc Test* menunjukkan adanya perbedaan jumlah spermatozoa kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif serta pada kelompok perlakuan I dengan pemberian ekstrak rosella 250 mg/kg bb dan perlakuan II dengan pemberian ekstrak rosella 500 mg/kg bb karena nilai $p \leq 0,05$.

Tabel 3.4 Uji Normalitas Kecepatan Spermatozoa Pada Hewan Uji

Sebelum data di olah lebih jauh, secara statistik dilakukan uji normalitas terlebih dahulu untuk kemudian menentukan uji analisa yang sesuai.

Uji Normalitas Kecepatan Spermatozoa Pada Hewan Uji		
2.045	1.179	0.576

Pada tabel 3.4 Sebelum data dianalisa, terlebih dahulu data yang ada kita lakukan uji normalitas yaitu dengan menggunakan Uji Shapiro-Wilk. Didapatkan bahwa data terdistribusi normal, dimana $p = 0,530$ ($p > 0,05$).

Tabel 3.5. Rerata Waktu yang dibutuhkan Spermatozoa Tikus Jantan Strain Wistar untuk menempuh jarak 0.05 mm pada masing-masing Kelompok Penelitian

Kelompok	N	Rerata Kecepatan Spermatozoa	
		Rerata±SD (detik/0,05mm)	p
KN	6	1.23±0.10	0,001
KP	6	3.70±1.07	
P1	6	1.96±0.65	
P2	6	1.28±0.11	

Pada Tabel 3.5 Rata-rata kecepatan spermatozoa tikus jantan wistar pada kelompok kontrol negatif adalah 1,23 detik/0,05mm dan terjadi penurunan kecepatan spermatozoa pada kelompok kontrol positif yaitu 3,70 detik/0,05mm. Pada kelompok perlakuan I dengan pemberian ekstrak rosella 250 mg/kg bb terjadi peningkatan kecepatan spermatozoa yaitu menjadi 1,96 detik/0,05mm, dan pada kelompok perlakuan II dengan pemberian ekstrak rosella 500 mg/kg bb terjadi peningkatan yaitu 1,28 detik/0,05mm. Dari rata-rata diatas dapat terlihat adanya kecenderungan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak rosella yang diberikan maka makin meningkat kecepatan spermatozoa.

Berdasarkan hasil uji normalitas data secara Kolmogorov-Smirnovz, didapatkan data terdistribusi normal ($p = 1,351 > 0,05$). Selanjutnya dilakukan analisa statistik dengan uji Anova, dengan derajat kepercayaan 95%, alfa 5% didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil rata-rata kecepatan spermatozoa antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Dengan demikian dapat dilanjutkan

dengan uji *Multiple Comparison Post Hoc* test jenis *Bonferroni*. Hasil analisa uji *Post Hoc Bonferroni* dapat dilihat pada tabel 5.4 dibawah ini:

Tabel 3.6. Tingkat Kebermaknaan Hasil Uji Post Hoc Bonferoni terhadap Rerata Kecepatan Spermatozoa Tikus Jantan Strain Wistar pada masing-masing kelompok penelitian.

Kelompok	KN	KP	PI	PII
KN	-	0.00*	0.0356	1
KP	0.00*	-	0.01*	0.00*
PI	0.356	0.01*	-	0.464
PII	1.000	0.00*	0.064	-

Pada Tabel 3.6 Dari hasil analisa data dengan menggunakan uji statistik *Post Hoc Test* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kecepatan spermatozoa kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif pada kelompok perlakuan I dengan pemberian ekstrak rosella 250 mg/kg bb dan perlakuan II dengan pemberian ekstrak rosella 500 mg/kg bb tidak memberikan pengaruh pada kecepatan spermatozoa.

Tabel 3.7. Uji Normalitas Berat Testis Pada Hewan Uji

Berat Testis		
Rerata (Gram)	Std Dev	p
2.148	0.185	0.173

Pada tabel 3.7. Sebelum data dianalisa, terlebih dahulu data yang ada kita lakukan uji normalitas yaitu dengan menggunakan Uji Shapiro-Wilk. Didapatkan bahwa data terdistribusi normal, dimana $p = 0,173$ ($p > 0,05$).

Tabel 3.8. Rerata Berat Testis Tikus Jantan Strain Wistar pada masing-masing Kelompok Penelitian

Kelompok	Rerata Berat Testis		p
	N	Rerata±SD (gram)	
KN	6	2.24±0.26	0,575
KP	6	2.10±0.16	
P1	6	2.10±0.17	
P2	6	2.14±0.12	

Keterangan :

- KN : Kelompok kontrol negatif yang diberi diet standar
- KP : Kelompok kontrol positif yang diberi diet standar dan CCl₄ 1mg/kg bb
- P1 : Kelompok perlakuan 1, diberi CCl₄ 1mg/kgbb dan diberi ekstrak rosella 250 mg/kg bb
- P2 : Kelompok perlakuan 2, diberi CCl₄ 1mg/kgbb dan diberi ekstrak rosella 500 mg/kgbb

Berdasarkan tabel 3.8 diatas dapat dilihat bahwa rata-rata berat testis tikus jantan strain wistar pada kelompok kontrol negatif adalah 2,24 gr dan terjadi penurunan pada kelompok kontrol positif 2,10 gr. Pada kelompok perlakuan I dengan pemberian ekstrak rosella 250 mg/kg bb mempunyai hasil yang sama dengan kelompok kontrol positif yaitu 2,10 gr sedangkan pada kelompok perlakuan II dengan pemberian ekstrak rosella 500 mg/kg bb berat testis 2,14 gr. Dari rata-rata diatas dapat terlihat tidak ada perbedaan berat testis yang signifikan dengan pemberian ekstrak rosella ($p > 0,05$).

Berdasarkan hasil uji normalitas data secara Kolmogorov-Smirnovz, didapatkan data terdistribusi normal ($p = 0,722 > 0,05$). Selanjutnya dilakukan analisa statistik dengan uji Anova, dengan derajat kepercayaan 95%, alfa 5% didapatkan $p = 0,575$ ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil rata-rata berat testis antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

B. PEMBAHASAN

4.1 Jumlah Spermatozoa

Dari hasil penelitian jumlah spermatozoa pada tikus jantan strain wistar selama 48 hari yang terpapar karbon tetraklorida (CCl₄) menunjukkan terjadinya penurunan rerata jumlah spermatozoa antara kelompok kontrol negatif (25,76 juta/ml) dengan kelompok kontrol positif (18,31 juta/ml). Hasil analisa menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif. Pada pemberian ekstrak rosella 250mg/kg bb tidak menunjukkan pengaruh rerata jumlah spermatozoa yang bermakna yaitu 18,71 juta/ml. Sedangkan setelah pemberian ekstrak rosella 500mg/kgbb menunjukkan peningkatan rerata jumlah spermatozoa yaitu 25,98 juta/ml. Dan setelah dilakukan uji *Multiple Comparison Post Hoc* jenis *Bonferroni* terdapat perbedaan bermakna antara jumlah spermatozoa kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif serta pada kelompok perlakuan I dan perlakuan II karena nilai $p \leq 0,05$.

Dengan pemberian Tetraklorida (CCL₄) pada kelompok kontrol positif yang bertujuan untuk membuat kondisi meningkatnya radikal bebas / Reactive Oxygen Species (ROS) yang dimana radikal bebas seperti halnya senyawa radikal hidroksil, radikal hidroksertil dan radikal metilkarbonil dapat meningkatkan terjadinya peroksidasi lipid. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada testis yang menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel Leydiq, yang mana menyebabkan terganggunya proses sintesis hormon tertoton, yang mengakibatkan terjadinya penurunnya mutu testis (Siti, 2009). Dengan pemberian ekstrak rosella pada tikus yang terpapar CCL₄ berpengaruh kepada peningkatan jumlah spermatozoa, hal ini disebabkan rosella merupakan sumber anti oksidan sehingga mengurangi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Manach dkk. 2010 : 727). Dimana kelompok bunga rosella mengandung senyawa polifenol antara lain asam fenolik dan flavonoid.

Senyawa asam Fendik yang terkandung dalam kelopak bunga rosella adalah protocatechoic acid (PCA) (Ali dkk. 2005 :370). Senyawa PCA dapat bersifat sebagai antioksidan. Penelitian Hidrunpanich dkk.(2005:484) membuktikan bahwa PCA adalah kelopak bunga rosella merupakan senyawa yang menurunkan kadar diena terkonjugasi dan TBA sebagai hasil dari adanya peroksidasi lipid akibat pemberian CCL₄ dimana senyawa mekanisme senyawa PCA yang diduga terjadi dalam penelitian tersebut antara lain inaktivasi ion Cu²⁺ yaitu ion yang dapat menginisiasi oksidasi dan kemampuan senyawa PCA menjadi donor atom hidrogen. Penelitian Dahiru dkk (2003:31) juga membuktikan bahwa PCA dalam kelopak bunga rosella dapat menurunkan kadar Thio Berbiturac Acid (TBA) sebagai hasil dari proses peroksidasi lipid pada tikus yang di induksi

CCL₄. Kedua hasil penelitian tersebut mendukung hasil penelitian yang dilakukan bahwa kandungan PCA dalam kelopak bunga rosella bersifat anti oksidan terhadap radikal bebas yang dapat memperbaiki jumlah spermatozoa.

Senyawa polifenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa yang tersebar luas dalam berbagai makanan misalnya buah dan sayuran (Nijveldt 2001:418). Flavonoid memiliki aktifitas penangkapan (scavenging) terhadap radikal bebas karena memiliki gugus hidroksil pada cincin B (Heim dkk 2001:576; Oteiza dkk 2005:20&21) selain itu keberadaan gugus tersebut juga membuat flavonoid bersifat polar sehingga dapat diberikan hidrogen dengan kepala lipid pada membran sel. Kemampuan flavonoid dapat berikatan dengan komponen utama membran sel tersebut dapat melindungi sel dari serangan radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan sel (Oteiza dkk 2005:20&25).

Flavonoid juga dapat menstabilkan ROS dengan cara bereaksi dengan senyawa yang bersifat radikal dalam ROS tersebut. Hal tersebut menyebabkan ROS menjadi tidak stabil dan tidak aktif (Heim dkk 2001:576).

Senyawa flavonoid yang terdapat dalam kelopak bunga rosella antara lain antosianin (Ali dkk 2005:370; Hirunpanich dkk 2005:481; Mahadevan dkk 2009:78). Senyawa antosianin merupakan senyawa yang bersifat zat warna atau pigmen pada kulit buah dan sayuran. Senyawa antosianin memiliki gugus hidroksil pada cincin B sehingga menyebabkan antosianin bersifat anti oksidan. Semakin banyak gugus hidroksil pada senyawa antosianin maka semakin tinggi tingkat aktifitas antioksidan senyawa tersebut dikarenakan kemampuan scavenging radikal suatu senyawa antioksidan bergantung pada kemampuan membentuk senyawa antioksidan-radikal yang bersifat stabil (Wang dkk 1997:306).

Sifat antioksidan senyawa antosianin dalam kelopak bunga rosella dapat berperan dalam melindungi organ reproduksi akibat kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa antosianin mampu menurunkan kadar MDA akibat peroksidasi lipid dalam testis. Hasil penelitian Amin & Hamzah tersebut juga mendukung hasil penelitian bahwa senyawa antosianin dalam kelopak bunga rosella dapat meningkatkan motilitas dan menurunkan abnormalitas spermatozoa tikus jantan.

Pada penelitian ini terdapat peningkatan jumlah spermatozoa lebih besar pada pemberian bunga rosella dengan dosis yang lebih tinggi, hal ini dapat menyebabkan semakin tinggi pemberian dosis kelopak bunga rosella makin tinggi pula sifat antioksidan sampai dosis optimal, sehingga semakin kuat pula meredam ROS yang ditimbulkan radikal bebas

4.2 Kecepatan Spermatozoa

Hasil penelitian terhadap kecepatan spermatozoa menunjukkan pada kelompok kontrol positif terdapat penurunan kecepatan spermatozoa yaitu 3,70 detik/0,05 mm dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu 1,23 detik/0,05 mm. Setelah diberikan ekstrak rosella 250 mg/kgbb terdapat perbaikan kecepatan spermatozoa yaitu 1,96 detik/0,05 mm. Sedangkan pada pemberian ekstrak rosella 500 mg/0,05 mm kecepatan spermatozoa lebih mendekati kontrol negatif yaitu 1,28 detik/0,05 mm. Setelah dilakukan uji *Multiple Comparison Post Hoc* jenis *Bonferroni* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kecepatan spermatozoa kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif serta pada pemberian ekstrak rosella 250 mg/kgbb dengan 500 mg/kgbb.

Hal ini disebabkan oleh CCl₄ akan menghasilkan karbon triklorometilperoksi (CCl₃O₂), yang merupakan sumber radikal bebas

sehingga prooksidan (*Reactive Oxygen Species / ROS*) lebih dominan terhadap antioksidan. Radikal bebas yang memiliki elektron tidak berpasangan ini sangat reaktif dan dapat bereaksi cepat dengan DNA, protein dan lipid sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif menginduksi terganggunya homeostasis kalsium yang pada akhirnya mempengaruhi metabolisme seluler. Stres oksidatif menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang mengakibatkan kerusakan membran sel. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak rosella sebagai antioksidan dengan dosis yang lebih tinggi akan menghasilkan rerata kecepatan spermatozoa yang lebih tinggi.

4.3 Berat Testis

Hasil penelitian terhadap rerata berat testis tikus jantan pada kelompok kontrol positif mengalami perubahan yaitu 2,10 gram dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu 2,24 gram. Pada pemberian ekstrak rosella 250 mg/kgbb tidak terdapat peningkatan rerata berat testis tikus, yaitu 2,10 gram. Sedangkan pemberian ekstrak rosella 500 mg/kgbb sedikit peningkatan rerata berat testis yaitu 2,14 gram. Pada literatur ekstrak rosella memberikan pengaruh pada berat testis, tetapi pada penelitian belum terlihat pengaruh dari CCl₄ dan ekstrak rosella tersebut pada berat testis di karenakan dosis yang di gunakan belum memberikan efek yang di inginkan terhadap berat testis. Ini kemungkinan di sebabkan karna dosis yang digunakan masih terlalu kecil untuk mempengaruhi berat testis. Untuk penelitian selanjutnya di tingkatkan dosis CCl₄ dan ekstrak rosella untuk melihat pengaruhnya terhadap berat testis.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) terhadap jumlah dan kecepatan spermatozoa dan berat testis tikus jantan strain wistar yang terpapar karbon tetraklorida (CCl₄), maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

- 5.1 Pemberian ekstrak bunga rosella memberi pengaruh pada spermatozoa tikus jantan strain wistar yang terpapar CCl₄.
- 5.2 Pemberian ekstrak rosella sebagai antioksidan dengan dosis yang lebih tinggi akan menghasilkan rerata kecepatan spermatozoa yang lebih tinggi.
- 5.3 Pemberian ekstrak rosella tidak memberikan pengaruh terhadap berat testis tikus jantan strain wistar yang terpapar CCl₄.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin A, Hamza, A. 2005. *Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats*. Life Sci. 77 (3): 266-278.
- Agarwal, Ashok, Makker, Kartikeya, Sharma, Rakesh. 2007. *Clinical Relevance of Oxidative Stress in Male Factor Infertility: an update*. <http://ccf.org/reproductiveresearchcenter/docs/agradoc261.pdf>. Diakses bulan Agustus 2016.
- Ali, B.H, N.A. Wabel & G. Blunden. 2005. *Phytochemical, pharmacological, And toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L. : A review*. *Phytotherapy Researh* 19 : 369-375

- Chevion S, Moran D.S, Heled Y, Shani Y, Regrev G, Abbou B, *et al.* 2003. *Plasma Antioxidant Status and Cell Injury After Severe Physical Exercise*. Proc Nati Acad Sci. 100(9): 5119-5123.
- Dahiru D, Obi O.J, Umaru, H. 2003. *Effect of Hibiscus sabdariffa calyx extract on carbon tetrachloride induced liver damage*. Biokemistri 15(1): 27-33.
- Feter J, Csomos G and Vereckel A. 1992. *Role of free radical reaction in liver disease. Free radical and the liver*, Csomos G and Feter J (eds). Springer Verlag. Berlin.
- Hinting A. 2008. Study protokol penatalaksanaan dan efektivitas pengobatan infertilitas pria. <http://digilib.litbang.depkes.go.id/go.pid=skpkbppk-gdl-res-2000-aucky-989inferlitiit&node=124&start=836>. Diakses bulan Agustus 2016.
- Heim, K.E., A.R. Tagliaferro, & D.J. Bobilya. 2001. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572--584
- Hirunpanich, V., A. Utaipat, N.P. Morales, N. Bunyapraphatsara, H.Sato, A.Herunsale, & C. Suthisisang .2005 Antioxidant effects of aqueous extracts From dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (roselle) in vitro using rat Low-density lipoprotein (LDL). *Biology Pharmacy Bulletin* 28(3) : 481-484
- Nijveldt, R.J., E.V. Nood, D.E.C van Horn, P.G. Boelens, K.V.Norren, & P.A.M. van Leewen. 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal Clinical Nutrition* 74: 418-425
- Oteiza, P.I., A.G. Erlejman, S.V. Verstraeten, C.L. Keen, & C.G. Fraga. 2005 Flavonoid-membrane interaction: A protective role of flavonoids at the Membrane surface? *Clinical and Developmental Immunology* 12(1): 19—25
- Pangkahila W. 2007. Memperlambat Penuaan Meningkatkan Kualitas Hidup. Anti-Aging Medicine. Cetakan ke-1. Jakarta. Penerbit Buku Kompas. hal:8-11.
- Saleh, Ramadan A, Agarwal, Ashok. 2002. *Oxidative Stress and Male Infertility: From Research Bench to Clinical Practice*. J. Androl. 23(6):737-752. www.clevelandclinic.org/ReproductiveResearchCenter/docs/agradocs110.pdf. Diakses pada bulan Agustus 2016.
- Siti, Untari Subekti. 2009. Pengaruh vitamin E terhadap Proses Spermatogenesis Mancit Jantan Strain B/C yang diberi Paparan Asap Rokok
- Wang, H., G. Cao, & R.L. Prior. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of Anthocyanins. *Journal Agricultural Food Chemistry* 45: 304--309
- World Health Organization. 2005. *Infertility*. <http://www.who.int/reproductivehealth/infertility/index.htm>. Diakses pada bulan Agustus 2016.
- WHO. 2002. *Selenium. Human Vitamin and Mineral*. FHO/WHO. Roma