

**KUALITAS SPERMATOZOA DAN BERAT ORGAN REPRODUKSI MENCIT
(*Mus musculus*) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI KLABET
(*Trigonella foenum-graecum* L.)**

**THE QUALITY OF SPERMATOZOA AND THE WEIGHT OF REPRODUCTIVE
ORGANS OF MICE (*Mus musculus*) AFTER ADMINISTRATION OF KLABET SEED
EXTRACT (*Trigonella foenum-graecum* L.)**

Maulidya Rosa Putri Utama*, Dwi Ariani Yulihastuti, Sang Ketut Sudirga

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Kampus Bukit Jimbaran, Bali, Indonesia – 80361

*Email korespondensi: mmaulidyar4@gmail.com

INTISARI

Indonesia merupakan salah satu negara yang dikenal memiliki keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Terdapat 18 jenis tanaman herbal yang memiliki potensi sebagai antifertilitas pada pria, salah satunya adalah tanaman klabet atau *fenugreek*. Klabet dipercaya oleh masyarakat awam memiliki khasiat untuk meningkatkan produksi serta kualitas spermatozoa. Menurut penelitian sebelumnya klabet memiliki efek toksik yang dapat menghambat fertilitas dikarenakan kandungan fitokimia di dalamnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji klabet terhadap kualitas spermatozoa dan berat organ reproduksi mencit. Mencit yang digunakan sebanyak 20 ekor mencit jantan dengan berat sekitar 25-30 gram dibagi menjadi 4 perlakuan yaitu kontrol (P0), 56 mg/kgBB (P1), 112 mg/kgBB (P2), 168 mg/kgBB (P3) dengan 5 kali ulangan. Pemberian perlakuan selama 24 hari. Metode yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) dan data yang dihasilkan dianalisis menggunakan ANOVA. Parameter yang diteliti adalah berat testis, berat epididimis, motilitas, morfologi dan konsentrasi spermatozoa mencit. Hasil penelitian menunjukkan terdapat beda nyata ($p \leq 0,05$) antara kontrol dan perlakuan ekstrak biji klabet terhadap kualitas spermatozoa dan berat testis tetapi tidak berbeda nyata ($p \geq 0,05$) terhadap berat epididimis. Konsentrasi spermatozoa mencit mengalami penurunan sebesar 10,60%, motilitas spermatozoa progresif mencit mengalami penurunan sebesar 55,61%, morfologi normal mencit mengalami penurunan sebesar 57,92%, sedangkan berat testis mengalami penurunan sebesar 38,46%. Dosis ekstrak biji klabet yang paling efektif digunakan sebagai agen antifertilitas adalah dosis 168 mg/kgBB (P3).

Kata kunci: *Testis, epididimis, saponin, fenugreek, antifertilitas*

ABSTRACT

Indonesia is one of the countries known to have the highest biodiversity in the world. There are 18 types of herbs that have the potential as antifertility in men, one of which is the klabet plant or fenugreek. Klabet is believed by ordinary people to have properties to increase the production and quality of spermatozoa. According to previous research klabet has toxic effects that can inhibit fertility due to the content of phytochemicals in it. This study aims to determine the effect of fenugreek seed extract on the quality of spermatozoa and the weight of the reproductive organs of mice. The mice used were 20 male mice weighing about 25-30 grams divided into 4 treatments namely control (P0), 56 mg/kgBB (P1), 112 mg/kgBB (P2), 168 mg/kgBB (P3) with 5 repetitions. Giving treatment for 24 days. The method used is RAL (Complete Randomized Design) and the resulting data is analyzed using ANOVA. The parameters studied were testicular weight,

epididymis weight, motility, morphology and number of male mouse spermatozoa. The results showed that there was a real difference ($p \leq 0.05$) between the control and treatment of the klabet seed extract on the quality of spermatozoa and the weight of the testicle but not significantly different ($p \geq 0.05$) to the weight of the epididymis. Concentration of mice spermatozoa decreased by 10.60%, progressive spermatozoa motility decreased by 55.61%, normal morphology decreased by 57.92%, while testicular weight decreased by 38.46%. The most effective dose of fenugreek seed extract used as an antifertility agent was a dose of 168 mg/kgBW (P3).

Kata kunci: *Testis, epididymis, saponin, fenugreek, antifertility*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang dikenal memiliki keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Penggunaan tanaman sebagai upaya dalam pengobatan telah lama digunakan masyarakat karena dinilai lebih aman dari efek samping dibandingkan dengan penggunaan obat sintesis (Jenkins *et al.*, 2003). Tanaman klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) atau *fenugreek* merupakan tanaman yang termasuk kedalam suku *Fabaceae*. Tanaman ini hampir dapat ditemukan di seluruh dunia terutama di daerah Asia dan Afrika dan memiliki kemampuan tumbuh pada iklim mediterania atau wilayah yang cenderung berlumpur, berpasir dan mendapat sinar matahari lebih banyak (Patil and Jain, 2014).

Kandungan yang dimiliki oleh tanaman klabet meliputi senyawa flavanoid, polifenol, saponin, alkaloid, tanin dan asam amino. Efek farmakologis tanaman klabet yang bermanfaat seperti yang sudah dilakukan penelitian sebelumnya meliputi antikanker, antioksidan, hipoglikemik, hipokolesterolemia, laksatif, estrogenik, hepatoprotektor dan stimulan nafsu makan (Trivedi *et al.*, 2007). Berdasarkan pengalaman empiris, masyarakat di daerah Sidoarjo, Jawa Timur percaya bahwa klabet memiliki khasiat yang baik bagi reproduksi jantan yaitu meningkatkan produksi serta kualitas spermatozoa.

Menurut beberapa penelitian terdahulu salah satunya oleh Kulkarni *et al.* (2012), ekstrak biji klabet pada dosis 100 mg/kgbb menunjukkan efektivitas dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus yang mengalami DM tipe 2 sebesar 31,59% dengan lama penelitian 28 hari. Beberapa penelitian yang lain juga melaporkan bahwa ekstrak biji klabet pada dosis 150 mg/kgbb dengan lama penelitian 30 hari dapat menurunkan kadar gula darah tikus yang diinduksi dengan pakan tinggi lemak atau *high feed diet* (HFD) dan *streptozotocin* (STZ) dosis rendah. Ekstrak biji klabet tersebut juga dapat menurunkan kadar lipid yang ada didalam darah (Subramanian and Prasath, 2014).

Selain bermanfaat seperti yang disebutkan di atas, klabet juga termasuk ke dalam 18 jenis tanaman herbal yang memiliki potensi sebagai antifertilitas pada pria. Alat kontrasepsi pria yang sesuai harus dapat mencegah terjadinya fertilisasi, kinerja kontrasepsi cepat, dan yang terpenting tidak mempengaruhi libido atau potensi seksual dan juga tidak memiliki efek samping jika digunakan (Tarigan, 1980).

Prinsip kerja senyawa antifertilitas di dalam klabet dapat melalui 2 cara karena kandungan klabet yaitu flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Tanin memiliki sifat sitotoksik sedangkan flavonoid, saponin, alkaloid bersifat hormonal (Nurliani, 2007). Wiryawan dan Ida (2009)

melaporkan bahwa pemberian ekstrak biji klabet menyebabkan terjadinya kerusakan tubulus seminiferus dan penurunan konsentrasi sel spermatozoa pada kelinci jantan. Nita dkk. (2016) melaporkan adanya penurunan berat epididimis dan ketebalan sel-sel germinal tubulus seminiferus setelah diberikan perlakuan ekstrak biji klabet dengan dosis 40 mg/kgBB, 80 mg/kgBB dan 120 mg/kgBB. Adanya perbedaan antara pengalaman empiris masyarakat dengan hasil penelitian di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji klabet terhadap kualitas spermatozoa dan berat organ reproduksi mencit.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Maret 2023, bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.

Rancangan Penelitian.

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak bijiklabet (*Trigonella foenum-graecum*) dengan dosis 56 mg/kgBB (P1), 112 mg/kgBB (P2), 168 mg/kgBB (P3). Variabel terikat meliputi kualitas spermatozoa (motilitas, konsentrasi dan morfologi), berat testis dan berat epididimis. Variabel kontrol meliputi makanan (pakan standar babi CP551), minuman, suhu, kandang dan berat badan mencit (25-30 gram).

Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dimulai dari penyediaan bahan ekstrak berupa biji klabet dan penyediaan hewan coba. Biji yang diperoleh ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian diblender hingga menjadi bentuk tepung. Selanjutnya dilakukan maserasi dengan etanol selama 72 jam. Setelah dilakukan maserasi bahan ekstrak kemudian disaring dan dievaporasi. Hasil evaporasi berupa konsentrasi pekat kemudian diencerkan menjadi 3 dosis yaitu 56; 112; dan 168 mg/kgBB. Penyediaan hewan coba berupa mencit jantan sebanyak 20 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok masing-masing berisi 5 ekor. Sebelum diberikan perlakuan, mencit jantan diaklimatisasi selama 7 hari di ruang pemeliharaan. Selanjutnya dilakukan pemberian ekstrak biji klabet yang dilakukan dengan metode *gavage* selama 24 hari. Kemudian sesuai dengan jadwal yang ditentukan yaitu hari ke 25 dilakukan pengambilan sampel organ reproduksi yang akan ditimbang yaitu testis dan epididimis sebelah kanan. Selanjutnya dilakukan persiapan alat kerja yang akan digunakan untuk melakukan uji kualitas spermatozoa yaitu cawan petri, hand counter, *optilab*, gelas ukur, pipet tetes, pinset, gunting, jarum pentul, alas bedah, mikroskop, gelas obyek, *cover glass*, hemasitometer. Serta bahan yang digunakan yaitu NaCl 0,9%, methanol 99%, eosin 2%.

Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan mikroskopik spermatozoa meliputi motilitas, konsentrasi dan morfologi berdasarkan acuan dari Wibisono (2010) adalah :

a. Perhitungan motilitas

Suspensi spermatozoa diambil dengan pipet dan diteteskan pada gelasobyek kemudian ditutup dengan kaca penutup. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x (spermatozoa yang dihitung dengan 3 kriteria yaitu *Progressive* dimana spermatozoa bergerak ke arah depan, *Non- progressive* dimana spermatozoa hanya mampu bergerak zig-zag dan *Immotile* dimana spermatozoa hanya diam di tempat). Setelah pengamatan dan perhitungan, kemudian dibagi rata-ratanya dari jumlah kriteria dan dihitung persentasenya.

b. Perhitungan morfologi

Suspensi spermatozoa diambil dengan pipet dan diteteskan pada bagian ujung gelas obyek kemudian dilakukan *smear/apusan* dengan menggunakan teknik *feathering* dengan cara meratakan sperma dengan gelas obyek lainnya (digerakkan ke arah belakang dengan sudut 45 derajat) dan dianginkan hingga kering. Setelah itu, difiksasi dalam methanol 99% selama 5 menit dan dianginkan. Selanjutnya, ditetesi dengan larutan eosin 2% dan dibiarkan selama 10 menit hingga kering. Kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dikeringkan. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Spermatozoa normal dan abnormal diamati dengan melihat bagian kepala dan ekor spermatozoa kemudian dihitung hingga 100 dan dihitung persentasenya.

c. Perhitungan konsentrasi

Perhitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan menggunakan *Haemocytometer Improve Neubauer*. Suspensi spermatozoa diambil sedikit menggunakan pipet dan diteteskan pada *Hemasitometer* dan ditutup dengan kaca penutup yang selanjutnya diletakkan di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 x 10 diperantai dengan software *optilab* kemudian di foto. Perhitungan dilakukan dengan hasil foto yang didapat. Spermatozoa yang dihitung adalah spermatozoa yang berada di 25 kotak hemasitometer. Kepala spermatozoa digunakan sebagai pedoman perhitungan, konsentrasi spermatozoa dinyatakan dalam sel spermatozoa/mL.

Analisis Data

Data kualitatif hasil perhitungan kualitas spermatozoa, berat testis dan berat epididimis yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan Anova menggunakan bantuan software SPSS versi 22, dan apabila diperoleh hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) akan dilanjutkan dengan uji Duncan sedangkan kelainan morfologi spermatozoa ditampilkan dalam bentuk gambar.

HASIL

Hasil uji statistik terhadap kualitas spermatozoa (konsentrasi, motilitas, morfologi), berat testis dan berat epididimis mencit yang telah diberikan perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum*) dengan dosis P0 (kontrol), P1 (56 mg/kgBB), P2 (112 mg/kgBB), dan P3 (168 mg/kgBB) dapat dilihat pada Tabel 1 :

Tabel 1. Hasil analisis statistik rata-rata kualitas spermatozoa (konsentrasi, motilitas, morfologi), berat testis dan berat epididimis

Parameter	Perlakuan			
	P0 (kontrol)	P1	P2	P3
Berat Testis (g)	0,13 ± 0,01 ^b	0,13 ± 0,02 ^b	0,11 ± 0,01 ^b	0,08 ± 0,02 ^a
Berat Epididimis (g)	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^a
Konsentrasi (juta/mL)	354,60 ± 4,33 ^a	337,20 ± 6,41 ^b	323,60 ± 3,20 ^c	317,00 ± 3,46 ^d
Motilitas (%)				
<i>Progresif</i>	69,40 ± 3,78 ^a	58,20 ± 2,86 ^b	46,40 ± 3,20 ^c	30,80 ± 4,76 ^d
<i>Non-progresif</i>	17,40 ± 2,88 ^{ab}	19,60 ± 1,14 ^b	17,20 ± 1,78 ^{ab}	15,40 ± 4,15 ^a
<i>Immotile</i>	13,20 ± 1,92 ^a	22,20 ± 2,94 ^b	36,40 ± 3,57 ^c	53,80 ± 4,91 ^d
Morfologi (%)				
Normal	80,80 ± 3,89 ^d	63,60 ± 4,39 ^c	47,60 ± 3,64 ^b	34,00 ± 2,64 ^a
Abnormal	19,20 ± 3,89 ^a	36,40 ± 4,39 ^b	52,40 ± 3,64 ^c	66,00 ± 2,64 ^d

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada masing-masing baris menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p \leq 0,05$). P0 (kontrol), P1 (56 mg/kgBB), P2 (112 mg/kgBB), dan P3 (168 mg/kgBB)

Data pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak biji klabet terhadap berat testis memiliki perbedaan nyata antara kelompok kontrol (P0) yaitu $0,13 \pm 0,01b$ dengan P3 yaitu $0,08 \pm 0,02a$ sedangkan kontrol (P0) tidak berbeda nyata dengan P1 yaitu $0,13 \pm 0,02b$ dan P2 yaitu $0,11 \pm 0,01b$. Untuk pengaruh pemberian ekstrak biji klabet terhadap berat epididimis memiliki nilai signifikan ($p \geq 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata antar kelompok kontrol (P0) yaitu $0,02 \pm 0,01a$, P1 yaitu $0,02 \pm 0,01a$, P2 yaitu $0,01 \pm 0,01a$ dan P3 yaitu $0,01 \pm 0,01a$.

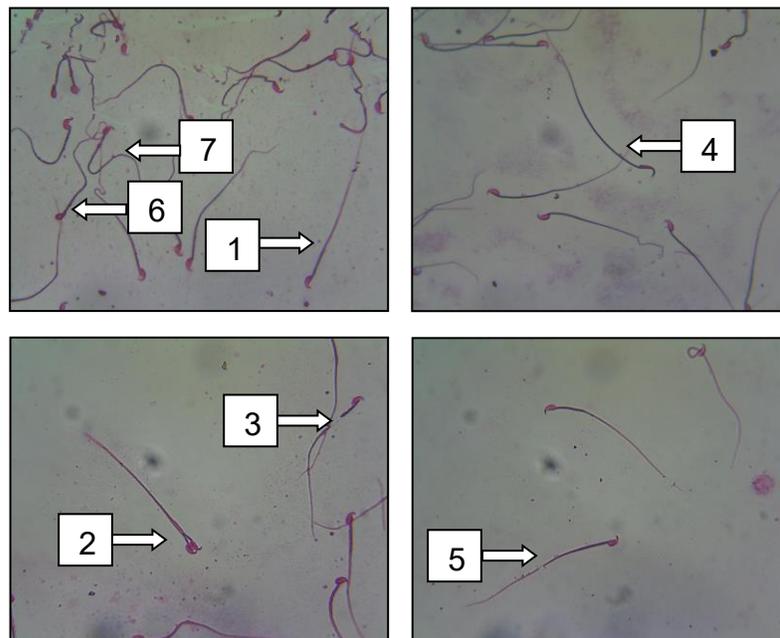
Hasil konsentrasi spermatozoa mencit yang diberi perlakuan dengan ekstrak klabet memiliki nilai signifikan ($p \leq 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antar kelompok kontrol (P0) yaitu $354,60 \pm 4,33^a$, P1 yaitu $337,20 \pm 6,41^b$, P2 yaitu $323,60 \pm 3,20^c$ dan P3 yaitu $317,00 \pm 3,46^d$ dengan nilai rata-rata mengalami penurunan. Perbedaan nyata juga ditemukan pada P1 dengan P2 dan P3 serta P2 dengan P3.

Persentase motilitas spermatozoa yang *progresif* menunjukkan bahwa spermatozoa mencit yang diberikan ekstrak biji klabet memiliki nilai signifikan ($p \leq 0,05$). Persentase motilitas spermatozoa yang *progresif* mengalami penurunan dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Dosis 56 mg/kgBB (P1) mengalami penurunan sebesar 16,14%, dosis 112 mg/kgBB (P2) mengalami penurunan 33,14% dan dosis 168 mg/kgBB (P3) mengalami penurunan 55,62% dibandingkan

dengan perlakuan kontrol (P0). Motilitas spermatozoa yang *immotile* juga terlihat perbedaan yang nyata pada semua perlakuan. Semakin tinggi dosis ekstrak klabet yang diberikan maka persentase spermatozoa yang *immotile* juga mengalami peningkatan.

Berdasarkan Tabel 1, persentase morfologi normal spermatozoa mencit yang diberikan ekstrak biji klabet memiliki nilai signifikan ($p \leq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antar semua kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (P0) yaitu $80,80 \pm 3,89^d$, P1 yaitu $63,60 \pm 4,39^c$, P2 yaitu $47,60 \pm 3,64^b$ dan P3 yaitu $34,00 \pm 2,64^a$ dengan nilai rata-rata yang mengalami penurunan.

Morfologi spermatozoa mencit pada semua perlakuan terlihat adanya spermatozoa yang normal dan yang mengalami kelainan (abnormal). Spermatozoa abnormal yang terlihat pada semua perlakuan seperti spermatozoa kepala dua, leher spermatozoa patah, kepala mengecil, ekor spermatozoa patah, kepala membulat kecil, dan ekor terlipat. Gambaran morfologi spermatozoa yang normal maupun yang abnormal dapat dilihat pada Gambar 1 seperti berikut :



Gambar 1. Foto mikroskopis morfologi spermatozoa pada mencit yang diberi perlakuan ekstrak biji klabet dengan perbesaran 40x10
Keterangan : (1) spermatozoa normal, (2) spermatozoa kepala dua, (3) leher spermatozoa patah, (4) kepala mengecil, (5) ekor spermatozoa patah, (6) kepala membulat kecil, (7) ekor terlipat

PEMBAHASAN

Berat organ reproduksi mencit (*Mus musculus*) jantan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji klabet tidak mempengaruhi berat epididimis dan testis secara nyata, hanya pada berat testis antara mencit kontrol (P0) dengan mencit yang diberi perlakuan dosis tertinggi (P3) yang memiliki perbedaan nyata. Tetapi jika dilihat dari nilai rata-rata terlihat adanya penurunan berat testis dan epididimis pada perlakuan dengan dosis

112 mg/kgBB (P2) dan 168 mg/kgBB (P3).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Rekha dan Chandrasekhara (2014) yang menemukan bahwa pemberian senyawa saponin dengan dosis tinggi dan dalam jangka panjang akan menghambat perkembangan testis dan dapat menyebabkan pengecilan ukuran testis (atrofi testis) dibandingkan dengan kontrol. Senyawa saponin memiliki sifat amfilik dan dapat membentuk kompleks dengan fosfolipid dan protein membran sel untuk mengubah permeabilitas membran, sehingga terjadi gangguan aktivitas sel dan menyebabkan kematian sel (Barbosa, 2014).

Berat testis ditentukan oleh perkembangan dari epitelium tubulus seminiferus. Diduga karena efek saponin, sel spermatogenik di tubulus seminiferus tidak dapat mempertahankan aktivitasnya, sehingga menimbulkan adanya perbedaan variasi sel spermatogenik di tubulus seminiferus. Penelitian Nita *et al.* (2016) tentang pengaruh ekstrak klabet pada organ reproduksi tikus jantan didapatkan hasil ketebalan sel-sel germinal tubulus seminiferus berkurang antara tikus kontrol dengan tikus yang diberikan perlakuan. Hal ini dikarenakan kandungan aktif dalam klabet yaitu saponin dapat menghambat proses mitosis yang berujung pada terhambatnya perkembangan sel germinal bahkan kerusakan yang dibuktikan dengan adanya penurunan ketebalan sel-sel germinal.

Secara fisiologis, dalam sistem Hipotalamus-Hipofisis-Testis (HHT), hipotalamus bertanggung jawab untuk mensekresikan GnRH (*Gonadotropin-releasing hormone*) untuk merangsang kelenjar hipofisis anterior untuk mengeluarkan FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*), namun adanya saponin yang mengikat retikulum endoplasma (RE) kemudian menyebabkan penurunan pertumbuhan, pematangan dan jumlah sel Leydig sehingga menurunkan sekresi testosteron. Ketika testosteron menurun, spermatogenesis juga terganggu dan hal ini dapat menyebabkan penurunan ketebalan sel germinal yang berakibat penurunan berat testis dan epididimis (Hanum, 2010).

Kualitas spermatozoa

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak biji klabet berpengaruh secara nyata terhadap konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa mencit. Hal ini dapat diartikan bahwa ekstrak biji klabet dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Menurut Hess and de Franco (2008) untuk dapat mengamati kualitas spermatozoa secara tepat maka dibutuhkan lama penelitian paling sedikit 36 hari karena lama spermatogenesis mencit adalah 35,5 hari dengan 4 daur epitel tubulus seminiferus, dimana 1 daur membutuhkan waktu hingga 8 hari. Penelitian ini dilaksanakan selama 24 hari, yang berarti ekstrak biji klabet sudah berpengaruh pada 3 daur epitel dari 4 daur.

Hasil uji statistik konsentrasi spermatozoa, menunjukkan terjadinya penurunan secara signifikan antara mencit kontrol (P0) dengan mencit yang diberikan perlakuan (P1, P2, dan P3). Rata-rata konsentrasi spermatozoa paling banyak ditemukan pada mencit kontrol (P0) yaitu $354,60 \times 10^6/\text{ml}$ dan paling sedikit pada perlakuan dosis tertinggi (P3) yaitu $317,00 \times 10^6/\text{ml}$. Menurut Nugroho (2018) konsentrasi spermatozoa pada mencit matang seksual yang normal sebanyak $\geq 8,11 \pm 2,7$ juta/mL. Perbedaan nyata rata-rata konsentrasi spermatozoa ditemukan antara kontrol (P0) dengan P1, P2 dan P3. Penurunan rata-rata konsentrasi spermatozoa terjadi secara signifikan, dimana semakin tinggi dosis yang diberikan maka rata-rata konsentrasi spermatozoa semakin

menurun. Didukung dengan penelitian Wiryawan dan Ida (2009) tentang pengaruh ekstrak biji klabet pada konsentrasi spermatozoa kelinci yang juga menunjukkan penurunan semakin tinggi dosis yang diberikan. Penurunan konsentrasi spermatozoa dapat disebabkan oleh adanya senyawa fitokimia dalam biji klabet yang memiliki sifat antifertilitas.

Hasil uji statistik motilitas menunjukkan terjadinya penurunan untuk motilitas *progresif* antara mencit kontrol dengan mencit yang diberi perlakuan. Rata-rata motilitas *progresif* paling banyak ditemukan pada mencit kontrol (P0) yaitu 69,40 % dan paling sedikit pada P3 yaitu 30,80% sedangkan spermatozoa yang *immotile* semakin meningkat dengan bertambahnya dosis yang diberikan. Didukung oleh penelitian Susilawati *et al.* (2022) tentang pengaruh ekstrak biji klabet pada mencit dengan dosis 0,4 mg/BB yang juga menunjukkan terjadi penurunan motilitas spermatozoa antara mencit kontrol dengan mencit yang diberikan perlakuan. Dalam pembuahan, daya gerak progresif sangat dibutuhkan spermatozoa saat berada di saluran reproduksi betina untuk menuju ke tempat fertilisasi. Semakin besar persentase motilitas sperma yang *immotile* (tidak bergerak) maka kemungkinan terjadinya infertilitas atau kemandulan semakin besar (Saratina dan Ciptadi, 2012). Terjadinya penurunan motilitas dapat disebabkan oleh adanya gangguan terhadap sekresi testosteron dan juga gangguan saat proses spermatogenesis (Julia *et al.*, 2019).

Fertilitas pada jantan dapat mengalami penurunan diakibatkan oleh adanya kelainan urogenital, kelainan endokrin, kelainan genetik, infeksi saluran urogenital, faktor imunologi dan varikokel yang berakibat suhu skrotum yang meningkat. Pemeriksaan infertilitas pada jantan selain melalui tes kualitas spermatozoa dapat juga melalui palpasi skrotum untuk mengetahui konsistensi testis, jika konsistensi testis lunak dan kecil dapat diindikasikan bahwa adanya gangguan di spermatogenesis. Selain itu dapat juga dilakukan pemeriksaan hormon (FSH, LH dan Testosteron) dan USG skrotum (Jungwirth *et al.*, 2015).

Hasil uji statistik morfologi abnormal pada penelitian ini menunjukkan terjadinya kenaikan yang signifikan. Rata-rata morfologi abnormal spermatozoa paling banyak ditemukan pada mencit dengan perlakuan dosis tertinggi (P3) yaitu 66,00% dan paling sedikit ditemukan pada perlakuan kontrol (P0) yaitu 19,20%. Hal ini dapat terjadi dikarenakan adanya senyawa alkaloid pada biji klabet yang diduga dapat menurunkan kadar enzim antioksidan yang menyebabkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di epididimis, sehingga dapat mengganggu pematangan dan penyimpanan spermatozoa menyebabkan spermatozoa abnormal (Shunnarah *et al.*, 2021). Menurut penelitian Susilawati *et al.* (2022) yang menunjukkan terjadinya kenaikan spermatozoa yang abnormal. Hal itu dapat disebabkan karena adanya gangguan regulasi hormon akibat pengaruh senyawa alkaloid yang menyebabkan penurunan hormon FSH sehingga terjadi pelepasan spermatozoa prematur dan abnormalitas spermatozoa.

Abnormalitas pada spermatozoa dikelompokkan menjadi dua yaitu primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi akibat adanya gangguan spermatogenesis di tubulus seminiferus. Abnormalitas primer yang terjadi pada spermatozoa mencit dapat berupa ukuran kepala spermatozoa besar, ukuran kepala spermatozoa kecil, kepala melebar, kepala ganda dan ekor putus atau terbelah. Sedangkan abnormalitas sekunder terjadi ketika spermatozoa dalam perjalanan menuju epididimis. Abnormalitas sekunder yang terjadi pada spermatozoa mencit dapat berupa

kepala yang terpisah dengan ekornya (Nugroho, 2018).

Pada penelitian Suyasa (2022) tentang kualitas spermatozoa mencit yang diberi perlakuan ekstrak daun sirih hutan yang memiliki kandungan senyawa serupa dengan klabet dikatakan bahwa kualitas spermatozoa mencit meningkat. Hal ini diduga karena kadar kandungan senyawa metabolit sekunder setiap tumbuhan berbeda sekalipun memiliki kandungan senyawa yang sama. Menurut Muliani *et al.* (2021) faktor genetik dan lingkungan (tempat tumbuh dan iklim) mempengaruhi jenis senyawa kimia metabolit sekunder dan persentase kadar kandungan yang dimiliki oleh tumbuhan.

Agen antifertilitas pada jantan dianggap aktif dan efektif ketika mampu menghambat spermatogenesis, menghambat testosteron, mempengaruhi gonadotropin organ serta mampu menyebabkan kematian sperma (Daniyal and Akram, 2015). Hasil pengamatan pada penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan dosis 56 mg/kgBB (P1), 112 mg/kgBB (P2), dan 168 mg/kgBB (P3) secara nyata mampu memberikan pengaruh terhadap penurunan kualitas sperma. Berat testis mencit memiliki perbedaan yang nyata antara perlakuan dosis tertinggi (P3) dan kontrol (P0) namun ekstrak biji klabet tidak mempengaruhi berat epididimis secara nyata. Konsentrasi spermatozoa mencit mengalami penurunan sebesar 10,60%, motilitas spermatozoa progresif mencit mengalami penurunan sebesar 55,61%, morfologi normal mencit mengalami penurunan sebesar 57,92%, sedangkan berat testis mengalami penurunan sebesar 38,46%. Dosis ekstrak biji klabet yang paling efektif digunakan sebagai agen antifertilitas adalah dosis 168 mg/kgBB (P3).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum*) dengan dosis 56 mg/kgBB, 112 mg/kgBB, dan 168 mg/kgBB berpengaruh terhadap menurunnya kualitas spermatozoa dan berat testis. Dosis ekstrak biji klabet yang paling efektif sebagai agen antifertilitas dalam penelitian ini adalah dosis 168 mg/kgBB karena menyebabkan penurunan kualitas sperma dan berat testis.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbosa, A. D. P. 2014. An Overview on the Biological & Pharmacological Activities of Saponins. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*, **6**(8): 47-50.
- Daniyal, M., and Akram, M. 2015. Antifertility Activity of Medicinal Plants. *Journal of Chines Medical Association*, **78**:382-388.
- Hanum, M. 2010. *Biologi Reproduksi*. Nuha Medika. Yogyakarta.
- Hess, R. A., and de Franco, L. R. 2008. *Spermatogenesis and Cycle of the Seminiferous Epithelium in Molecular Mechanism in Spermatogenesis*. Edited by C.Y. Cheng. Landes Bioscience and Springer. London.
- Jenkins, D.J., Kendall, C.W., and Marchie, A. 2003. Effects of a Dietary Portfolio of Cholesterol Lowering Foods vs Lovastatin on Serum Lipids and C-Reactive Protein. *JAMA*, **290**(4), pp. 502-510.
- Julia, D., Salni, S., and Nita, S. 2019. Pengaruh Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-*

- Sinensis* Linn.) Terhadap Jumlah, Motilitas, Morfologi, Vabilitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*). *Biomedical Journal of Indonesia: Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, **5**(1), 34–42.
- Jungwirth, A., Diemer, T., and Dohle, G.R. 2015. *Guidelines on Male Infertility*. European Association of Eurology.
- Kulkarni, C.P., Bodhankar, S.L., Ghule, A.E., and Mohan, V. 2012. Antidiabetic Activity of *Trigonella foenum graecum* L. Seeds Extract (Ind01) in Neonatal Streptozotocin-Induced (N-STZ) Rats. *Diabetologia Croatica*, **41**(1):29-40
- Muliani, S. A., Hakim, dan Al Idrus, S. W. 2021. Pengembangan Modul Praktikum Kimia Bahan Alam: Isolasi Senyawa Stigmasterol dari Daun Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete*). *Chemistry Education Practice*, **4**(3):224-229.
- Nita, S., Habisukan, U.H., dan Zen, N.F. 2016. Saponin Biji Klabet pada Organ Reproduksi Tikus Jantan Sprague Dawley. *Jurnal Penelitian Sains*, **18**(2):59-65
- Nugroho, R. A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Nurliani, A. 2007. Penelusuran Potensi Antifertilitas Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus Murr*) melalui Skrining Fitokimia. *Sains dan Terapan Kimia*, Vol.1, No.2 (Juli 2007), 53 – 58.
- Patil, S., and Jain, G. 2014. Holistic approach of *Trigonella foenum-graecum* in Phytochemistry and Pharmacology- A Review. *Current Trends in Technology and Science*, **3**(1):34-48.
- Rekha, S., and Chandrasekhara, S. 2014. Antifertility Effect of *Ziziphus jujube* mill. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.
- Saratina T., dan Ciptadi, G. 2012. Analisis Beberapa Parameter Motilitas pada Berbagai Ternak Menggunakan *Computer Assisted Semen Analysis*(CASA). *Jurnal Ternak Tropika*. **6**(2):1-12.
- Shunnarah, A., Tumlinson, R., and Calderón, A. I. 2021. Natural Products with Potential for Nonhormonal Male Contraception. *Journal of Natural Product*.
- Subramanian, S.P., and Prasath, G.S. 2014. Antidiabetic and Antidyslipidemic Nature of Trigonelline, a Major Alkaloid of Fenugreek Seeds Studied in High-Fat-Fed and Low-Dose Streptozotocin-induced experimental Diabetic Rats.
- Susilawati, P., Satriyasa, B. K., dan Widiyanti, I. G. A. 2022. Pemberian Ekstrak Etanol Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) Menurunkan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Dewasa Muda. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, **9**(2):318-324.
- Suyasa, D.G. 2022. Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan (*Piper caninum*). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi. Bali.
- Tarigan, P. 1980. *Sapogenin Steroid*. Alumni. Bandung.
- Trivedi, P.D., Pundarikakshudu, K., Rathnam, S., and Shah, K.S. 2007. A Validate Quantitative Thin-Layer Chromatographic Method for Estimation of Diosgenin in Various Plant Samples, Extract, and Market Formulation. *J Aoac Int*, **90**(2): 358-63.
- Wibisono, H. 2010. *Panduan Laboratorium Andrologi*. PT Refika Aditama. Bandung.
- Wiryawan, I., dan Ida, A. 2009. Ekstrak Biji Klabet Menurunkan Jumlah Sel Spermatozoa pada Kelinci. *Jurnal Veteriner*, **10**(2):71-76.