

ABSTRACT

Effect of Skin Extract Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) Against Sperm Quality And Malondialdehyde Levels of Mice (*Mus musculus*) Exposed With 2-Methoxyethanol

Natalia Debi Subani

Levels of Reactive Oxygen Species a high negative impact on sperm quality and lead to increased levels of malondialdehyde. To overcome this use of mangosteen peel extract as an antioxidant. This study using mice exposed to the compound 2-Methoxyethanol for 5 days and then treated with mangosteen peel extract at a dose of 25, 50 and 100 mg / kg for 35 in the sub cutaneous, while the control group only exposed to 2-Methoxyethanol. Analysis of quality (motility, morphology, viability, membrane integrity), and levels of malondialdehyde spermatozoa using sperm derived from the cauda epididymis. The results showed a dose of 25 mg / kg body weight more effectively improve the speed of motility, normal morphology and viability of spermatozoa that had been exposed to 2-Methoxyethanol, a dose of 50 mg / kg increased sperm membrane integrity and reduce levels of malondialdehyde, whereas a dose of 100 mg / kg body weight and reduce sperm quality increased levels of malondialdehyde. The conclusion is mangosteen rind extract improve sperm quality and reduce levels of malondialdehyde mice that had been exposed to 2-Methoxyethanol.

Keywords: mangosteen rind extract, motility, morphology, viability, membrane integrity, levels of malondialdehyde, 2-Methoxyethanol

PENDAHULUAN

Infertilitas merupakan masalah di seluruh dunia (Naher, *et al.*, 2011) dan dialami oleh 10-15% pasangan suami istri (Fritz dan Speroff, 2011). *World Health Organization* mendefinisikan infertilitas sebagai ketidakmampuan pasangan suami istri untuk menghasilkan konsepsi atau kehamilan setelah satu

tahun atau lebih melakukan hubungan seks secara teratur tanpa penggunaan kontrasepsi (Kefer, *et al.*, 2009) dan faktor pria sebagai penyebab sebesar 20% dari seluruh kasus infertilitas (Fritz dan Speroff, 2011).

Ada empat kategori penyebab utama infertilitas pada pria, yaitu 1) gangguan fungsi

hipotalamus-pituitari (1-2%); 2) gangguan gonad primer (30-40%); 3) gangguan transportasi spermatozoa (10-20%); serta 4) idiopatik (40-50%) (Fritz dan Speroff, 2011). Beberapa tahun terakhir, banyak peneliti yang juga mempelajari penyebab-penyebab infertilitas pria yang difokuskan pada peranan *reactive oxygen species (ROS)* atau radikal bebas (Darmawan, 2007). Dalam jumlah sedikit ROS dibutuhkan untuk mendukung terjadinya proses kapasitas, hiperaktifasi, dan reaksi fusi antara oosit dan spermatozoa. Namun jumlah ROS yang terlalu tinggi dapat berdampak negatif terhadap kualitas spermatozoa (Kefer, *et al.*, 2009). Menurut Tremellen (2012), kerusakan spermatozoa oleh ROS ditemukan sebanyak 30% - 80% dari kasus infertilitas pria.

Sumber ROS yang merusak spermatozoa dapat berasal dari spermatozoa itu sendiri maupun dari luar, seperti aktivitas berlebihan, peningkatan temperatur skrotum, adanya infeksi, rokok, alkohol, polusi dan komponen industri. Produk industri berdampak sangat luas terhadap manusia dan kesehatan lingkungan, dimana komponen yang berdampak pada fertilitas ada beberapa kelompok. Sebagai contoh adalah komponen phtalate (Kefer, *et al.*, 2009), khususnya kelompok senyawa ester ftalat (Hayati, *et al.*, 2006).

Ester ftalat sering digunakan sebagai bahan pelentur dalam industri plastik serta pelarut cat, vernis, pewarna, tinta, dan kosmetik, serta sebagai bahan anti mogok pada bahan bakar kendaraan bermotor. Salah satu senyawa ester ftalat yang paling berbahaya adalah *2-Methoxyethyl Phthalate (DMEP)*. Senyawa DMEP dalam tubuh manusia dihidrolisis menjadi *2-Methoxyethanol (2-ME)* yang selanjutnya akan dioksidasi oleh alkohol dehidrogenase menjadi *2-Methoxyacetaldehid (MALD)*, kemudian oleh aldehyd dehidrogenase diubah menjadi *Methoxyacetic Acid (MAA)*, yang merupakan bahan toksik, khususnya bagi organ reproduksi (Hayati, *et al.*, 2006).

Senyawa 2-ME merupakan pelarut tidak berwarna yang dapat masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernapasan, kulit, dan sistem pencernaan (Wahyuningsih, 2008). Senyawa 2-ME akan tersebar luas dan masuk ke dalam sirkulasi darah kemudian menuju organ yang sensitif terhadap zat tersebut yaitu testis, limpa dan timus (Marulyananda, 2012). Paparan senyawa 2-ME 200 mg/kgBB menyebabkan rusaknya tubulus seminiferus, penurunan jumlah spermatogonium dan spermatid serta merusak morfologi spermatozoa (Hayati, *et al.*, 2004). Senyawa ini dapat menyebabkan stres oksidasi pada spermatozoa yang merupakan penyebab utama

disfungsi spermatozoa dengan menghambat proses oksidasi fosforilasi. Oksidasi fosforilasi yang terganggu menyebabkan peningkatan ROS spermatozoa. Kadar ROS yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein, dan DNA. Lipid membran plasma spermatozoa memiliki fosfolipid dengan kadar yang tinggi sehingga menyebabkan spermatozoa sangat rentan terhadap ROS. Oksidasi lipid pada membran spermatozoa menghasilkan senyawa *Malondialdehyde* (MDA), yang menyebabkan kerusakan membran spermatozoa (Hayati, 2007).

Terdapat korelasi negatif antara kadar MDA spermatozoa dan integritas membran spermatozoa sehingga dapat dijelaskan bahwa tingginya kadar MDA akan menurunkan integritas membran sel. Kerusakan spermatozoa ini menyebabkan terjadinya penurunan kualitas spermatozoa (Hayati, *et al.*, 2006).

Untuk mencegah efek dari reaksi oksidasi oleh 2-ME diperlukan antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dan diharapkan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa (Showell, *et al.*, 2012). Antioksidan merupakan *scavenger* dan menekan efek dari ROS dan peroksidasi lipid. Sumber antioksidan antara lain berasal dari tumbuh-tumbuhan (Marulyananda, 2012). Salah satunya adalah menggunakan

kulit buah manggis. Kulit buah manggis yang biasanya dibuang ternyata dapat dikembangkan sebagai obat (Nugroho, 2012).

Ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan dari beberapa jenis ekstrak kulit buah manggis (ekstrak air, etanol, dan etil asetat) berpotensi sebagai penangkal radikal bebas. Hasil dari ekstrak air dan etanol mempunyai potensi antioksidan yang lebih besar dari ekstrak etil asetat. Sampai saat ini belum ada penelitian tentang pemanfaatan kulit buah manggis terhadap kualitas spermatozoa (motilitas, morfologi, viabilitas, dan integritas membran) dan kadar MDA yang telah terpapar 2-ME. Dengan demikian maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat ekstrak kulit buah manggis terhadap kualitas spermatozoa dan kadar MDA mencit yang terpapar 2-ME.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh ekstrak kulit buah manggis dengan dosis bertingkat terhadap kualitas spermatozoa dan kadar MDA mencit yang terpapar 2-ME.

METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental murni (*true experimental*) laboratorik dengan pendekatan *post test only control group design*.

Hewan coba menggunakan mencit (*Mus musculus*) strain

Balb/c dengan berat badan rata-rata 25 gram per ekor sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi empat kelompok terdiri atas satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Semua kelompok diberi paparan 2-ME 200 mg/kgBB selama 5 hari, selanjutnya hari ke 6-40 kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberikan ekstrak kulit buah manggis dengan dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB yang dilarutkan dengan CMC 0,5% sedangkan kelompok kontrol (K0) hanya diberikan CMC 0,5%. Semuanya diberikan melalui injeksi sub kutan.

Penelitian dilakukan di Rumah Hewan dan Laboratorium Genetika Molekuler Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya selama bulan Mei - Juni 2013.

1. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Manggis

Kulit buah manggis ditimbang sebanyak 1 kg dan dikering anginkan sampai kering. Kulit buah manggis yang kering dihaluskan, lalu direndam dengan etanol 96 % sebanyak 1 L selama satu malam. Fraksi etanol dipisahkan dari serbuk kulit buah manggis yang telah direndam dengan cara disaring. Dilakukan evaporasi etanol dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 2 hari, selanjutnya dilakukan pengeringan dengan *freeze dry* hasilnya berupa ekstrak etanolik kulit buah manggis.

2. Pengambilan Spermatozoa Mencit

Mencit (*Mus musculus*) jantan dewasa galur BALB/c berumur 35 hari dengan berat badan rata-rata 25 gram/ekor. Mencit-mencit tersebut diadaptasikan dengan suasana tempat penelitian selama tujuh hari. Perlakuan dilakukan selama 40 hari. Setelah diberikan perlakuan, pada hari ke 41 mencit dikorbakan dengan kloroform dan dibedah di bagian bawah abdomen untuk diambil epididimis bagian cauda. Kemudian cauda epididimis sepanjang 0,5 cm dicacah dalam 1 ml larutan NaCl 0,9% dengan menggunakan gunting dan scalpel sampai terbentuk suspensi sperma.

3. Pengukuran Kecepatan Motilitas Spermatozoa Mencit

Pengukuran kecepatan motilitas spermatozoa mencit berbeda dengan pengukuran kecepatan motilitas spermatozoa manusia maupun hewan ternak. Motilitas spermatozoa mencit ditentukan dari banyaknya jumlah spermatozoa yang bergerak hiperaktif maju ke depan dan cepat. Motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x per 100 spermatozoa dengan pengulangan sebanyak 6x dan hasilnya dicatat dengan satuan $\mu\text{m}/\text{detik}$.

4. Pengamatan Morfologi Spermatozoa Mencit

Pengamatan persentase morfologi spermatozoa dilakukan dengan membuat hapusan suspensi spermatozoa pada kaca

obyek. Satu tetes spermatozoa diteteskan di satu ujung gelas obyek, kemudian diberi 1 tetes Eosin 1% dan 1 tetes Nigrosin 10%, kemudian dihomogenkan dan dibuat hapusan dan dikering anginkan selama 2-4 menit. Sebanyak 100 sel spermatozoa diamati morfologinya (%) dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Morfologi yang baik adalah bila kepala dan leher utuh, serta ekornya lurus.

5. Pengamatan Viabilitas

Spermatozoa Mencit

Persentase spermatozoa yang hidup ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna Eosin 1 % dan Negrosin 10% yang dicampurkan pada spermatozoa. Apabila spermatozoa mati, akan menyerap zat warna yang ada disekitarnya sehingga warnanya menjadi merah sedangkan yang hidup tidak menyerap zat warna dan warnanya bening. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x.

6. Pengamatan Integritas

Membran Spermatozoa

Pengamatan integritas membran spermatozoa dilakukan dengan uji HOS tes. Suspensi sperma 0,5 ml ditambah 4,5 ml larutan pengembang (0,735 gram *sodium citrat dihydrate* ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7,2\text{H}_2\text{O}$) dan 1,351 gram fruktosa dalam 100 ml air destilasi) dicampur dengan hati-hati menggunakan pipet, kemudian diinkubasi di dalam

inkubator CO₂ pada suhu 37 °C selama 60 menit. Setelah diinkubasi larutan tersebut diambil satu tetes dan diletakkan pada gelas objek selanjutnya ditambahkan satu tetes larutan Eosin 1% dan Negrosin 10%. Kemudian dibuat preparat ulas dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Integritas spermatozoa dihitung dari jumlah spermatozoa yang ekornya menggebu dan melingkar setiap 100 spermatozoa (%).

7. Pengukuran kadar MDA

Spermatozoa Mencit

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan pemeriksaan spermatozoa yang didapatkan dari kauda epididimis. Spermatozoa dipisahkan dari protein yang ada di sekitarnya dengan penambahan 0,5 ml asam trikloroasetat 20% kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 5000 rpm untuk mempercepat pengendapan protein. Supernatan spermatozoa sebanyak 1000 µl ditambah 200 µl natrium thiobarbiturat 1% dan 8,8 ml asam klorida 1 N pada labu ukur. Larutan tersebut kemudian diinkubasi di atas penangas air selama 135 menit dengan suhu 50 °C. Setelah itu larutan berwarna yang mengandung MDA tersebut diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 531,4 nm.

8. Analisis Data

Analisis data menggunakan *Multivariate Analysis Of Variance* (MANOVA).

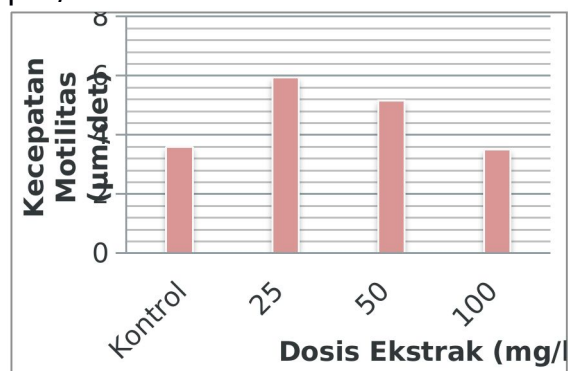
HASIL PENELITIAN

Data hasil penelitian diuji statistik menggunakan SPSS, hasil uji non parametrik *One Sample Kolmogrov-Smirnov* menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai $Z > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *Multivariate Analyze of Variance* dengan nilai $p < 0,05$ pada variabel motilitas, morfologi, viabilitas dan integritas membran sedangkan pada kadar MDA bernilai > 0.05 . Untuk variabel dengan nilai $p < 0,05$ dilakukan uji *Post Hoc Fisher's LSD* untuk menganalisis varians signifikan antar kelompok perlakuan.

1. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis Terhadap Peningkatan Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME

Hasil pengukuran terhadap kecepatan motilitas spermatozoa pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada gambar di bawah. Pada gambar tersebut tampak bahwa rata-rata kecepatan motilitas spermatozoa pada kelompok kontrol sebesar $3,60 \pm 0,255 \mu\text{m/det}$, sedangkan untuk kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) berturut-turut kecepatan motilitasnya adalah $5,94 \pm 2,090$;

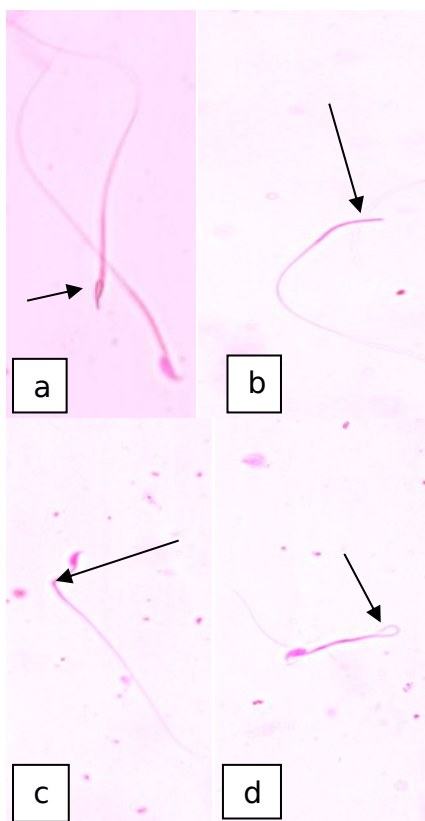
$5,17 \pm 1,404$; dan $3,50 \pm 0,077 \mu\text{m/det}$.



Dari gambar tersebut tampak bahwa dosis ekstrak kulit buah manggis yang paling baik untuk meningkatkan motilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME adalah 25 mg/kgBB, tetapi semakin tinggi dosis (50 dan 100 mg/kgBB) semakin menurunkan kecepatan motilitas spermatozoa.

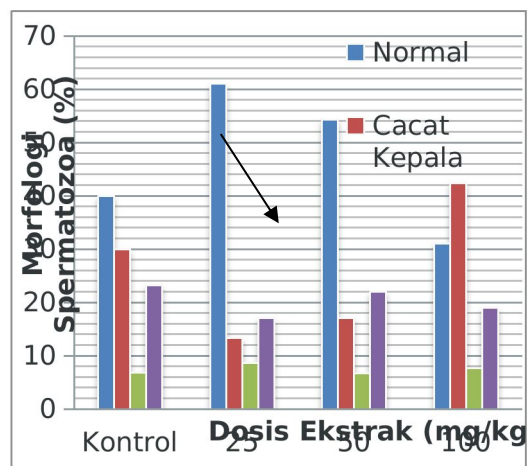
2. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis Terhadap Peningkatan Prosentase Morfologi Normal Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME

Gambar ini mewakili macam-macam morfologi spermatozoa. Spermatozoa tanpa kepala, leher yang patah dan ekor melingkar sangat sering dijumpai selama pengamatan.



Gambar : Morfologi spermatozoa mencit (a. Normal; b. Cacat kepala; c. Cacat leher; d. Cacat ekor)

Gambar berikut yang memuat hasil penelitian ini menunjukkan rata-rata prosentase morfologi spermatozoa. Prosentase morfologi spermatozoa normal pada kelompok kontrol $40,00 \pm 6,693$; kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak bertingkat (25, 50, 100 mg/kgBB) $61,00 \pm 4,899$; $54,33 \pm 5,820$; $31,00 \pm 7,321\%$ sedangkan prosentase morfologi spermatozoa yang cacat dapat dilihat pada gambar tersebut.



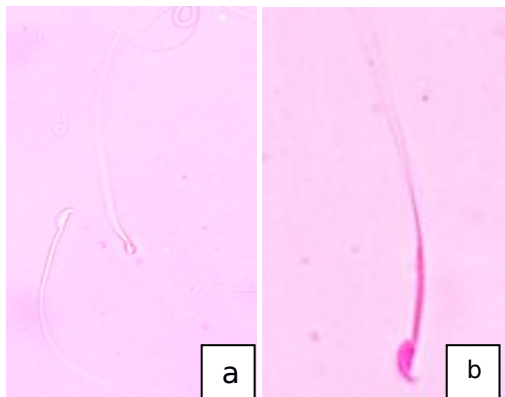
Gambar: Pengaruh ekstrak kulit buah manggis terhadap prosentase morfologi spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME

Berdasarkan gambar di atas terlihat bahwa ekstrak kulit buah manggis dosis 25 mg/kgBB meningkatkan prosentase morfologi normal spermatozoa namun saat dosis ekstrak ditingkatkan (50 dan 100 mg/kgBB), prosentase spermatozoa yang normal morfologinya semakin menurun terutama dosis 100 mg/kgBB. Dosis ini meningkatkan angka kecacatan spermatozoa dibandingkan kelompok kontrol.

3. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis Terhadap Prosentase Viabilitas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME

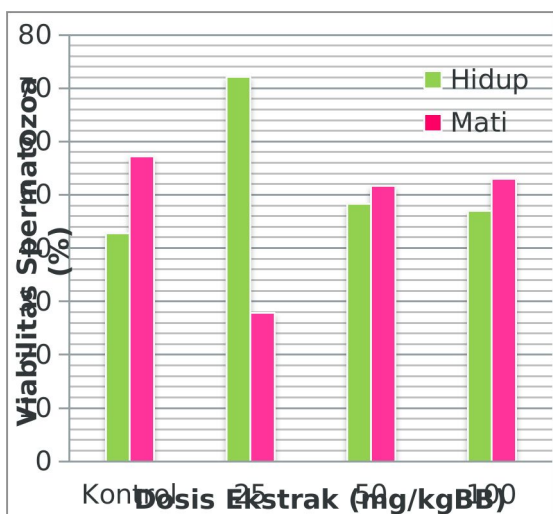
Spermatozoa di dalam gambar berikut ini mewakili gambaran spermatozoa yang hidup dan yang mati. Spermatozoa yang hidup (kiri) tidak menyerap warna sehingga terlihat bening sedangkan

spermatozoa yang mati berwarna ungu karena menyerap warna.



Gambar 5.4 Viabilitas spermatozoa mencit (a. Hidup; b. Mati)

Prosentase viabilitas spermatozoa tertera dalam gambar berikut dan menunjukkan prosentase rata-rata spermatozoa yang hidup pada kelompok kontrol adalah $42,83 \pm 7,414$; kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak 25, 50 dan 100 mg/kgBB adalah $72,17 \pm 3,545$; $48,33 \pm 6,439$ dan $47,00 \pm 4,858\%$.

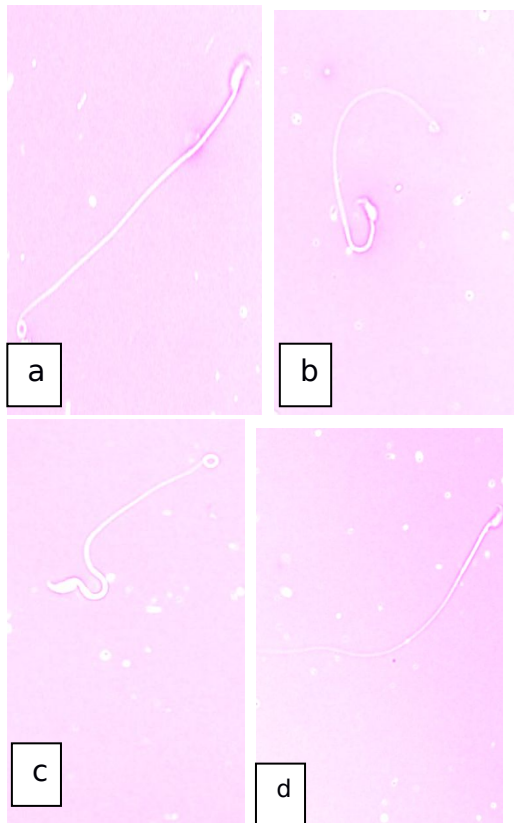


Gambar: pengaruh ekstrak kulit buah manggis terhadap prosentase viabilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME

Gambar ini memperlihatkan bahwa dosis ekstrak kulit buah manggis 25 mg/kgBB menyebabkan peningkatan prosentase spermatozoa yang hidup sedangkan dengan peningkatan dosis ekstrak menjadi 50 dan 100 mg/kgBB jumlah spermatozoa yang hidup dan yang mati hampir setara dengan kelompok kontrol.

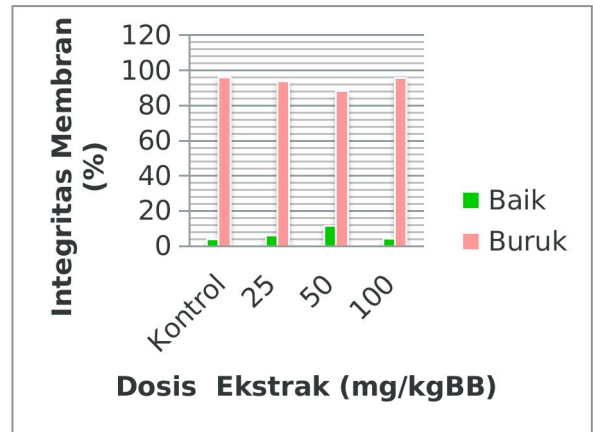
4. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis Terhadap Prosentase Integritas Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME

Gambar berikut ini menggambarkan keadaan integritas membran spermatozoa yang baik dengan pembengkakan di bagian ekor (kiri) dan spermatozoa yang mengalami kerusakan integritas membran (kanan).



Gambar 5.6 Integritas membran spermatozoa mencit (a,b,c : Integritas membran baik; d. Integritas membran buruk)

Hasil penelitian yang tertera pada gambar di bawah ini menunjukkan rata-rata prosentase integritas membran spermatozoa yang baik pada kelompok kontrol sebanyak $3,83 \pm 0,983$; kelompok perlakuan (P1, P2, P3) sebanyak $6,00 \pm 1,673$; $11,00 \pm 1,517$ dan $4,33 \pm 1,211\%$.

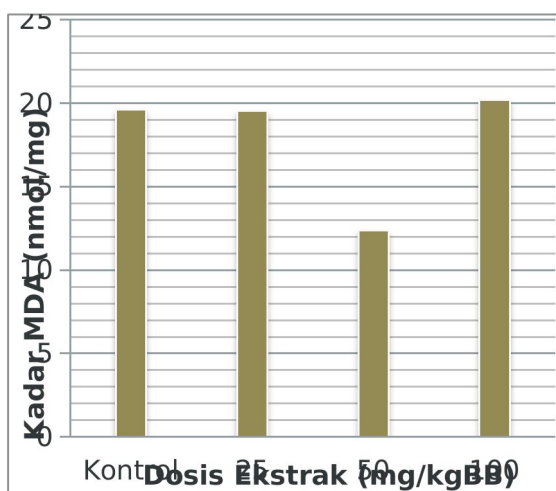


Gambar: pengaruh ekstrak kulit buah manggis terhadap prosentase integritas membran spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME

Gambar di atas menunjukkan bahwa dosis 50 mg/kgBB ekstrak kulit buah manggis meningkatkan prosentase integritas membran spermatozoa yang baik pada mencit yang terpapar 2-ME.

5. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis Terhadap Penurunan Kadar MDA Spermatozoa Mencit Yang Terpapar 2-ME

Hasil penelitian dapat dilihat pada gambar dibawah yang menggambarkan nilai rata-rata kadar MDA spermatozoa yang baik pada kelompok kontrol sebesar $19,61 \pm 5,569$. Pada kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak 25 mg/kgBB kadar MDANYa $19,56 \pm 2,207$; kelompok perlakuan (P2 dan P3) $12,36 \pm 12,034$ dan $20,22 \pm 16,662$ nmol/mg.



Gambar : pengaruh ekstrak kulit buah manggis terhadap penurunan kadar mda spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME

Gambar ini menunjukkan adanya penurunan kadar MDA spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME terdapat pada pemberian ekstrak kulit buah manggis dengan dosis 50 mg/kgBB.

PEMBAHASAN

1. Motilitas

Hasil penelitian ini menyatakan bahwa dosis ekstrak 25 mg/kgBB meningkatkan kecepatan motilitas yang menunjukkan adanya perbaikan fungsi mitokondria sebagai penghasil ATP untuk menggerakkan flagela. Hal ini sejalan dengan teori yang menyatakan bahwa sehingga jika terjadi gangguan pada mitokondria maka motilitas akan terganggu (Susmiarsih, 2010). Fungsi mitokondria dapat berjalan dengan baik jika integritas

membrannya baik (Bucak, *et al*, 2010).

Pernyataan tersebut mendukung hasil penelitian yang mengindikasikan banyaknya spermatozoa yang mengalami kerusakan membran dan fakta selama pengamatan banyaknya spermatozoa yang immotil. Namun karena tujuan dalam penelitian ini adalah mengukur kecepatan motilitas spermatozoa sehingga hal itu tetap dapat dilakukan pada spermatozoa yang motil.

Peningkatan kecepatan motilitas spermatozoa pada dosis ekstrak 25 mg/kgBB dapat disebabkan karena terciptanya keseimbangan antioksidan enzimatis dan non enzimatis di dalam sel spermatozoa. Kandungan antioksidan di dalam ekstrak kulit buah manggis terutama *xanthone* dapat menetralkan radikal bebas (Pasaribu, *et al*, 2012) namun antioksidan tersebut tampaknya tidak bekerja secara efektif pada dosis 50 dan 100 mg/kgBB. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa ada zat aktif lain yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis dan tidak mendukung fungsi antioksidannya.

2. Morfologi

Morfologi spermatozoa normal pada dosis ekstrak 25 mg/kgBB lebih banyak dari dosis 50 dan 100 mg/kgBB. Keadaan ini dapat disebabkan karena antioksidan yang terkandung di

dalam ekstrak mencegah terjadinya peroksidasi lipid dan melindungi keutuhan membran spermatozoa.

Tingginya angka kecacatan baik kepala, leher maupun ekor yang terjadi pada dosis ekstrak 100 mg/kgBB mengindikasikan tidak efektifnya kerja antioksidan dalam menetralkan ROS. Kejadian ini juga menimbulkan dugaan bahwa dosis ekstrak tersebut justru bersifat toksik dan meningkatkan kadar ROS yang tidak dapat ditolerir oleh antioksidan yang secara fisiologis terdapat pada spermatozoa. Hal ini sejalan dengan pernyataan tentang adanya korelasi negatif antara kadar ROS dengan proporsi spermatozoa normal namun berkorelasi positif dengan jumlah spermatozoa yang cacat kepala (*amorphous*, kerusakan akrosom), *midpiece defect*, *cyto-plasmic retention*, *tail defects*, dan *sperm deformity index (SDI) scores* (Darmawan, 2007).

Adanya peningkatan maupun penurunan prosentase morfologi spermatozoa normal maupun cacat menunjukkan bagaimana efektifitas kerja antioksidan yang terkandung di dalam ekstrak kulit buah manggis selama proses spermatogenesis terutama pada proses spermiogenesis dan maturasi spermatozoa. Kondisi ini juga dapat diakibatkan karena pemberian 2-ME. Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian terdahulu yang menyatakan

bahwa paparan senyawa 2-ME 200 mg/kgBB menyebabkan rusaknya tubulus seminiferus, penurunan jumlah spermatogonium dan spermatid serta merusak morfologi spermatozoa (Hayati, *et al.*, 2004).

3. Viabilitas

Dalam penelitian peningkatan jumlah spermatozoa yang hidup hanya terjadi pada dosis ekstrak 25 mg/kgBB sedangkan dengan peningkatan dosis (50 dan 100 mg/kgBB) jumlah spermatozoa yang hidup dan mati hampir setara dengan kelompok kontrol yang tidak mendapatkan ekstrak. Hal ini dapat disebabkan karena kondisi keseimbangan antara antioksidan yang ada di dalam sel (Bucak, *et al.*, 2010) pada dosis 25 mg/kgBB lebih baik dibandingkan dosis lainnya.

Antioksidan enzimatis dan non enzimatis berfungsi sebagai *scavenger* terhadap radikal bebas (Kefer, Agarwal, Sabanegh, 2009). Dalam penelitian ini dosis manggis 50 dan 100 mg/kgBB tidak mampu memperbaiki angka viabilitas spermatozoa. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis ini berperan sebagai ROS karena telah bersifat toksik jika diberikan dalam waktu lama terlebih dengan kemungkinan adanya interaksi antara ekstrak dan 2-ME yang merupakan oksidan. ROS menyebabkan peroksidasi lipid membran plasma spermatozoa sehingga menyebabkan

banyaknya spermatozoa yang mati.

4. Integritas membran

Integritas membran spermatozoa dalam penelitian ini, baik itu pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan memiliki angka kerusakan yang sangat tinggi. Akan tetapi, tetap ada perbedaan pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap peningkatan integritas membran pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya mendapatkan 2-ME. Peningkatan prosentase integritas membran yang baik tampak pada dosis ekstrak 50 mg/kgBB.

Keadaan ini dapat disebabkan karena tingginya kadar MDA yang mengindikasikan proses peroksidasi lipid juga tinggi sehingga merusak membran plasma dan menandakan kecilnya efektifitas antioksidan yang terkandung dalam buah manggis untuk memperbaiki integritas membran yang telah dirusak oleh 2-ME. Selain itu ada kemungkinan bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis pada dosis tertentu dalam jangka waktu yang lama justru berperan sebagai oksidan yang menyebabkan kerusakan integritas membran spermatozoa juga ikut meningkat.

5. Kadar MDA

Dalam penelitian ini, hanya kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak 50 mg/kgBB yang efektif menurunkan kadar MDA spermatozoa. Hal ini menandakan

kemampuan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis untuk menurunkan kadar MDA spermatozoa yang telah terpapar 2-ME kurang baik dan diduga ada zat aktif lain yang terkandung di dalam ekstrak tersebut yang mekanisme kerjanya berlawanan dengan fungsi antioksidannya. Namun jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mendapatkan terapi ekstrak terlihat bahwa tetap ada penurunan kadar MDA terutama pada dosis 50 mg/kgBB.

Kejadian ini menimbulkan dugaan bahwa pemberian ekstrak kulit buah manggis dalam waktu yang lama dengan cara diinjeksikan juga meningkatkan kadar ROS. Selain itu dengan pemberian 2-ME yang bersifat toksik serta banyaknya jumlah spermatozoa yang mati juga menyebabkan peningkatan kejadian stres oksidatif yang ditunjukkan oleh peningkatan kadar MDA. Peningkatan produksi ROS dan kadar MDA ini dihubungkan dengan penurunan potensial membran mitokondria yang merupakan indikator penting untuk integritas fungsional spermatozoa (Darmawan, 2007). Hal ini turut mendukung hasil penelitian yang menunjukkan tingginya angka kerusakan integritas membran, abnormalitas morfologi dan kematian spermatozoa.

Kualitas spermatozoa menentukan keberhasilan dalam proses fertilisasi dan motilitas

merupakan faktor yang paling penting. Motilitas dapat dipengaruhi oleh integritas membran dan morfologi spermatozoa. Jika integritas membran dan morfologi normal spermatozoa tinggi maka motilitas juga tinggi, demikian sebaliknya.

Motilitas dan morfologi juga dipengaruhi oleh integritas membran karena jika integritas membran buruk akan menurunkan motilitas dan morfologi normal dari spermatozoa. Akan tetapi, motilitas tidak dipengaruhi oleh viabilitas karena belum tentu spermatozoa yang hidup memiliki motilitas yang baik.

Viabilitas dipengaruhi oleh integritas membran karena jika integritas membran buruk maka spermatozoa yang mati juga meningkat. Demikian juga dengan integritas membran yang sangat dipengaruhi oleh kadar MDA karena jika kadar MDA tinggi maka integritas membran spermatozoa juga buruk.

Untuk menjaga kualitas spermatozoa tetap baik maka diperlukan adanya keseimbangan antara antioksidan enzimatis dengan antioksidan non enzimatis (Kefer, Agarwal dan Sabanegh, 2009). Pemberian ekstrak kulit buah manggis dengan dosis bertingkat dalam penelitian diharapkan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa dan menurunkan kadar MDA yang disebabkan oleh

paparan senyawa 2-ME. Penentuan dosis tersebut berlandaskan pada hasil penelitian toksisitas akut maupun sub kronis ekstrak etanol kulit buah manggis selama 28 hari tidak menunjukkan efek toksik yang berarti (Nugroho, 2012).

Peningkatan dosis obat seharusnya akan meningkatkan respon yang sebanding dengan dosis yang ditingkatkan, namun dengan meningkatnya dosis peningkatan respon pada akhirnya akan menurun, karena sudah tercapai dosis yang sudah tidak dapat meningkatkan respon lagi. Hal ini sering terjadi pada obat bahan alam, karena komponen senyawa yang dikandungnya tidak tunggal melainkan terdiri dari berbagai macam senyawa kimia, dimana komponen-komponen tersebut saling bekerjasama untuk menimbulkan efek. Namun dengan peningkatan dosis, jumlah senyawa kimia yang dikandung semakin banyak, sehingga terjadi interaksi merugikan yang menyebabkan penurunan efek (Pasaribu, Sitorus dan Basri, 2012).

SIMPULAN

1. Ekstrak kulit buah manggis dosis 25 mg/kgBB meningkatkan sedangkan dosis 50 dan 100 mg/kgBB menurunkan kecepatan motilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME
2. Dosis ekstrak kulit buah manggis yang efektif

- meningkatkan prosentase morfologi normal spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME adalah 25 mg/kgBB sedangkan dosis 50 dan 100 mg/kgBB meningkatkan angka kecacatan spermatozoa
3. Ekstrak kulit buah manggis dosis 25 mg/kgBB paling efektif untuk meningkatkan prosentase viabilitas spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME
 4. Ada pengaruh ekstrak kulit buah manggis terhadap peningkatan prosentase integritas membran spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME terutama dosis 50 mg/kgBB
 5. Dosis ekstrak kulit buah manggis yang mampu menurunkan kadar MDA spermatozoa mencit yang terpapar 2-ME adalah 50 mg/kgBB

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang jenis ekstrak yang paling baik dari kulit buah manggis sehingga dapat dimanfaatkan oleh manusia
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut keefektifan kandungan antioksidan pada kulit buah manggis dengan mengisolasi zat-zat aktifnya
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang toksisitas ekstrak kulit buah manggis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, Sri. 2012. Pengaruh Pemberian Pakan Dengan Tambahan Bekatul Terhadap Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus L.*) Galur Swiss Webster. Skripsi. Universitas Indonesia : Jakarta
- Arkhaesi, Nahwa. 2008. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Serum Sebagai Indikator Prognosis Keluaran Pada Sepsis Neonatorum (*Serum Level Of Malondialdehyde (MDA) As A Prognostic Indicator For The Outcome In Neonatal Sepsis*). Tesis. UNDIP : Semarang.
- Bucak, M.N., Sariozkana, S., Tuncera, P.B., Ulutas, P.A., Akcadag, H.I. 2009. Effect of antioxidants on microscopic semen parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities in Angora goat semen following cryopreservation. *Small Ruminant Research* 81, 90-95
- Choy, J.T., Ellsworth, P. 2012. Overview Of Current Approaches To The Evaluation and Management of Male Infertility. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*. 32(6):286-94, 304 quiz 295.
- Comhaire, F., Decler, W. 2011. Quantifying The Effectiveness And Cost-Efficiency Of Food Supplementation With Antioxidants For Male

- Infertility. *Reproductive BioMedicine Online Volume 23, Issue 3 , Pages 361-362*
- Darmawan, H. 2007. Production Of ROS And Its Effects On Mitochondrial And Nuclear DNA, Human Spermatozoa, And Sperm Function. *Med J Indones. Vol 16, No 2.*
- Eisenberg, M.L., Lathi, R.B., Baker, V.L., Westphal, L.M., Milki, A.A., Nangia, A.K. 2013. Frequency of the Male Infertility Evaluation: Data from the National Survey of Family Growth. *The Journal of Urology. Volume 189, Issue 3 , Pages 1030-1034*
- Fritz, M.A., Speroff., L. 2011. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Eighth Edition, Vol.2. Lippincot Williams & Wilkins : Philadelphia.
- Hadriyono, K.R.P. 2011. Karakter Kulit Manggis, Kadar Polifenol Dan Potensi Antioksidan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* l.) Pada Berbagai Umur Buah Dan Setelah Buah Dipanen. Skripsi. IPB : Bogor.
- Hasanah, I.W. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*). Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim : Malang.
- Hayati, A. 2011. Spermatologi. LPP Unair : Surabaya.
- Hayati, A., Yunaida, B., Rai Pidada, I.B., Darmanto, W., Winarni, D. 2004. Efek 2-Methoxyethanol Terhadap Struktur Histologi Testis Mencit (*Mus musculus*). *Berk. Penel. Hayati: 10 (7-12).*
- Hayati, A., Mangkoewidjojo, S., Hinting, A., Moeljopawiro, S. 2006. Hubungan Kadar MDA Sperma Dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemaparan 2-Methoxyethanol. *Berk. Penel. Hayati: 11 (151-154).*
- Hayati, A. 2007. Kajian Kualitas dan Protein Membran Spermatozoa (*Rattus novergicus*) Akibat Pemaparan 2-Methoxyethanol. Disertasi. UGM : Yogyakarta.
- Johnson, J.J., Petiwala, S.M., Syed D.N., Rasmussen, J.T., Adhami, V.M., Siddiqui, I.A., Kohl, A.M., Mukhtar, H. 2012. Alpha Mangostin, A Xanthone From Mangosteen Fruit, Promotes Cell Cycle Arrest In Prostate Cancer And Decreases Xenograft Tumor Growth. *Journal Carcinogenesis Vol.33 No.2 Pp.413-419.*
- Kefer, J.C., Agarwal, A., Sabanegh, E. 2009. Role Of Antioxidants In The Treatment Of Male Infertility. *International Journal of Urology Volume 16, Issue 5, pages 449-457.*
- Lavenia, A. 2010. Penghambatan Peroksidasi Lipid Oleh Ekstrak Kulit Batang Mahoni

- (*Swietenia macrophylla* king)
 Pada Tikus Hiperurisemia.
 Skripsi. IPB : Bogor.
- Marulyananda, C., Hayati, A., Rai
 Pidada, I.B. 2012. Pengaruh
 Ekstrak Etanolik Kecambah
 Kacang Hijau (*Phaseolus*
radiatus) Terhadap Jumlah
 dan Morfologi Spermatozoa
 Mencit Yang Terpapar 2-
 Methoxyethanol .Skripsi.
 UNAIR : Surabaya.
- Naroputra.2011.<http://naroputra.wordpress.com/2011/12/16/teman-baru-cerita-tentang-dia/>
 (Diakses : 19 April 2013).
- Naher,Z.U., Biswas, S.K., Molah,
 F.H., Ali, M., Arslan, M.I. 2011.
 Role of Glutathione in Male
 Infertility. *Bangladesh Journal*
of Medical Biochemistry. 2011;
 4(2): 20-25
- Nugroho, A.E. 2012. Manggis
 (*Garcinia mangostana* L.) :
 Dari Kulit Buah Yang
 Terbuang Hingga Menjadi
 Kandidat Suatu Obat. UGM :
 Yogyakarta.
- Obolskiy, D., Pischel, I.,
 Siriwatanametanon, S.,
 Heinrich, M. 2009. *Garcinia*
Mangostana L.: A
 Phytochemical And
 Pharmacological Review.
Phytotherapy Research
Volume 23, Issue 8, pages
1047-1065.
- Pasaribu, F., Sitorus, P., Bahri, S.
 2012. Uji Ekstrak Etanol
 Kulit Buah Manggis (*Garcinia*
mangostana L.) Terhadap
 Penurunan Kadar Glukosa
 Darah. *Journal of*
- Pharmaceutics and*
Pharmacology, Vol.1 (1): 1-8
- Putra, I.N.K.2010. Aktivitas
 Antibakteri Ekstrak Kulit Buah
 Manggis (*Garcinia*
mangostana L.) Serta
 Kandungan Senyawa Aktifnya.
 UNUD Bali. J. Teknol. Dan
 Industri Pangan, Vol.XXI No.1.
- Retno, T., Widyastuti, S.K.,
 Suarsana, N. 2012. Pengaruh
 Pemberian Isoflavon
 terhadap Peroksidasi Lipid
 pada Hati Tikus Normal.
Indonesia Medicus Veterinus
 2012 1(4) : 483 - 491
- Salihoglu, E.M., Akaydin, G., Can,
 E.C., Akaydin, S.Y. 2010.
 Evaluation of Antioxidant
 Activity of Various Herbal
 Folk Medicine. *FABAD J.*
Pharm. Sci., 35, 59-67
- Shamsi, M.B., Venkatesh, S.,
 Kumar, R., Gupta. N.P.,
 Malhotra, N., Singh, N., Mittal,
 S., Arora, S., Arya, D.S.,
 Talwar, P., Sharma, R.K.,
 Dada, R. 2010. Antioxidant
 Levels in Blood and Seminal
 Plasma and Their Impact on
 Sperm Parameters in Infertile
 Men. *Indian Journal of*
Biochemistry & Biophysics.
Vol.47. pp 38-43
- Sherwood, Lauralee.2011.
 Fisiologi Manusia : Dari Sel Ke
 Sistem (*Human Physiology :*
From Cell to Systems). Edisi 6.
 EGC : Jakarta.
- Shibata, M.A., Linuma, M.,
 Morimoto, J., Kurose, H.,
 Akamatsu, K., Okuno, Y.,
 Akao, Y., Otsuki, Y. 2011.
 Alpha-Mangostin Extracted

From The Pericarp Of The Mangosteen (*Garcinia mangostana linn*) Reduces Tumor Growth And Lymph Node Metastasis In An Immunocompetent Xenograft Model Of Metastatic Mammary Cancer Carrying A P53 Mutation. *BioMedCentral Medicine*, 9:69

Sumiarsih, T. 2010. Peran Genetik DNA Mitokondria (mtDNA) Pada Motilitas Spermatozoa. *Majalah Kesehatan PharmaMedika*, 2010 Vol,2, No,2.

Umami, H.M. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Hiperlipidemia. Karya Tulis Ilmiah. Undip : Semarang.

Wahyuningsih , S.P.A. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Jamur *Coriolus versicolor* Untuk Meningkatkan Jumlah Total Leukosit Dan Makrofag Pada Tikus Putih Wistar Setelah Pemaparan 2-Methoxyethanol. *Berk. Penel. Hayati*: 13 (173-177).

Zribi, N., Chakroun, N.F., Elleuch, H., Abdallah, F.B., Ben Hamida, A.S., Gargouri, J., Fakhfakh, F., Keskes, L.A. 2011. Sperm DNA Fragmentation And Oxidation Are Independent Of Malondialdehyde. *Reproductive Biology and Endocrinology* 9:47.