



---

**STUDI IN-VIVO ANTIFERTILITAS STIGMASTEROL DAUN  
BELUNTAS (*Pluchea indica* L.): PENGAMATAN KONSENTRASI  
DAN MOTILITAS SPERMATOZOA**

**M. Arya Fatah<sup>1\*</sup>, Eko Susetyarini<sup>2</sup>, Lud Waluyo<sup>3</sup>, & Endrik Nurrohman<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3,&4</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,  
Universitas Muhammadiyah Malang, Jalan Raya Tlogomas Nomor 246, Malang,  
Jawa Timur 65144, Indonesia

\*Email: [aryaafatah@gmail.com](mailto:aryaafatah@gmail.com)

Submit: 08-04-2024; Revised: 22-06-2024; Accepted: 24-06-2024; Published: 30-06-2024

**ABSTRAK:** Rendahnya partisipasi masyarakat dalam penggunaan kontrasepsi menjadi salah satu faktor yang menyebabkan tingginya angka kepadatan penduduk di Indonesia. Indonesia dikenal sebagai surganya tumbuhan obat, banyak herbal yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi kontrasepsi salah satunya adalah tumbuhan beluntas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian stigmasterol daun beluntas berbagai dosis terhadap konsentrasi dan motilitas spermatozoa. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang selama 45 hari. Jenis penelitian ini adalah *true experiment* dengan rancangan percobaan RAL, terdiri dari empat kelompok dan enam kali ulangan. Dosis masing masing perlakuan adalah P1 (0,25mg/gbb), P2 (0,5mg/gbb), P3 (0,75mg/gbb) dan kontrol (air). Hasil penelitian menunjukkan pemberian stigmasterol seluruh dosis memberikan pengaruh yang signifikan terhadap konsentrasi dan motilitas spermatozoa ( $P < 0,05$ ). Konsentrasi spermatozoa P1 ( $11,83 \pm 1,835$ ), P2 ( $8,17 \pm 1,472$ ), P3 ( $6,33 \pm 1,033$ ), kontrol ( $21,83 \pm 3,312$ ). Motilitas spermatozoa P1 ( $32,23 \pm 25,406$ ), P2 ( $19,85 \pm 7,173$ ), P3 ( $17,16 \pm 2,801$ ), kontrol ( $975,23 \pm 14,417$ ). Stigmasterol daun beluntas memiliki potensi sebagai antifertilitas alami pada pria.

**Kata Kunci:** Konsentrasi Spermatozoa, Motilitas, *Pluchea indica*, Stigmasterol Beluntas.

**ABSTRACT:** Low public participation in contraception is one of the factors contributing high population density in Indonesia. Indonesia is known as a paradise for medicinal plants, there are many herbs that have the potential to be developed as contraceptives, one of which is the beluntas plant. This study aims to determine the effect of administering various doses of beluntas leaf stigmasterol on the concentration and motility of spermatozoa. The research was conducted at the Biomedical Laboratory, Muhammadiyah University of Malang, Campus 2 for 45 days. This type of research uses true experimental research with a RAL experimental design, consisting of four treatments and six replications. The doses for each treatment are P1 (0.25mg/gbb), P2 (0.5mg/gbb), P3 (0.75mg/gbb) and control (water). The results showed that administering the entire dose of stigmasterol had a significant effect on the concentration and motility of spermatozoa ( $P < 0.05$ ). Spermatozoa concentration P1 ( $11.83 \pm 1.835$ ), P2 ( $8.17 \pm 1.472$ ), P3 ( $6.33 \pm 1.033$ ), control ( $21.83 \pm 3.312$ ). Spermatozoa motility P1 ( $32.23 \pm 25.406$ ), P2 ( $19.85 \pm 7.173$ ), P3 ( $17.16 \pm 2.801$ ), control ( $975.23 \pm 14.417$ ). Stigmasterol from beluntas leaves has potential as a natural antifertility agent in men.

**Keywords:** Spermatozoa Concentration, Motility, *Pluchea indica*, Beluntas Stigmasterol.

**How to Cite:** Fatah, M. A., Susetyarini, E., Waluyo, L., & Nurrohman, E. (2024). Studi In-Vivo Antifertilitas Stigmasterol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.): Pengamatan Konsentrasi dan Motilitas Spermatozoa. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 1397-1409. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.11295>



## PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk di Indonesia cukup tinggi hingga menempatkan Indonesia pada posisi nomor empat setelah Amerika Serikat, India dan Cina sebagai negara dengan populasi tertinggi di dunia (Achmad, 2023; Belanita, 2023). Angka kepadatan penduduk di Indonesia pada pertengahan tahun periode 2021 – 2023 mengalami peningkatan secara signifikan dengan rata-rata kenaikan 2,83 juta jiwa setiap tahunnya (BPS, 2023). Pemerintah sudah berupaya dengan meratakan persebaran penduduk melalui transmigrasi (Watik *et al.*, 2022), menerapkan program kampung KB dan program Bangga Kencana (BKKBN, 2022), serta penggunaan alat kontrasepsi baik yang bersifat sementara maupun permanen (Afifah, 2021).

Pria dan wanita memegang andil yang sama dalam keberhasilan program keluarga berencana sehingga keduanya sepenuhnya bertanggung jawab. Penelitian menunjukkan partisipasi penggunaan kontrasepsi pada pria masih sangat rendah berada di bawah angka 5% (Utami, 2018). Partisipasi pria dalam penggunaan kontrasepsi untuk penggunaan kondom hanya 1,24% dan MOP 0,5% (Kementerian Kesehatan, 2018). Beberapa alasan yang menyebabkan rendahnya partisipasi pria antara lain kurangnya pengetahuan, timbulnya rasa tidak nyaman, stigma KB yang dibenturkan dengan kondisi ekonomi, sosial, budaya bahkan agama, serta metode kontrasepsi pada pria yang terbatas (Megasari & Sartika, 2016). Upaya pencarian metode kontrasepsi yang dapat diterima dan memenuhi persyaratan merupakan kiat untuk meningkatkan partisipasi program KB terutama bagi pria (Ignaciuk, 2022; Juwita *et al.*, 2023). Dikenal sebagai surganya tumbuhan obat, banyak tumbuhan di Indonesia yang berpotensi sebagai antifertilitas alami, salah satunya beluntas (Jannah & Safnowandi, 2018; Susetyarini *et al.*, 2020).

Daun beluntas (*P. indica*) mengandung senyawa aktif diantaranya tanin, alkaloid, dan flavonoid (Andasari *et al.*, 2021) yang memberikan efek antifertilitas terhadap spermatozoa. Tanin akan menurunkan sel spermatogenik (Susetyarini, *et al.*, 2015), alkaloid menurunkan jumlah dan motilitas spermatozoa (Nita *et al.*, 2019) sedangkan flavonoid bersifat sitotoksik terhadap spermatozoa sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik (Handayani *et al.*, 2018).

Penelitian terdahulu tentang potensi beluntas sebagai antifertilitas sudah banyak dilakukan misalnya penurunan konsentrasi spermatozoa setelah pemberian ekstrak tanin (Susetyarini *et al.*, 2020; Susetyarini & Nurrohman, 2022), menurunnya motilitas spermatozoa (Susetyarini *et al.*, 2019) aktivitas anti spermatogenik daun beluntas (Susetyarini 2015; 2023), dan penurunan sel spermatogenik (Susetyarini, 2015).

Kajian mengenai efek kandungan senyawa stigmasterol beluntas telah diuji melalui metode *insilico*. Menurut Susetyarini *et al.*, (2023) hasil *docking* senyawa stigmasterol daun beluntas mampu menghambat reseptor hormon androgen manusia sehingga mengganggu sintesis hormon reproduksi dan mengakibatkan



infertilitas. Stigmasterol merupakan senyawa yang bersifat antispermatogenik. Zat yang memiliki sifat antispermatogenik berkerja melalui mekanisme penghambatan secara hormonal dan merusakkan pada sel (Setiawan *et al.*, 2021).

Berdasarkan peraturan BPOM no. 18 tahun 2021 untuk membuktikan khasiat, mutu, dan keamanan bahan atau zat yang digunakan untuk tujuan pengobatan harus melalui tahapan uji praklinis. Temuan studi *insilico* potensi antifertilitas stigmasterol daun beluntas belum pernah diuji praklinis maupun klinis untuk mengungkap kebenarannya. Penelitian ini merupakan uji praklinis menggunakan metode *in-vivo* untuk mengetahui pengaruh beberapa dosis stigmasterol daun beluntas terhadap konsentrasi dan motilitas spermatozoa.

## **METODE**

Pendekatan yang digunakan pada penelitian ini adalah pendekatan kuantitatif, selain itu juga dijelaskan tentang jenis penelitian, metode ekstraksi dan isolasi senyawa stigmasterol, teknik sampling pemeliharaan hewan coba, perlakuan hewan coba, pengambilan spermatozoa, pengamatan konsentrasi dan motilitas spermatozoa, dan analisis data, dijelaskan sebagai berikut.

### **Jenis Penelitian**

Jenis penelitian menggunakan penelitian *True eksperiment* dengan rancangan percobaan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Desain yang digunakan “*The post test control group design*” data penelitian diambil pada akhir penelitian melibatkan kelompok subjek yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol. Penelitian ini berlangsung selama 45 hari bertempat di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang. Populasi yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang memiliki berat badan antara 150 – 200 gram dalam keadaan sehat dan aktif. Tikus yang digunakan sebanyak 24 ekor, dibagi menjadi 4 kelompok dengan ulangan sebanyak 6 kali sesuai dengan perlakuan pada tiap kelompoknya. Stigmasterol yang akan diberikan diencerkan menggunakan air sesuai dosis kemudian diberikan melalui sonde oral. Data pengamatan kemudian dianalisis menggunakan *One way annova* dan uji lanjut BNT untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok.

### **Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Stigmasterol**

Simplisia daun beluntas (*P. indica*) berasal dari Laboratorium Herbal Materia Medika Kota Batu. Proses ekstraksi dan isolasi senyawa stigmasterol dilakukan di Laboratorium Mark Herb ITB. Simplisia dihaluskan lalu diekstraksi dengan metode maserasi, selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan hasil berupa ekstrak pekat. Ekstrak dipisahkan dengan metode kromatografi cair, fraksi yang terbentuk dipisahkan dengan kromatografi kolom kemudian dianalisis kromatografi lapis tipis hingga didapatkan isolat murni berwarna kekuningan. Isolat murni direkristalisasi dengan metanol hingga diperoleh stigmasterol berbentuk serbuk kristal (Katja, 2021).

### **Teknik Sampling**

Teknik pengambilan sampel menggunakan teknik random sampling. Penentuan banyaknya sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan



rumus Freederer. Rumus Freederer dalam perhitungan jumlah sampel untuk eksperimen yakni:

$$(n-1) (t-1) > 15$$

**Keterangan:**

t = banyaknya kelompok

n = jumlah ulangan.

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok, maka besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok adalah:

$$(n-1) (t-1) > 15$$

$$(n-1) (4-1) > 15$$

$$(n-1) 3 > 15$$

$$3n-3 > 15$$

$$3n > 18$$

$$n > 6$$

### **Pemeliharaan Hewan Coba**

Penelitian ini telah memperoleh izin etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang dengan nomor E.5.a/255/KEPK-UMM/VIII/2023. Tikus putih (*R. norvegicus*) sebanyak 24 ekor dengan bobot berkisar 150 – 250 mg dalam keadaan sehat dan aktif digunakan sebagai hewan coba. Tikus diadaptasi selama 7 hari di dalam kandang berukuran 45 x 30 x 15 cm, satu kandang ditempati 3 ekor tikus. Pakan yang berikan 10% dari rata-rata berat tubuh (Mutiarahmi *et al.*, 2021) dan minum 240 ml/kandang setiap hari serta penggantian sekam dilakukan setiap 3 hari sekali.

### **Perlakuan Hewan Coba**

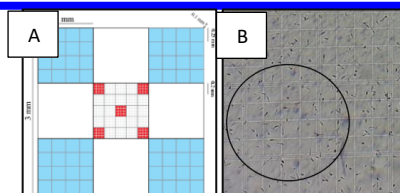
Hewan coba dikelompokkan menjadi empat kelompok, dimana terdapat satu kelompok kontrol (pemberian air) dan tiga kelompok perlakuan mendapat dosis stigmasterol P1 (0,25 mg/gbb), P2 (0,5 mg/gbb), P3 (0,75 mg/gbb). Stigmasterol dilarutkan dalam 1 ml air diberikan melalui sonde oral selama 35 hari. Pada hari ke 36 tikus dibuat tidak sadar menggunakan kloroform untuk dilakukan pembedahan.

### **Pengambilan Spermatozoa**

Pembedahan menggunakan *dissecting kit* untuk mengambil saluran epididimis hingga vas deferens, dipotong lalu ditempatkan pada cawan petri (Elia *et al.*, 2015). Sperma dikeluarkan dari saluran vas deferens untuk kemudian dilarutkan dengan NaCl 0,9% 1 ml hingga homogen (Indriyani *et al.*, 2021).

### **Pengamatan Konsentrasi Spermatozoa**

Spermatozoa yang telah dilarutkan dengan NaCl diambil sebanyak 20 $\mu$ l untuk dilarutkan dengan NaCHO<sub>3</sub> sebanyak 500 $\mu$ l. Setelah homogen stok diambil sebanyak 10 $\mu$ l diletakkan ke dalam kamar hitung *improved Neubauer* kemudian diamati dibawah mikroskop. Spermatozoa dihitung secara diagonal sesuai bidang hitung. Terdapat 25 kotak besar yang didalamnya berisi 16 kotak kecil. Kotak yang dihitung adalah kotak berwarna merah. Spermatozoa dikatakan normal apabila jumlah/ konsentrasinya >15 juta/ml dalam satu kali tampungan (WHO, 2021).



**Gambar 1. (A) Ilustrasi Alat *Improved Neubeur* (Hardian et al., 2020). (B) Perhitungan Jumlah Spermatozoa dalam Satu Bidang Hitung (Susetyarini & Nurrohman, 2022).**

### Pengamatan Motilitas Spermatozoa

Spermatozoa yang telah dilarutkan menggunakan NaCl diambil satu tetes untuk diamati pada mikroskop menggunakan perbesaran 100x. Penilaian motilitas spermatozoa dengan melihat pergerakan spermatozoa dalam satu bidang pandang. Motilitas sperma dianggap normal ketika presentase spermatozoa yang hidup dan bergerak lebih dari 40% (WHO, 2021).

### Analisis Data

Hasil penelitian berupa data konsentrasi dan motilitas spermatozoa akan dianalisis secara statistik dengan bantuan software IBM SPSS Statistics. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dengan  $P < 0,05$  ( $H_0$  ditolak). Uji lanjut BNT untuk melihat perbedaan tiap kelompok dan mengetahui hasil perlakuan terbaik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini merupakan parameter antifertilitas alami stigmasterol daun Beluntas, parameter yang dimaksud meliputi : konsentrasi dan motilitas spermatozoa yang dijelaskan sebagai berikut.

### Konsentrasi Spermatozoa

Hasil pengamatan menunjukkan adanya pengaruh penurunan konsentrasi spermatozoa setelah diberikan stigmasterol beluntas dengan perbedaan yang cukup signifikan. Berdasarkan hasil uji *One-Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi  $0,001 < 0,05$ . Spermatozoa dikatakan normal apabila jumlah/konsentrasinya  $>15$  juta/ml dalam satu kali tumpungan (WHO, 2021) Rerata konsentrasi spermatozoa tikus pada kelas kontrol dalam batas normal dengan angka 21 juta sedangkan rerata hasil konsentrasi spermatozoa tikus pada perlakuan stigmasterol 0,25 0,5 dan 0,75mg/gbb menunjukkan hasil berbeda. Seluruhnya mengalami oligospermia/kondisi dimana jumlah sel sperma yang terkandung terlalu sedikit ( $<15$  juta/ml). Penurunan konsentrasi spermatozoa berhubungan dengan besarnya dosis yang diberikan.

**Tabel 1. Hasil uji BNT konsentrasi spermatozoa setelah pemberian stigmasterol.**

Dosis	Rata-rata (juta) $\pm$ SD
0,75 mg/gbb	6,33 $\pm$ 1,033 <sup>a</sup>
0,5 mg/gbb	8,17 $\pm$ 1,472 <sup>a</sup>
0,25 mg/gbb	11,83 $\pm$ 1,835 <sup>b</sup>
Kontrol	21,83 $\pm$ 3,312 <sup>c</sup>

**Keterangan :** Perbedaan pada huruf menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).





Hasil uji BNT/ LSD menunjukkan seluruh kelompok yang mendapat perlakuan stigmasterol memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol. Dosis 0,75 mengalami penurunan konsentrasi paling besar. Dosis 0,75 tidak berbeda nyata dengan dosis 0,5, namun berbeda sangat nyata dengan dosis 0,25 dan kontrol. Dosis 0,5 berbeda nyata dengan dosis 0,25 dan kontrol. Dosis 0,25 berbeda nyata dengan kontrol. Sedangkan kelompok kontrol berbeda nyata dengan dosis 0,75, 0,5, dan 0,25 (Tabel 1).

Hasil penelitian menunjukkan stigmasterol mampu menurunkan konsentrasi spermatozoa, dimana seluruh kelompok yang mendapat perlakuan stigmasterol berbagai dosis mengalami penurunan konsentrasi spermatozoa dibawah angka normal. Konsentrasi spermatozoa menunjukkan jumlah spermatozoa dalam satu kali tampungan (Tethool & Purwaningsih, 2019). Beberapa faktor seperti kesehatan reproduksi, kematangan seksual, volume ejakulat, dan umur mempengaruhi konsentrasi spermatozoa (Bagaskoro *et al.*, 2022).

Stigmasterol merupakan senyawa dari tanaman yang memiliki efek antifertilitas (Susetyarini *et al.*, 2023). Senyawa ini bersifat sitotoksik dan mengganggu keseimbangan sistem hormonal (Dogan *et al.*, 2017). Stigmasterol berperan dalam penghambatan proses metabolisme hormon androgen dan estrogen dalam proses spermatogenesis (Sriraman *et al.*, 2015). Pemberian stigmasterol dalam tubuh mampu menaikkan jumlah estrogen dalam darah yang berdampak pada penghambatan sintesis *Luteinizing Hormon* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) (Syamsurizal & Muttaqin, 2017). Hormon LH berperan merangsang sel leydig untuk menghasilkan testosteron (Ilahi, 2022), sedangkan hormon FSH memiliki peran yang besar terhadap sel sertoli di testis untuk sintesis protein dan mengikat testosteron (Suryatini & Rai, 2018). Jika muncul gangguan pada sel sertoli akan berdampak pada terganggunya transpor testosteron (Susilo *et al.*, 2018).

Testosteron adalah androgen di testis yang diperlukan untuk memulai dan mempertahankan spermatogenesis, produksi sperma matang sangat bergantung pada kerja androgen di dalam testis (Grande *et al.*, 2022). Oleh karena itu jika tidak ada testosteron atau reseptornya, spermatogonium tidak akan melakukan tahap meiosis (Praningtyas *et al.*, 2022) Pada pria, sel Leydig bertanggung jawab untuk memproduksi testosteron setelah distimulasi oleh hormon luteinizing (LH), hormon glikoprotein yang disekresikan dari kelenjar pituitari sebagai respons terhadap pelepasan hormon pelepas gonadotropin (GnRH) secara pulsatil dari hipotalamus (Smith & Walker, 2015). Kegagalan testis menghasilkan konsentrasi testosteron dan atau jumlah spermatozoa yang normal disebabkan karena kelenjar seks menghasilkan sedikit hormon seksual atau tidak sama sekali (Bhasin *et al.*, 2018). Gangguan fungsi hipofisis atau hipotalamus dapat menyebabkan defisiensi LH dan hormon perangsang FSH, sedangkan LH dan FSH bersama dengan konsentrasi testosteron yang tinggi penting untuk spermatogenesis dan diperlukan untuk produksi sperma yang normal (Oduwole *et al.*, 2021). Munculnya hambatan saat spermatogenesis berdampak pada terganggunya perkembangan sel spermatogonium, sehingga menyebabkan penurunan pembentukan jumlah sel spermatozoa (Nurhadijah *et al.*, 2018). Dengan demikian



terhambatnya sekresi hormon LH dan FSH berpengaruh terhadap proses spermatogenesis (Indriyani *et al.*, 2021).

Menurut penelitian Singh & Gupta (2016) stigmasterol dari tanaman *Barleria* menyebabkan berkurangnya kadar testosteron, FSH dan LH yang berdampak pada menurunnya motilitas dan konsentrasi spermatozoa, sedangkan penelitian mengenai potensi stigmasterol daun beluntas sendiri telah diteliti oleh Susetyarini *et al.*, (2023) secara *insilico* yang menunjukkan stigmasterol daun beluntas mampu merusak kelenjar hipofisis anterior melalui mekanisme biosintesis steroid yang berdampak pada menurunnya sintesis dan sekresi hormon LH dan testosteron. Stigmasterol memiliki struktur yang mirip dengan testosteron yang menyebabkan testosteron tidak dapat berikatan dengan reseptor hormon androgen dan berubah menjadi testosteron bebas. Testosteron bebas kemudian diubah menjadi *dihydrotestosterone* (DHT) dengan bantuan enzim *5 $\alpha$ -reductase*. DHT akan menempel pada sitoplasma sel sertoli melalui reseptor androgen, memasuki inti sel berinteraksi dengan DNA dan menghambat sintesis protein, sedangkan protein yang disintesis oleh sel sertoli digunakan pada saat pembelahan (meiosis) spermatozoa. Kegagalan proses meiosis menyebabkan spermatozoa tidak dapat diproduksi, sehingga dapat disimpulkan semakin sedikit protein yang disintesis oleh sel sertoli maka semakin sedikit juga spermatozoa yang dihasilkan.

### **Motilitas Spermatozoa**

Hasil pengamatan motilitas spermatozoa menunjukkan rerata seluruh kelompok perlakuan mengalami asthenozoospermia atau kondisi dimana presentase motilitas berada di bawah 40%. Penurunan motilitas spermatozoa paling besar pada perlakuan dosis 0,75 dengan presentase sperma motil (17,16%), perlakuan dosis 0,5 (19,85%), dan dosis 0,25 (32,23%), sedangkan pada kelompok kontrol motilitasnya normal dengan persentase sperma hidup 75,23%.

**Tabel 2. Hasil uji BNT motilitas spermatozoa setelah pemberian stigmasterol.**

Dosis	Rata-rata (%) $\pm$ SD
0,75 mg/gbb	17,16 $\pm$ 2,801 <sup>a</sup>
0,5 mg/gbb	19,85 $\pm$ 7,173 <sup>a</sup>
0,25 mg/gbb	32,23 $\pm$ 25,406 <sup>a</sup>
Kontrol	75,23 $\pm$ 14,417 <sup>b</sup>

**Keterangan :** Perbedaan pada huruf menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil uji BNT/ LSD menunjukkan hubungan antar kelompok perlakuan baik dosis 0,75, 0,5 maupun 0,25 tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan nilai yang tidak terlalu signifikan, namun berbeda nyata dengan kelompok kontrol yang signifikan (Tabel 2).

Hasil penelitian menunjukkan stigmasterol mampu menurunkan motilitas spermatozoa, dimana rata rata seluruh kelompok yang mendapat perlakuan stigmasterol berbagai dosis mengalami penurunan angka motil dibawah normal. Motilitas merupakan salah satu indikator dalam penentuan kualitas spermatozoa (Zulyazaini *et al.*, 2016). Motilitas spermatozoa adalah pergerakan progresif spermatozoa yang berperan ketika terjadinya pertemuan antara spermatozoa dengan ovum (Indriyani *et al.*, 2021). Menurut (Singh & Gupta, 2016) stigmasterol mampu



menurunkan produksi dan motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh morfologi dan ketersediaan energi (Prastika *et al.*, 2018).

Spermatozoa membutuhkan energi untuk bergerak, kekurangan energi akan memperlambat pergerakannya (Indriyani *et al.*, 2021). Dibutuhkan suplai energi yang cukup untuk mendukung pergerakan spermatozoa (Rahayu & Ducha, 2022). Spermatozoa membutuhkan *Adenosin triphosphat* (ATP) sebagai sumber energi utama untuk menginduksi denyut flagela (Vijayaraghavan *et al.*, 2017). Spermatozoa mamalia menggunakan ATP untuk mempertahankan lingkungan intraseluler dan untuk proses seluler seperti motilitas, kapasitas, hiperaktivasi, dan reaksi akrosom yang semuanya diperlukan untuk keberhasilan pembuahan (Plessis, 2015).

Spermatozoa membentuk ATP melalui 2 cara yaitu glikolisis dan respirasi mitokondria, namun respirasi mitokondria dianggap sebagai metabolisme yang efisien untuk sintesis ATP dibandingkan glikolisis (Plessis *et al.*, 2015). Respirasi mitokondria untuk pembentukan ATP menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Stigmasterol telah terbukti menyebabkan produksi ROS berlebihan (Goswami *et al.*, 2023). ROS berlebih mampu menyebabkan kerusakan pada biomolekul termasuk protein, lipid dan asam nukleat (Li *et al.*, 2018). Jika ROS berlebih menyerang membran lipid akan menyebabkan stres oksidatif yang berdampak pada kerusakan peroksidatif pada membran plasma spermatozoa dan kerusakan DNA pada genom mitokondria (Baker & Aitken, 2015).

Mitokondria memegang peran penting dalam fungsi fisiologis reproduksi (Durairajanayagam *et al.*, 2021). Kecacatan fungsi mitokondria spermatozoa mengganggu produksi energi sehingga menyebabkan menurunnya motilitas (Cassina *et al.*, 2015). Kerusakan peroksidatif mitokondria akibat ROS berdampak pada terganggunya produksi energi untuk pergerakan spermatozoa, semakin sedikit energi yang diproduksi maka semakin rendah motilitas spermatozoa.

Membran spermatozoa memiliki komponen biokimia yang mendukung proses metabolisme sperma termasuk lipid dan asam organik yang memerankan peran dalam pengaturan metabolisme dan motilitas spermatozoa (Yamanaka *et al.*, 2024). Meningkatnya lipid peroksida menurunkan integritas membran (Zakiyah *et al.*, 2022) hingga menurunkan motilitas dan membunuh spermatozoa (Pramudita *et al.*, 2020). Hal ini sesuai penelitian yang dilakukan Rokana *et al.*, (2022) yang menjelaskan kerusakan membran spermatozoa menyebabkan melemahnya pergerakan hingga kematian pada spermatozoa.

## SIMPULAN

Pemberian stigmasterol daun beluntas berbagai dosis mampu menurunkan konsentrasi dan motilitas spermatozoa, semakin tinggi dosis stigmasterol memberikan efek penurunan yang lebih besar. Stigmasterol daun beluntas memiliki potensi sebagai antifertilitas alami pada pria dengan dosis optimum 0,75 mg/gbb.

## SARAN

Saran dari penelitian ini perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut mengenai potensi antifertilitas stigmasterol daun beluntas dengan parameter yang lain,





misalnya pengamatan morfologi, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa untuk melengkapi data yang sudah ada dan mengetahui serta memvalidasi potensi efek antifertilitas stigmasterol daun beluntas berdasarkan parameter lain.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Kementerian Pendidikan Kebudayaan Riset dan Teknologi (KEMENDIKBUDRISTEK) yang sudah mendukung kegiatan penelitian melalui pendanaan program penelitian fundamental BIMA 2023 serta seluruh pihak yang terlibat dan mendukung terselenggaranya penelitian ini.

### DAFTAR RUJUKAN

- Achmad, N. F. (2023). Pemanfaatan Tanaman Obat Tradisional sebagai Kontrasepsi Pria. *Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, 14(3), 504–509. <http://dx.doi.org/10.33846/sf14301>
- Afifah Nurullah, F. (2021). Perkembangan Metode Kontrasepsi di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran*, 48(3), 166. <https://doi.org/10.55175/cdk.v48i3.1335>
- Andasari, S. D., Mustofa, C. H., & Arabela1, E. O. (2021). Standarisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 47–53. <http://dx.doi.org/10.33846/sf14301>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2021. Peraturan No. 18 tentang Pedoman Uji Farmakodinamik Praklinik Obat Tradisional. Jakarta.
- Bagaskoro, D. S., Alamsyah, F. A., & Ramadhan, S. (2022). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Demografi : Fertilitas , Mortalitas dan Migrasi ( Literature Review Perilaku Konsumen ). *Jurnal Ilmu Hukum Humaniora Dan Politik*, 2(3), 294–303. <https://doi.org/10.38035/jihhp.v2i3>
- Baker, M. A., & Aitken, R. J. (2015). Reactive Oxygen Species in Spermatozoa : Methods for Monitoring and Significance for the Origins of Genetic Disease and Infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-67>
- Belanita, P. M. (2023). Pemberian Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Menurunkan Kualitas Spermatozoa pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Keperawatan Suaka Insan (Jksi)*, 8(2), 98–105. <https://doi.org/10.51143/jksi.v8i2.460>
- Bhasin, S., Brito, J. P., Cunningham, G. R., Hayes, F. J., Hodis, H. N., Matsumoto, A. M., Snyder, P. J., Swerdloff, R. S., Wu, F. C., & Yialamas, M. A. (2018). *Clinical Testosterone Therapy in Men With Hypogonadism : An Endocrine Society \* Clinical Practice Guideline*. 103(May), 1715–1744. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-00229>
- BKKBN. (2022). *Modul 4 Program Keluarga Berencana dan Kesehatan Reproduksi Revisi 2022*. 39–40.
- BPS. (2023). Jumlah penduduk pertengahan tahun. In *Badan Pusat Statistik* (p. 1). <https://www.bps.go.id/indicator/12/1975/1/jumlah-penduduk-pertengahan->



[tahun.html](#)

- Cassina, A., Silveira, P., Cantu, L., Montes, J. M., Radi, R., & Sapiro, R. (2015). Defective Human Sperm Cells Are Associated with Mitochondrial Dysfunction and Oxidant Production1. *Biology of Reproduction*, 93(5), 1-10,119. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130989>
- Dogan, A., Otlu, S., Celebi, O., Kilicle, P. A., Saglam, A. G., Dogan, A. N. C., & Neslihan, M. (2017). An Investigation of Antibacterial Effects of Steroids. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 41. <https://doi.org/10.3906/vet-1510-24>
- Durairajanayagam, D., Singh, D., Agarwal, A., & Henkel, R. (2021). Causes and Consequences of Sperm Mitochondrial Dysfunction. *Andrologia*, 53(1). <https://doi.org/10.1111/and.13666>
- Elia, E., Satiawati, L., & Rumbajan, J. M. (2015). Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) setelah Pemaparan Obat Nyamuk Elektrik Berbahan Aktif Transflutrin. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.3.1.2015.6845>
- Goswami, M., Priya, Jaswal, S., Gupta, G. Das, & Verma, S. K. (2023). A Comprehensive Update on Phytochemistry, Analytical Aspects, Medicinal Attributes, Specifications and Stability of Stigmasterol. *Steroids*, 196, 109244. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109244>
- Grande, G., Barrachina, F., Soler-ventura, A., Jodar, M., Mancini, F., Marana, R., Chiloiro, S., Pontecorvi, A., Oliva, R., & Milardi, D. (2022). The Role of Testosterone in Spermatogenesis: Lessons From Proteome Profiling of Human Spermatozoa in Testosterone Deficiency. *13*(May), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.852661>
- Handayani, N., Gofur, A., & Maslikah, S. I. (2018). Potensi Daun Pulutan sebagai Bahan Antifertilitas Manusia. *Unpublish*, 5, 173–182.
- Hardian, A. B., Nugrahani, W. P., & Rahmawati, I. P. (2020). The Method of Total Erythrocyte and Leukocyte Counting in Raptors at Wildlife Rescue Centre ( WRC ) Jogja Metode Penghitungan Eritrosit dan Leukosit Total pada Raptor di Wildlife Rescue Centre ( WRC ) Jogja The Method of Total Erythrocyte and Leukocyte Co. *Veterinary Biomedical and Clinical Journal*, 2(2), 10–20. <https://doi.org/10.21776/ub.VetBioClinJ.2020.002.02.2>
- Ignaciuk, A. (2022). Innovation and Maladjustment: Contraceptive Technologies in State-Socialist Poland, 1950s-1970s. *Technology and Culture*, 63(1), 182–208. <https://doi.org/10.1353/tech.2022.0006>
- Ilahi, S. 2023. Anatomy, Adenohypophysis (Pars Anterior, Anterior Pituitary). 2022 Oct 3. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 30085581.
- Indriyani, I., Busman, H., & Sutyarso, S. (2021). Penurunan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1), 75–85. <https://doi.org/10.21580/ah.v4i1.6455>
- Jannah, H., & Safnowandi, S. (2018). Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat Tradisional di Kawasan Hutan Olat Cabe Desa Batu Bangka Kecamatan Moyo Hilir



- Kabupaten Sumbawa Besar. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 6(2), 145-172. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v6i2.2457>
- Juwita, S., Argaheni, N. B., Marni, A. S., & Hutajulu, M. (2023). Role of Women in Improving Family Welfare through Family Planning Safari Program. *Community Development Journal*, 7(2), 113–119. <https://doi.org/10.33086/cdj.v7i2.4165>
- Katja, D. G. (2021). Senyawa Stigmasterol (Steroid) Dari Kulit Batang *Chisocheton celebicus koord* (Meliaceae). *Chem Prog*, 14(1), 56–61. DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.14.1.2021.34154>
- Kementrian Kesehatan, R. (2018). *Profil Kesehatan Indonesia 2018*.
- Komite Etik Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, 2023. Standarisasi Mutu dan Keamanan Stigmasterol Daun Beluntas untuk Antrifertilitas Pria (Kajian Pre-Klinis). Ethical Aproval No. E. 5.a/255/KEPKUMM/VIII/2023. Agustus 2023.
- Li, R., Jia, Z., Trush, M. A., Creek, B., & Tech, V. (2018). Defining ROS in Biology and Medicine. *React Oxyg Species (Apex)*, 1(1), 9–21. <https://doi.org/10.20455/ros.2016.803>
- Megasari, K., & Sartika, D. M. B. D. (2016). Faktor-Faktor Penyebab Rendahnya Peran Serta Pria dalam Ber-Kb di Wilayah Kerja Puskesmas Sidomulyo Pekanbaru Tahun 2015. *Al-Insyirah Midwifery*, 5(1), 66–73.
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Penggunaan Mencit sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.10.1.134>
- Nurhadijah, L., Perdana, A. A., Setiyoko, F. A., Isyani, T., Dewi, T., & Suparto, I. H. (2018). Aktivitas Formulasi Biji Jarak Pagar dan Pare terhadap Spermatogenesis pada Tikus Wistar. *Jurnal Jamu Indonesia*, 3(1), 26–31. <https://doi.org/10.35799/cp.14.1.2021.34154>
- Oduwole, O.O., Huhtaeniemi, I.T., Misrahi, M. 2021. The Roles of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone, and Testosterone in Spermatogenesis and Folliculogenesis Revisited. *Int J Mol Sci*. PMID: 34884539. <https://doi.org/10.3390/ijms222312735>
- Plessis, S. S., Agarwal, A., Mohanty, G., & Linde, M. Van Der. (2015). Oxidative Phosphorylation Versus Glycolysis : What Fuel Do Spermatozoa Use ? 230–235. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.135123>
- Pramaningtyas, M. D., Islamiana, D., Adnan, M. L., 2022. Apoptosis pada Spermatogenesis. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. Vol. 22. No. 3 : 147 - 157. <https://doi.org/10.24815/jks.v22i3.21375>
- Pramudita, K. P., Lokapirnasari, W. P., & Susilowati, S. (2020). Effect of Nicotine Injection on Motility , Viability , and Membrane Integrity of Mice (*Mus musculus*) spermatozoa. *Ovozoa*, 9(3), 77–81. <https://doi.org/10.20473/ovz.v9i3.2020.77-81>
- Prastika, Z., Susilowati, S., Agustono, B., Safitri, E., Fikri, F., Prastiya, R. A., 2018. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Rambon di Desa Kemiran Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*. Vol. 1 No. 2 : 38-42.



---

<https://doi.org/10.20473/jmv.vol1.iss2.2018.38-42>

- Rahayu, J. D., & Ducha, N. (2022). Pengaruh Air Tebu sebagai Kandidat Pengganti Fruktosa dalam Pengencer CEP terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Friesian Holstein selama Penyimpanan Beku. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 10(July), 209–231. <https://dx.doi.org/10.23960/jipt.v10i2.p209-231>
- Rokana, E., Srigati, E. F., Lisnanti, & Samudi. (2022). Pengaruh Pemberian Tepung Daun Kelor ( *Moringa oleifera* Lamm ) dan Lama Penyimpanan pada Suhu Dingin 4-5 ° C terhadap Kualitas Semen Cair ( Liquid Semen ) Kambing. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 24(1), 43–54. <https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.43-54.2022>
- Setiawan, H., Wulandari, S. W., & Maisa Nailufa Fachmi. (2021). Antispermatogenic Effect of Calina Papaya Ethanolic Leaf Extract on Sperm Quality and Morphology of Epididymis in Wistar Rats. *Berita Biologi :Jurnal Ilmu Ilmu Hayati*, 20(3), 19–27. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v21i1.4175>
- Singh, K., & Gupta, R. S. (2016). Antifertility Activity of  $\beta$ -sitosterol Isolated from *Barleria prionitis* (L.) Roots in Male Albino Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(5), 88–96.
- Smith, L. B., & Walker, W. H. (2015). The Regulation of Spermatogenesis by Androgens. *Semin Cell Dev Biol*, 30(1), 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2014.02.012>
- Sriraman, S., Ramanujam, G. M., Ramasamy, M., & Dubey, G. P. (2015). Identification of Beta-Sitosterol and Stigmasterol in Bambusa bambos (L.) Voss leaf extract using HPLC and its estrogenic effect in vitro. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.06.024>
- Suryatini, K. Y., & Rai, I. G. A. (2018). Logam Berat Timbal ( Pb ) dan Efeknya pada Sistem Reproduksi. *Emasains*, VII(1), 1–6. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.1403892>
- Susetyarini, E. (2015). The Correlation Between Testosterone and Spermatogenic Cell on Male Wistar Rats (*Ratus norvegicus*) After The Treatment of Active Compunds of *Pluchea Indica*. *AENSI Journal*, 9(23), 261–266.
- Susetyarini, E., Corebima, A. D., Amin, M., & Susilawati, T. (2019). Hubungan Testosteron dengan Motilitas Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Ratus Norvegicus* ) setelah Diberi Senyawa Aktif Daun Beluntas untuk Penyusun Buku Antifertilitas. *Belantika Pendidikan*, 2(2), 52–57. <https://doi.org/10.47213/bp.v2i2.31>
- Susetyarini, E., Wahyono, P., Latifa, R., & Nurrohman, E. (2020). New Zealand Rabbit's Spermatozoa after the Treatment of Tannin Extraction of *Pluchea indica*. *Bioedukasi : Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, 18(2), 59–68. <https://doi.org/10.19184/bioedu.v18i2.19882>
- Susetyarini, E., & Nurrohman, E. (2022). New zealand Rabbit Spermatozoa Concentration after Giving of Beluntas Leaf Tannin Extract ( *Pluchea indica* ). *Jurnal Nukleus*, 8(1), 41–52.



<https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i1.2473>

- Susetyarini, E., Nurrohman, E., Nuryady, M. M., Fatmawati, D., & Zainul, R. (2023). Insilico Study of Stigmasterol Extracted from *Pluchea indica* as Antiferility in Men. *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry Research*, 5, 1034–1046.
- Susilo, S., Akbar, B., & Pratinaningsih, I. (2018). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto terhadap Jumlah dan Motilitas Spermatozoa Mencit Jantan. *Jurnal Biodjati*, 3(2). <https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i2.3505>
- Syamsurizal, S., & Muttaqin, A. (2017). The Extract of *Tristania sumatrana* Miq. to Lower Primary, Secondary and Tertiary Follicles in Swiss Webster Mice. *BioScience*, 1(2), 43. <https://doi.org/10.24036/02017128063-0-00>
- Tethool, A. N., & Purwaningsih, P. (2019). Efek Pemberian Ekstrak Kayu Akway (*Drymis Sp*) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L). *Jurnal Ilmu Peternakan Dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*, 9(1). <https://doi.org/10.30862/jipvet.v9i1.8>
- Utami, T. (2018). Pengalaman Menggunakan Alat Kontrasepsi Mantap (Vasektomi) di Kecamatan Wanasaba Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Husada: Health Sciences Journal*, 9(2), 55–65. <https://doi.org/10.34305/jikbh.v9i2.69>
- Vijayaraghavan, S., Jo, M., & Fardilha, M. (2017). Signaling Mechanisms in Mammalian Sperm Motility †. *Biology of Reproduction*, 96(1), 2–12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.144337>
- Watik, D., Trisiana, A., & Novitasari, F. (2022). Analisis Peran Pemerintahan dalam Pengendalian Pertumbuhan Penduduk. *Research Fair Unisri*, 6(1), 45–56. <https://doi.org/10.33061/rsfu.v6i1.6853>
- WHO (2021). *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen* (Sixth Edition).
- Yamanaka, T., Xiao, Z., Tsujita, N., Awad, M., & Umehara, T. (2024). *Testosterone-Induced Metabolic Changes in Seminal Vesicle Epithelial cells Alter Plasma Components to Enhance Sperm Fertility*. eLife. <https://doi.org/10.7554/eLife.95541.1>
- Zakiyah, A., Sukarjati, & Andriani, V. (2022). Sari Buah Stroberi (*Fragaria vesca* L.), Sari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*), dan Kombinasi antara Kedua Sari Buah Untuk Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Mencit yang Terpapar Asap Rokok Elektrik. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1), 141–155. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i1.4803>
- Zulyazaini, Z., Dasrul, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & Abdullah, M. A. N. (2016). Karakteristik Semen dan Komposisi Kimia Plasma Seminalis. *Agripet*, 16(2), 121–130. <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.5803>