

Pengaruh Daun Kelor untuk Pencegahan Infertilitas Akibat Trauma Fisik Testis

Effect of Moringa Oleifera L Leaf Extract to Prevent Infertility Due to Testicular Physical Trauma

Dahril^{1*}, Jufriady Ismi², Ahmad Afandi³

¹Kepala Bagian KSM Bedah RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh-FK Universitas Syiah Kuala

²Divisi Urologi, KSM Bedah RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh-FK Universitas Syiah Kuala

³Residen Ilmu Bedah, FK Universitas Syiah Kuala

*Email: dahril.ril@gmail.com

Abstrak

Trauma testis menjadi penyebab tersering ketiga dari nyeri skrotum akut yang dapat mengakibatkan berbagai tingkat kerusakan testis, sehingga dapat menyebabkan infertilitas. Trauma testis merupakan faktor risiko infertilitas terkait dengan adanya peningkatan radikal bebas, inflamasi yang berdampak pada penurunan kualitas sperma, dan kerusakan *Blood Testis Barrier* (BTB). Lima dari 9 testis yang mengalami trauma menjadi atrofi. Salah satu tatalaksana yang dapat dilakukan untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan pemberian antioksidan. Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) mengandung beberapa senyawa antioksidan seperti senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, vitamin C, vitamin E, dan steroid. Diharapkan daun kelor juga dapat melindungi sel sperma dari oksidan bebas akibat trauma testis dan secara tidak langsung menjadi salah satu pilihan terapi infertilitas. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan *the post-test only control group design*. Setelah dilakukan adaptasi selama 2 minggu, dibuat perlakuan torsio testis pada 30 ekor tikus *rattus novergicus* yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, kemudian dilakukan analisis sperma. Analisis data perbedaan antar kelompok menggunakan uji *analysis of variance* (ANNOVA) satu arah. Hasil penelitian menemukan konsentrasi spermatozoa ($39.80 \pm 17.88 \times 10^6$ spermatozoa/ml) pada kelompok dosis 800 mg lebih tinggi dibandingkan kelompok dosis 400 mg ($27.94 \pm 14.76 \times 10^6$ spermatozoa/ml), dan kelompok dosis 200 mg ($25.32 \pm 19.33 \times 10^6$ spermatozoa/mL). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman kelor dosis 800 mg lebih berpengaruh atau mampu mempertahankan konsentrasi spermatozoa tikus wistar pada torsio testis dibanding dosis 400 mg dan 200 mg. Penelitian ini menyimpulkan daun kelor memiliki potensi dalam tatalaksana infertilitas terkait trauma testis.

Kata Kunci: antioksidan, daun kelor, infertilitas, kuantitas sperma, trauma testis

Abstract

*Testicular trauma is the third most common cause of acute scrotal pain and can cause varying degrees of damage to the testicles, which can lead to infertility. Testicular trauma is a risk factor for infertility associated with an increase in free radicals, inflammation which has an impact on decreasing sperm quality and damage to the Blood Testicular Barrier (BTB). Five out of 9 traumatized testicles became atrophy. One of the treatments that can be done to overcome this is using of antioxidants. Moringa (*Moringa oleifera*) contains several antioxidant compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins, vitamin C, vitamin E, and steroids. We hoped that Moringa leaves can also protect sperm cells from free oxidants due to testicular trauma and indirectly become an option for infertility therapy. This research is an experimental study using the post-test only control group design. After adaptation for 2 weeks, 30 *rattus novergicus* rats were treated with testicular torsion which*

were divided into 5 treatment groups and sperm analysis was carried out. Data analysis of differences between groups was carried out with a one-way analysis of variance (ANNOVA) test. This study found out that concentration of spermatozoa in the 800 mg dose group ($39.80 \pm 17.88 \times 10^6$ spermatozoa/ml) was higher than 400 mg dose group ($27.94 \pm 14.76 \times 10^6$ spermatozoa/ml), and 200 mg dose group ($25.32 \pm 19.33 \times 10^6$ spermatozoa/mL). This shows that giving the extract at dose of 800 mg is more influential or able to maintain concentration of spermatozoa of Wistar rats in testicular torsion compared to doses of 400 mg and 200 mg. The conclusion is that Moringa leaves have potential in the management of infertility related to testicular trauma.

Keywords: antioxidants, moringa leaves, infertility, sperm quantity, testicular trauma

1. Pendahuluan

Menurut data Riskesdas 2018, 31,8% masyarakat Indonesia menggunakan obat tradisional. Masyarakat Aceh yang masih menggunakan tanaman obat keluarga (TOGA) mencapai 15,9% dan 36,3%, salah satu tanaman tersebut adalah daun kelor (*Moringa Oleifera L*) dimana hampir semua bagian dari kelor dapat dimanfaatkan (Riskesdas, 2018). Trauma testis menjadi penyebab tersering ketiga dari nyeri skrotum akut dan dapat menyebabkan berbagai tingkat kerusakan pada testis, dengan komplikasi berupa disfungsi ereksi hingga infertilitas. Penyebab trauma genitalia sering oleh karena kecelakaan lalu lintas yang sebagian besar mengenai skrotum (30 kasus). Pengobatan berupa tindakan pembedahan ataupun konservatif (Zango dkk, 2015).

Grigorian dkk. menemukan sekitar 8.030 pasien (0,23%) di Amerika mengalami cedera skrotum/testis pada tahun 2007–2015, dengan 44,6% mengalami trauma tumpul, dan 50,5% kasus penetrasi. Insiden penyerangan dengan senjata api adalah yang paling umum terjadi (75,8%) dengan usia rata-rata 31 tahun. Sebagian besar mengalami trauma skrotum atau testis yang terisolasi (74,5%), 48,3% memerlukan operasi skrotum atau testis, dan 37,3% perbaikan laserasi (Grigorian, 2018).

Efek jangka panjang trauma testis pada fungsi reproduksi tidak diketahui namun atrofi testis menjadi faktor infertilitas pria. Dalam situasi klinis yang jarang terjadi, cedera dapat menyebabkan kerusakan permanen pada semua jaringan testis. Kukadia dkk. melaporkan bukti obyektif subfertilitas pada pasien trauma testis, 5 dari 9 testis yang mengalami trauma menjadi atrofi. Selain itu juga ditemukan bentuk sperma abnormal dan testis atrofi setelah trauma testis (Ward, 2010). Salah satu tatalaksana untuk mengatasi hal tersebut adalah pemberian antioksidan (Ergun dkk., 2007; Morgan dkk., 2015).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) mengandung beberapa senyawa antioksidan seperti senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, vitamin C, vitamin E, dan steroid (Gopalakrishnan dkk., 2016). Daun kelor terbukti dapat melindungi sel sperma dari efek destruktif akibat paparan suhu tinggi, trauma, paparan siklofosfamid, dan lain-lain.

Vergara-Jimenez (2017) melaporkan ekstrak daun kelor kaya akan senyawa antioksidan dan polifenol. Sejumlah senyawa ini dapat bersifat anti-inflamasi, anti-kanker, anti-proliferatif, apoptosis, dan antimikroba. Sifat menangkal radikal bebas dari spesies oksigen reaktif (ROS) yang termasuk dalam golongan radikal bebas merupakan oksidator yang sangat reaktif yang dapat mempengaruhi konsentrasi, motilitas, dan viabilitas hidup sperma. Produksi ROS di berbagai

jaringan seperti testis adalah kejadian umum; namun peningkatan abnormal dalam sintesisnya dapat merangsang kerusakan DNA dan oksidasi banyak sel Vergara-Jimenez, 2017). Alahmar (2019) melaporkan bahwa membran plasma sperma mengandung asam lemak tak jenuh tingkat tinggi yang bertanggung jawab atas kerusakan peroksidatif. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan struktur matriks lipid pada membran spermatozoa, dan dapat dikaitkan dengan gangguan motilitas (Alahmar, 2019).

Studi pada tikus menunjukkan sifat antioksidan ekstrak daun kelor secara signifikan meningkatkan jumlah sperma dalam kasus testis yang tidak turun. Laporan penelitian sebelumnya memperlihatkan manfaat daun kelor dalam pengobatan disfungsi seksual, memperpanjang aktivitas seksual, dan meningkatkan jumlah sperma. Rumah Sakit Umum dr. Zainoel Abidin Banda Aceh telah lama menjadi pusat rujukan di Provinsi Aceh. Hingga saat ini belum terdapat data lengkap terkait angka infertilitas. Peneliti melakukan penelitian ini dengan maksud menjadikan daun kelor sebagai pilihan obat herbal/fitofarmaka pada tatalaksana infertilitas, sekaligus mengurangi resiko infertilitas akibat trauma testis, sehingga daun kelor dapat dimanfaatkan dalam pelayanan kesehatan tradisional terintegrasi di RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh.

2. Metodologi

2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *the post-test only control group design* secara laboratorium eksperimental.

2.2. Sampel Penelitian

Subjek penelitian berupa tikus *rattus novergicus* strain *wistar*, jantan, dewasa, berusia 3-4 bulan, dengan berat 200–220 gram, yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala. Sampel penelitian berjumlah 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan 6 ekor tikus pada masing-masing yang dipilih secara acak, yaitu :

1. Kc= kelompok placebo, tikus tanpa perlakuan trauma testis dan ekstrak daun kelor
2. KN=kelompok kontrol negatif, tikus dengan trauma testis tanpa pemberian ekstrak daun kelor
3. F1= kelompok perlakuan tikus dengan trauma testis dan pemberian daun kelor 200 mg/kgBB/hari
4. F2= kelompok perlakuan tikus dengan trauma testis dan pemberian daun kelor 400 mg/kgBB/hari
5. F3= kelompok perlakuan tikus dengan trauma testis dan pemberian daun kelor 800 mg/kgBB/hari

2.3. Prosedur Trauma Testis pada Tikus Hewan Coba

Tikus di anastesi subkutan dengan *ketamine* 75 mg/kgBB dan *xylazine* 5 mg/kgBB yang dikonversikan menjadi 5 mg *ketamine* dan *xylazine* 1 mg sesuai berat badan tikus. Kemudian dilakukan pembersihan area bedah dengan *povidone iodine*, dilakukan insisi transversal 1 cm di bawah skrotum, lapisan dipisah perlahan tanpa mencederai testis. Pada kelompok kontrol positif dengan perlakuan trauma testis, maka testis dikeluarkan dari skrotum kemudian testis diletakkan

pada permukaan rata yang steril dan diberi perlakuan berupa torsio 360° ke arah medial pada unilateral testis. Kemudian luka insisi dijahit dan torsio dibiarkan selama 4 jam. Setelah 4 jam, skrotum diinsisi kembali kemudian dilakukan reposisi 360° ke arah lateral.

Pada 5 ekor tikus dari keempat kelompok perlakuan dilakukan pengangkatan dan pembuatan preparat histologi sebelum diamati di bawah mikroskop (efek cepat). Kemudian kelima ekor tikus tadi pada tiap kelompok perlakuan dilakukan fiksasi dengan benang *absorbable*, lalu luka insisi ditutup dan dibiarkan selama 30 hari. Setelah 30 hari, dilakukan kembali insisi skrotal kemudian testis tersebut diangkat, dilakukan pembuatan preparat, kemudian diamati di bawah mikroskop (efek lambat).

2.4. Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Pemberian pada Tikus Hewan Coba

Dilakukan pencucian daun kelor yang telah dipisahkan dari tangkai, kemudian ditiriskan untuk menghilangkan air pada proses pencucian. Setelah itu *diblanching* pada suhu 70°C selama 5 menit dan daun dikeringkan dengan dehidrator pada suhu 60°C. Setelah proses pengeringan selesai, dilakukan penggilingan atau pengecilan ukuran daun kelor kering. Kemudian tepung daun kelor diayak agar diperoleh tepung yang lebih halus dan diekstrak dengan solusi 50% *hydro-ethanol* menggunakan teknik maserasi selama 72 jam.

Pada hewan coba dilakukan pemberian ekstrak etanol daun kelor dengan dosis 200mg/kgbb, 400mg/kgbb, dan 800mg/kgbb. Ekstrak etanol daun kelor yang dicampur dengan pakan pelet tikus diberikan 2 kali setiap harinya sebanyak 1 dosis selama 30 hari, mulai hari kedelapan paska trauma. Penetapan dosis tersebut berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, di mana dosis 200 mg, 400 mg, dan 800 mg memberikan dampak pada kuantitas sperma terhadap dislipidemia (Dahril dkk, 2021).

2.5. Prosedur Pembuatan Preparat Semen

Kelompok tikus diterminasi dengan inhalasi kloroform konsentrasi 10%, kemudian dilakukan insisi pada skrotum. Selanjutnya semen dikumpulkan dari bekas insisi dengan cara menjepit bagian ujung *epididymis* dan ditekan searah. Semen diletakkan pada cawan petri dan disiapkan untuk pemeriksaan kualitas sperma.

2.6 Pemeriksaan Kuantitas Sperma

Kuantitas spermatozoa ditentukan dengan melakukan pengisapan semen sampai skala 0,5 dan ditambahkan larutan NaCl 0,9% sampai tanda 101. Campuran dihomogenkan selama 3 menit. Larutan semen diteteskan pada sisi papan hitung Neubauer dan diamati di bawah mikroskop. Perhitungan spermatozoa dilakukan pada lima kotak besar dengan perbesaran 400x. Kuantitas sperma dihitung dengan menggunakan rumus $N = Y \times 5 \times 10^6$ di mana N adalah kuantitas sperma, dan Y adalah jumlah sperma dalam 5 kotak.

2.7. Pengolahan data

Data profil spermatozoa dilakukan uji normalitas menggunakan uji ShapiroWilk, jika data berdistribusi normal maka dilakukan uji beda analisis varian (ANOVA). Uji korelasi dilakukan untuk menilai hubungan terhadap nilai kuantitas sperma. Hasil signifikan jika $p < 0,05$.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kuantitas Sperma Subjek Penelitian

Penelitian ini mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol daun kelor terhadap profil spermatozoa meliputi konsentrasi spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi spermatozoa pada kelompok dosis 800 lebih tinggi dibanding kelompok dosis 200 mg dan 400 mg seperti yang disajikan Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Rata-Rata Parameter Kuantitas Spermatozoa Tikus Setelah Diberikan Trauma Testis dengan Pemberian Ekstrak Daun Kelor

Hasil Pemeriksaan (Rerata \pm SE)	Parameter Kuantitas Spermatozoa	
	Konsentrasi ($\times 10^6$ sel sperma/ml)	p-value
Kc	40,0 \pm 12,00 ^a	<0.05
Kn	4.56 \pm 2.77	<0.05
F1	25.32 \pm 19.33	<0.05
F2	27.94 \pm 14.76	<0.05
F3	38.87 \pm 17.98	<0.05

Konsentrasi spermatozoa pada kelompok dosis 800 mg (38.87 \pm 17.98 $\times 10^6$ spermatozoa/ml) lebih tinggi dibanding kelompok dosis 400 mg (27.94 \pm 14.76 $\times 10^6$ spermatozoa/ml), dan 200 mg (25.32 \pm 19.33 $\times 10^6$ spermatozoa/mL). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dosis 800 lebih berpengaruh atau mampu mempertahankan konsentrasi spermatozoa tikus wistar pada trauma testis dibanding dosis 400 mg, dan 200 mg. Analisis statistik *one-way* ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0.05$) konsentrasi spermatozoa tikus model dengan torsio testis setelah pemberian ekstrak daun kelor.

3.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil dari penelitian Widiastini (2022) yang menunjukkan bahwa jumlah spermatozoa tikus Wistar tua yang diberi ekstrak etanol daun kelor (50 mg/kgBB/0,5 mL CMC 0,5% setiap hari) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Perlakuan juga menunjukkan morfologi spermatozoa yang lebih normal dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak etanol daun kelor terhadap peningkatan jumlah spermatozoa dan perbaikan morfologi sperma pada tikus putih tua Wistar (Widiastini, 2022).

Xu (2021) melaporkan bahwa pada tikus dewasa yang diberi teh daun *M. oleifera* pada dosis 1,10 dan 2,20 mg/kgbb mengalami peningkatan sel sertoli secara signifikan. Peningkatan sel sertoli mengakibatkan peningkatan jumlah sel germinal. Sel germinal mensekresi *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF) yang merangsang spermatogonia (Xu, 2021).

Mansour (2013) melaporkan bahwa penggunaan *Punica granatum*, minyak zaitun (OO) dan minyak *Nagilla sativa* per oral setiap hari selama 6 minggu dapat menghasilkan peningkatan yang signifikan dalam konsentrasi sperma epididimis dan motilitas sperma disertai dengan penurunan konsentrasi sperma abnormal yang dapat dikaitkan dengan penurunan peroksidasi lipid pada tikus jantan wistar (Mansour, 2013). Dahril (2021) melaporkan bahwa pada penelitian dengan melakukan induksi dislipidemia pada hewan coba menyebabkan terjadinya penurunan kuantitas sperma yang signifikan. Namun, pemberian ekstrak daun kelor 800 mg/kgBB dapat meningkatkan kuantitas sperma tikus secara signifikan. Namun, Pemberian ekstrak daun kelor 200 dan 400 mg/kgBB memberikan hasil yang tidak berbeda jauh dengan pemberian atorvastatin terhadap peningkatan kuantitas sperma

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi daun kelor 800 mg/kgbb menunjukkan pengaruh yang baik terdapat standar dari kesuburan sperma yaitu mencapai 39,80%. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Oberoi (2014) yang menilai kesuburan sperma berdasarkan konsentrasi setelah kriopreservasi spermatozoa, ia menemukan bahwa jumlah konsentrasi mencapai 46.4% yang berkorelasi dengan kesuburan sperma pada penelitian inseminasi/motilitas sperma (Oberoi, 2014).

4. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap kualitas sperma pada tikus *rattus novergicus*. Pemberian ekstrak daun kelor dosis 800 mg/kgbb dapat meningkatkan kualitas konsentrasi sperma dibanding dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Penelitian ini masih memiliki keterbatasan sehingga diperlukan analisis data lanjutan untuk melihat pengaruh ROS terhadap sperma maupun pemeriksaan histopatologi agar dapat lebih memahami pengaruh trauma testis terhadap infertilitas. Pemeriksaan lanjutan diharapkan dapat memperkuat penelitian yang sudah ada sebelumnya.

Daftar Pustaka

- Alahmar, A. T. (2019). Role of Oxidative Stress in Male Infertility: An Updated Review. *J Hum Reprod Sci*, 12(1), 4-18. https://doi.org/10.4103%2Fjhrs.JHRS_150_18
- Dahril, Mauny, M. P., & Munandar, R. H. (2021). Pengaruh Daun Kelor dan Dislipidemia Terhadap Kuantitas Sperma. *JMS*, 2(2), 102-111. <https://doi.org/10.55572/jms.v2i2.44>
- Ergun, A., Kose, S. K., Aydos, K., Ata, A., & Avci, A. (2007). Correlation of Seminal Parameters with Serum Lipid Profile and Sex Hormone. *Arch Androl*, 53, 21-23. <https://doi.org/10.1080/01485010600888961>
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Kumar, D. S. (2016). Moringa Oleifera: A Review on Nutritive Importance and Its Medicinal Application. *Food Sci Hum Wellness*, 5, 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>

- Grigorian, A., Livingston, J. K., Schubl, S. D., Hasjim, B. J., Mayers, D., Kuncir, E. dkk. (2018). National analysis of testicular and scrotal trauma in USA. *Research and reports in urology*, 10, 51-56. <https://doi.org/10.2147%2FRRU.S172848>
- Kukadia, A. N., Ercole, C. J., Gleich, P., Hensleigh, H., & Pryor, J. L. (1996). Testicular trauma: potential impact on reproductive function. *The Journal of urology*, 156(5), 1643-1646. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)65472-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)65472-7)
- Mansour, S. W., Sangi, S., Harsha, S., Khaleel, M. A., & Ibrahim, A. R. (2013). Sensibility of male rats fertility against olive oil, Nigella sativa oil and pomegranate extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(7), 563-568. [https://doi.org/10.1016%2FS2221-1691\(13\)60114-8](https://doi.org/10.1016%2FS2221-1691(13)60114-8)
- Morgan, D. H., Ghribi, O., Geiger, J., & Chen, X. (2014). Cholesterol enriched diet disrupts the blood-testis barrier in rabbits. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 307, 1125-1130. <https://doi.org/10.1152%2Fajpendo.00416.2014>
- Oberoi, B., Kumar, S., & Talwar, P. (2014). Study of human sperm motility post cryopreservation. *Medical Journal Armed Forces India*, 70(4), 349-353. <https://doi.org/10.1016%2Fj.mjafi.2014.09.006>
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in Moringa oleifera leaves protect against chronic disease. *Antioxidants (Basel)*, 6(4), 91-104. <https://doi.org/10.3390/antiox6040091>
- Ward, M. A., Burgess, P. L., Williams, D. H., Herrforth, C. E., Bentz, M. L. dkk. (2010). Threatened fertility and gonadal function after a polytraumatic, life-threatening injury. *Journal of Emergencies, Trauma, and Shock*, 3, 199-203. <https://doi.org/10.4103%2F0974-2700.62110>
- Widiastin, L. P., Karuniadi, I. G. A. M., & Tangkas, M. (2022). Ethanol extract of Moringa oleifera increased the number of spermatozoa and improved sperm morphology of old Rattus norvegicus. *Journal of Biomedicine and Biotechnology Indonesia*, 9(1), 11-19. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v9i1.5021>
- Xu, Y., Chen, G., & Guo, M. (2021). Correlations between phytochemical fingerprints of Moringa oleifera leaf extracts and their antioxidant activities revealed by chemometric analysis. *Phytochemical Analysis*, 32(5), 698-709. <https://doi.org/10.1002/pca.3016>
- Zango, B., Kabore, F. A., Pare, A. K., Kirakoya, B., Yameogo, C. A. M. K. D., Ouattara, A. dkk. (2015). Trauma to the male external genitalia: epidemiology, diagnosis and therapeutic aspects at Yalgado Ouedraogo Teaching Hospital of Ouagadougou. *Open Journal of Urology*, 5(7), 103-108. <http://dx.doi.org/10.4236/oju.2015.57016>