

Ekstrak Akues *Gynura procumbens* Menurunkan Aras Glukosa Darah dan Meningkatkan Kualiti Sperma Tikus Teraruh Diabetis

(*Gynura procumbens* Leaves Aqueous Extract Decreased Blood Glucose Level and Increased Sperm Quality in Diabetic-Induced Rats)

HALIMAH ABDULLAH SANI, NUR AZANIM DARUS,
MAHANEM MAT NOOR & ISMA ILLYANI ISMAIL

ABSTRAK

*Diabetes mellitus merupakan sejenis penyakit metabolik yang disebabkan oleh peningkatan aras glukosa darah serta memberi kesan komplikasi terhadap kesihatan. Peningkatan aras glukosa dalam darah berpunca daripada kegagalan penghasilan insulin yang berperanan dalam mengawalatur aras glukosa darah. Lebih 90 peratus pesakit diabetis turut mengalami masalah gangguan fungsi seksual lelaki seperti penurunan libido, impoten dan infertiliti di mana kesemua masalah ini adalah disebabkan oleh kegagalan testis yang berkaitan dengan ciri hiperglisemia pesakit diabetis itu sendiri. Infertiliti merujuk kepada ketidaksuburan sperma atau ketidakupayaan individu untuk menghasilkan sperma yang normal. Kajian ini dijalankan untuk melihat potensi ekstrak akues *Gynura procumbens* (GP) untuk menurunkan aras glukosa darah serta meningkatkan kualiti sperma tikus jantan strain Sprague dawley teraruh diabetis. Tikus diaruh diabetik melalui suntikan intravena streptozotocin (STZ), 65 mg/kg. Kualiti sperma ditentukan berdasarkan parameter berbeza yang dikaji iaitu bilangan, motiliti dan peratus mortaliti sperma. Tikus-tikus ini dibahagi kepada dua kumpulan iaitu normal dan diabetik. Setiap kumpulan ini dibahagi kepada 2 sub kumpulan dengan perlakuan yang berbeza iaitu kawalan (n=5) dan dos 50 mg/kg (n=5) di mana tikus ini diberikan rawatan selama 10 hari berturut-turut menggunakan ekstrak akues GP melalui kaedah suap paksa. Hasil menunjukkan rawatan dengan ekstrak GP menurunkan aras glukosa darah tikus diabetik daripada 15.08 ± 1.878 mmol/L kepada 10.42 ± 2.71 mmol/L secara signifikan ($p < 0.05$). Rawatan dengan ekstrak GP turut meningkatkan bilangan sperma normal dalam tikus diabetik secara signifikan ($p < 0.05$). Bilangan sperma normal dalam tikus diabetik yang diberi rawatan ekstrak ialah $(50.23 \pm 3.12) \times 10^7$ berbanding tikus kawalan diabetik $(39.93 \pm 8.06) \times 10^7$. Sebanyak 38.5% tikus kawalan diabetik menghasilkan motiliti sperma gred d iaitu sperma tidak bergerak (immotil). Walau bagaimanapun, tikus diabetik yang diberi rawatan ekstrak GP menunjukkan penurunan sperma dalam gred d kepada 30.48% serta peningkatan sperma gred a iaitu sperma bergerak paling pantas daripada 31.25% kepada 34.86%. Tikus diabetik yang dirawat dengan ekstrak GP menunjukkan penurunan secara signifikan ($p < 0.05$) dalam peratusan mortaliti sperma iaitu daripada $50.09 \pm 14.34\%$ kepada $30.57 \pm 4.61\%$. Hasil ini menunjukkan ekstrak akues *Gynura procumbens* dapat menurunkan aras glukosa darah, merawat ketidaksuburan serta meningkatkan spermatogenesis pada tikus diabetik jantan.*

Kata kunci: Diabetis; *Gynura procumbens*; kualiti sperma

ABSTRACT

*Diabetes mellitus has been reported to cause various health complications and increased glucose blood level. The increasing level of glucose in blood was caused by the failure to produce insulin which control blood glucose level. More than 90% of male diabetic patients have problem in sexual abilities such as experiencing low libido, impotence and infertility. Infertility could be due to lost of testicular function to produce normal and healthy sperm in an adequate quantity. This study was carried out to investigate the effects of *Gynura procumbens* (GP) aqueous extracts on glucose blood level and sperm quality in male diabetic-induced Sprague dawley rats. Diabetic was induced by intravenous injection of streptozotocin (65mg/kg). The sperm quality was determined by evaluating the sperm count, motility and percentage of mortality. Rats were divided into two groups, which were normal and diabetic-induced rats. Each group was then divided into two subgroups; non-treated group (n=5), which served as controls and the treated group (n=5) which were treated with 50 mg/kg GP aqueous leaves extract. Both normal and diabetic rats were forced-fed with the GP extract daily for ten days. The results show that treatment of GP extract decreased the blood glucose level from 15.08 ± 1.878 mmol/L to 10.42 ± 2.71 mmol/L significantly ($p < 0.05$) in diabetic rats. Treatment of GP extract increased the normal sperm count of the diabetic group significantly ($p < 0.05$). The normal sperm count in diabetic rats treated with GP was $(50.23 \pm 3.12) \times 10^7$ compared to untreated-diabetic group $(39.93 \pm 8.06) \times 10^7$. Most of the sperm motility in the untreated diabetic rats were in grade d (immotile) with 38.5%. However, diabetic rats treated with GP had a decrease of*

grade d sperm to 30.48% and an increase of grade a (progressive motility) sperm from 31.25% to 34.86%. The diabetic rats treated with GP also had a significant reduction ($p < 0.05$) in percentage of sperm mortality, from $50.09 \pm 14.34\%$ to $30.57 \pm 4.61\%$. These results show that the administration of *Gynura procumbens* aqueous extract had the ability to decrease blood glucose level, restore the fertility and increase spermatogenesis in male diabetic rats.

Keywords: Diabetes; *Gynura procumbens*; sperm quality

PENGENALAN

Gynura procumbens (GP) atau lebih dikenali sebagai sambung nyawa merupakan sejenis tumbuhan herba yang mudah ditemui di kawasan Asia Tenggara. Ia juga turut dikenali sebagai akar sebiak, kelemai merah, daun dewa dan sebagainya. Di Thailand, tumbuhan ini telah lama digunakan sebagai ubatan tradisional untuk merawat inflamasi, demam, ruam dan penyakit renal (Zhang & Tan 2000). Khoo (2005) melaporkan bahawa tumbuhan ini dapat menurunkan aras glukosa dalam pesakit diabetis. Malah terdapat juga laporan menyatakan bahawa tumbuhan herba ini dapat mengurangkan kadar kolesterol, menurunkan tekanan darah tinggi (hipertensi), merawat sembelit dan penyakit kanser serta bertindak sebagai agen anti-inflamasi. Diabetis mellitus merupakan sejenis penyakit metabolik yang dikaitkan dengan kegagalan pankreas untuk menghasilkan hormon insulin yang mencukupi untuk mengawal aras glukosa darah atau apabila sel tidak peka terhadap insulin yang dihasilkan. Kesannya, glukosa darah tidak dapat diserap ke dalam sel badan dan menyebabkan peningkatan aras glukosa dalam darah atau hiperglisemia. Di samping itu, lebih 90 peratus pesakit diabetis mengalami gangguan fungsi seksual, termasuk penurunan libido, impoten dan infertiliti di mana kesemua masalah ini adalah disebabkan oleh kegagalan testis yang berkaitan dengan ciri hiperglisemia pesakit diabetis itu sendiri (Amaral et al. 2006). Kajian lepas menunjukkan bahawa gangguan spermatogenik merupakan faktor utama ketidaksuburan di kalangan lelaki diabetik (Yamanaka et al. 2002).

Masalah seksual yang dihadapi oleh pesakit diabetis adalah impoten dan infertiliti (Challem et al. 2001). Impoten atau kegagalan ereksi didefinisikan sebagai ketidakupayaan atau kegagalan individu untuk mencapai dan mengekalkan tahap ereksi semasa hubungan seks. Aras glukosa yang tinggi dalam darah serta kawalan glukosa darah yang lemah membawa kepada kerosakan salur darah dan sistem saraf di mana keadaan ini menyebabkan pengurangan aliran darah ke penis dan seterusnya mengakibatkan pesakit mengalami kegagalan ereksi (Leslie et al. 2006). Manakala infertiliti pula merujuk kepada ketidaksuburan sperma atau ketidakupayaan individu untuk menghasilkan sperma yang normal yang dikaitkan dengan aktiviti enzim laktat dehidrogenase yang memainkan peranan penting dalam proses spermatogenesis (Goldberg 1998).

Perubatan tradisional merupakan suatu ide yang baik dalam merawat pelbagai jenis penyakit terutama diabetis dan ianya telah diamalkan sejak zaman dahulu lagi (Akerle 1983). Misalnya, sistem perubatan Ayurveda yang

diamalkan di India dan sistem perubatan tradisional Cina yang berasaskan penggunaan tumbuhan dan herba. Bailey dan Day (1989), melaporkan terdapat lebih daripada 400 jenis tumbuhan dan ekstrak tumbuhan yang berpotensi untuk merawat penyakit diabetis. Kajian yang dilakukan oleh Zhang dan Tan (2000) mendapati bahawa *Andrographis paniculata* berupaya melindungi tikus teraruh diabetik daripada kehilangan berat badan dan dapat menurunkan aras glukosa darah secara signifikan ($p < 0.05$). Hasil ini mencadangkan bahawa *A. paniculata* berupaya menurunkan aras glukosa darah tikus diabetik aruhan STZ secara signifikan ($p < 0.05$) dan bersifat antihyperglisemik. Selain itu, *A. paniculata* banyak digunakan dalam merawat pelbagai jenis jangkitan dan penyakit seperti bengkak, sakit tekak, jangkitan gastro-usus dan herpes.

Di samping itu, kajian terhadap ekstrak daun *Bryophyllum pinnatum* (crassulaceae) terbukti berpotensi sebagai agen anti-inflamasi dan hipoglisemik. Ini kerana komposisi mikronutrien yang berbeza seperti flavonoid, polifenol dan sebatian kimia yang lain dipercayai menyumbang kepada keupayaan untuk bertindak sebagai agen antidiabetik dan anti-inflamasi (Ojewole 2004).

Objektif kajian ini dijalankan adalah untuk mengkaji kesan perlakuan ekstrak akues daun GP terhadap aras glukosa darah serta kualiti sperma tikus jantan normal dan teraruh diabetik. Terlebih dahulu tikus diaruh menjadi diabetik dengan suntikan. Streptozotocin STZ dan kemudian dirawat dengan ekstrak akues GP 50 mg/kg selama 10 hari.

BAHAN DAN KAEDAH

Tikus jantan strain Sprague Dawley digunakan dalam kajian ini dibekalkan oleh Rumah Haiwan Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia. Tikus-tikus dipelihara dalam sangkar biasa dan makanan (rat chow) serta minuman diberikan secara *ad libitum*. Streptozotocin yang digunakan untuk mengaruh tikus menjadi diabetis dibekalkan oleh Sigma Chemical Co. St. Louis, USA. Bahan kimia berikut digunakan dalam penyediaan medium TYH, reagen Biuret, penimbal fosfat serta penimbal sitrat; NaCl, NaOH dan KH_2PO_4 dibekalkan oleh E. Merck, D-6100 Darmstadt, F. R. Germany. Napirovat, BSA, Na_2HPO_4 dan asid sitrik dibekalkan oleh Sigma Chemical Co., St. Louis, USA. CaCl_2 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan natrium nitrat dibekalkan oleh Fluka Chemika, Switzerland. KCl (M & B Laboratory Chemicals, May & Baker Ltd. Dagerham, England), NaHCO_3 (Fisons Laboratory Reagent, Loughborough, Leicestershire,

England), Glukosa (BDH Chemicals Ltd. Poole England), Penisilin-G/Streptomisin (GIBCOBRL, Life Technologies, Inc. Gaithersberg, MD, USA), fenol merah (Difco Laboratories, West Molesey, Surrey, UK), CuSO_4 (HmbG Chemicals) serta kalium natrium tartarat, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (UNIVAR, Asia Pacific Speciality Chemicals Ltd., Australia).

Rekabentuk eksperimen ini menggunakan tikus normal dan diabetik. Tikus diaruh menjadi diabetik melalui suntikan streptozotocin (STZ) dengan dos 65 mg/kg di bahagian pangkal ekor secara intravena. Penentuan aras glukosa darah tikus dilakukan sebelum dan selepas 7 hari suntikan STZ serta selepas tikus diberi rawatan ekstrak akues GP. Tikus kajian diberikan rawatan setelah disahkan diabetis melalui penentuan aras glukosa darah. Rawatan dilakukan dengan pemberian ekstrak *Gynura procumbens* selama 10 hari secara oral melalui kaedah suap paksa dengan dos 50 mg/kg ($n=5$) berbanding tikus kawalan ($n=5$) yang hanya diberi air suling juga secara oral. Tikus ini kemudiannya dibunuh dan dibedah untuk mendapatkan epididimis bagi analisis kualiti sperma.

Pengekstrakan daun *Gynura procumbens* dilakukan dengan kaedah pengekstrakan akues Peungvicha (1998). Dalam kaedah ini, sampel dikeringkan di dalam oven selama 5 hari pada suhu 45°C dan dihancurkan sehingga menjadi serbuk. Kemudian, 100 g sampel ini dicampur dengan 1 liter air suling dan dipanaskan dalam kukus air selama dua jam sehingga sampel menjadi 100 ml. Langkah ini bertujuan memekatkan sampel. Sampel yang diperolehi kemudiannya dituras dan hasil turasan diempar menggunakan alat pengempar pada kelajuan 3000 rpm selama 10 minit. Larutan yang terhasil kemudiannya dikeringkan melalui kaedah sejuk-kering menggunakan Advantage Freeze-Drier. Jumlah perolehan (mg/g) sampel basah yang disejuk-kering yang diperolehi dijadikan dos yang dikehendaki dan disimpan sebagai stok. Berdasarkan kajian dos yang dibuat sebelum ini, ekstrak GP dos 50 mg/kg, 100 mg/kg dan 150 mg/kg memberi kesan yang sama ke atas aras glukosa darah. Oleh itu, dos 50 mg/kg dipilih dan digunakan dalam kajian ini.

Selepas tempoh rawatan, aras glukosa darah tikus diukur bagi melihat keberkesanan perlakuan ekstrak GP. Penentuan aras ini dilakukan dengan memotong hujung ekor tikus dan darah diambil seterusnya diukur menggunakan alat Glucometer Elite®. Hanya tikus yang mempunyai tahap diabetis sederhana iaitu dengan bacaan aras glukosa 16.5 – 27.5 mmol/L (300 – 500 mg/dL) digunakan kerana diabetis pada tahap ini adalah paling sesuai digunakan untuk kajian terhadap pengaruh dan kesan agen hipoglisemik oral yang dijalankan (Murphy & Anderson 1974).

Pada hari berikutnya, tikus tersebut dibunuh dengan menggunakan kloroform dan dibedah untuk mendapatkan epididimis bagi menjalankan analisis kualiti sperma. Epididimis yang diambil dipotong untuk mendapatkan sampel sperma (Chitra et al. 2001). Kemudian, sampel sperma tadi ditambah dengan dengan 500 µl medium TYH

yang telah disediakan dan dieram di dalam inkubator pada suhu 37°C dengan 5% CO_2 selama 30 minit. Kualiti sampel sperma tersebut dianalisis menggunakan Hemasitometer Neubauer yang mempunyai grid tengah yang mengandungi 16 petak. Parameter yang dikaji bagi analisis kualiti sperma adalah bilangan sperma, motiliti dan peratus mortaliti.

Medium TYH (*trypticase yeast extract hemin*) merupakan medium bahantara yang sesuai bagi melakukan *swim up* (berenang naik) sperma bagi memudahkan proses analisis kualiti sperma dijalankan. Medium ini dapat menjamin kemandirian sperma bagi tempoh kajian selama tempoh analisis. Komposisi medium TYH bagi setiap 1000 ml adalah seperti berikut : 2.5 mM NaCl, 4.77 mM KCl, 1.71 mM CaCl_2 , 1.19 mM KH_2PO_4 , 1.19 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 25.1 mM NaHCO_3 , 0.5 mM Glukosa, 100 mM Na-piruvat dan 1.0 ml Penisilin-G/Streptomisin. Fenol merah (1.0 µl) berfungsi sebagai penunjuk pH ditambah ke dalam medium dan julat pH medium adalah 7.2 – 7.4. 4.0 g Bovine Serum Albumin (BSA) ditambah ke dalam setiap 1000 ml medium TYH. Medium ini dieram semalaman di dalam inkubator dengan suhu 37°C dan 5% CO_2 sebelum digunakan secara terus atau disimpan pada suhu 4°C untuk tempoh tiga hingga empat hari selepas penyediaan.

Bilangan sperma daripada epididimis kanan tikus dikira menggunakan hemasitometer di mana setitik sampel sperma diletakkan ke atas grid tengah alat tersebut dan dibiarkan terserap secara kapilari. Bilangan sperma dikira melalui kaedah pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran x100. Langkah ini diulang sebanyak dua kali untuk mendapatkan data purata.

Motiliti sperma juga dikira menggunakan hemasitometer dengan kaedah yang sama seperti pengiraan bilangan sperma. Motiliti atau progresi sperma merujuk kepada pergerakan sperma dan ia dilihat berdasarkan gred motiliti iaitu :

- a = Sperma bergerak paling pantas $\geq 25 \mu\text{m/s}$
- b = Sperma bergerak perlahan 5-24 $\mu\text{m/s}$
- c = Sperma bergerak setempat $< 5 \mu\text{m/s}$
- d = Sperma tidak bergerak (immotil) 0 $\mu\text{m/s}$

Hemasitometer juga digunakan untuk mengira mortaliti sperma. Sperma yang bergerak dikategorikan sebagai sperma hidup manakala sperma yang tidak bergerak dianggap mati bagi penentuan mortaliti sperma tikus kajian. Peratus kemortalan dikira selepas jumlah sperma ditentukan.

Analisis statistik dilakukan menggunakan MINITAB 13 iaitu melalui ujian t bagi menentukan kewujudan atau tidak perbezaan yang signifikan di antara kumpulan normal dan diabetik yang dikaji.

HASIL DAN PERBINCANGAN

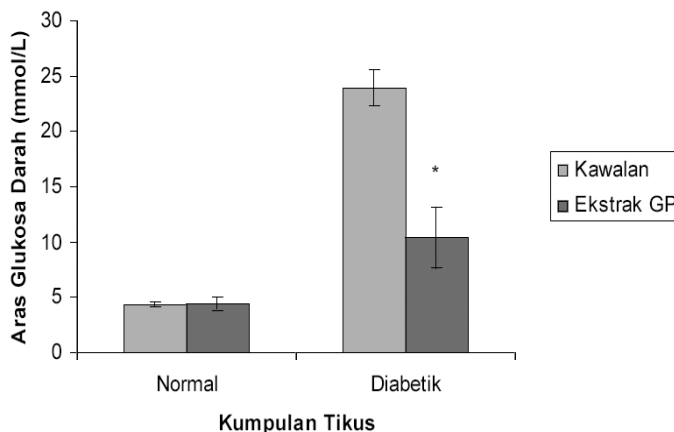
Aruhan diabetik dengan suntikan streptozotocin pada dos 65 mg/kg telah berjaya meningkatkan aras glukosa darah ke tahap diabetik. Aras glukosa darah bagi tikus normal ialah $4.74 \pm 0.35 \text{ mmol/L}$ meningkat kepada 14.39 ± 3.10

mmol/L. Streptozotocin dilaporkan menyebabkan diabetik melalui tindakannya yang menyebabkan kerosakan sel β Langerhans kelenjar pankreas dan seterusnya menyebabkan rembesan insulin terganggu. Kekurangan insulin membawa kepada keadaan hiperglikemia, glukosuria dan seterusnya ketoasidosis (Wohaieb et al. 1987). STZ merupakan dadah pengaruh diabetik yang mempunyai kespesifikan terhadap sel β Langerhans pankreas dengan kesan toksik yang minimum terhadap ginjal dan hepar. Walaubagaimanapun, kerosakan sel β Langerhans ini masih boleh dipulihkan dengan rawatan sekiranya kerosakan tidak berlaku dengan teruk.

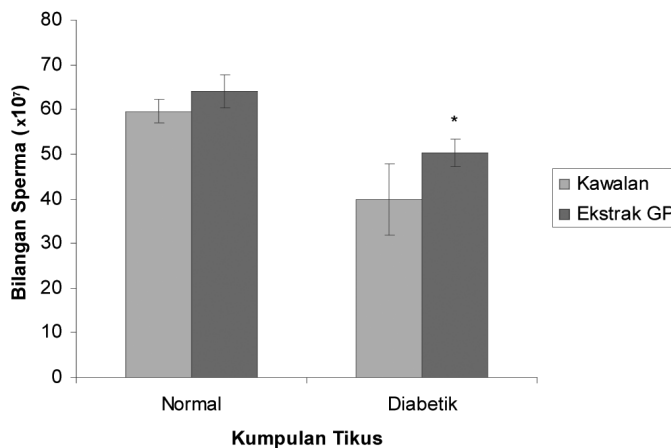
Kajian kesan ekstrak akues daun GP ke atas tikus normal dan diabetik telah dilakukan dengan pemberian secara suap paksa 50 mg/kg ekstrak selama 10 hari iaitu selepas tikus disahkan diabetik melalui penentuan aras glukosa darah. Selepas 10 hari, aras glukosa darah diukur semula dan hasil kajian ditunjukkan dalam Rajah 1. Aras glukosa darah dalam tikus normal tidak berubah sebelum dan selepas rawatan dengan ekstrak GP. Ini menunjukkan ekstrak GP tidak mempunyai kesan hipoglisemia ke atas tikus normal. Tikus kawalan diabetik mempunyai aras

glukosa darah yang sangat tinggi iaitu 23.9 ± 1.617 mmol/L selepas dibiarkan tanpa rawatan selama 10 hari berbanding tikus kawalan normal iaitu 4.36 ± 0.27 mmol/L. Rawatan dengan 50 mg/kg ekstrak GP pada tikus diabetik berjaya menurunkan aras glukosa darah kepada 10.42 ± 2.71 mmol/L secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding tikus kawalan diabetik yang mana jelas menunjukkan potensi ekstrak GP sebagai agen antihyperglisemia.

Kesan ekstrak akues GP ke atas kualiti sperma tikus normal dan diabetik dilakukan dengan mengukur bilangan sperma, gred motiliti dan peratusan mortaliti sperma. Rajah 2 menunjukkan perbandingan bilangan sperma tikus di antara kumpulan normal dan diabetik yang diberi perlakuan 50 mg/kg ekstrak akues GP. Aruhan diabetik dengan STZ telah menurunkan bilangan sperma daripada $59.6 \pm 2.49 \times 10^7$ kepada $(39.93 \pm 8.06) \times 10^7$. Pemberian ekstrak GP telah meningkatkan bilangan sperma tikus normal kepada $(64.0 \pm 3.74) \times 10^7$ tetapi secara tidak signifikan. Bagaimanapun rawatan ekstrak GP kepada tikus diabetik telah meningkatkan bilangan sperma secara signifikan ($p < 0.05$) kepada $(50.23 \pm 3.12) \times 10^7$. Rajah 2 juga jelas menunjukkan bahawa bilangan sperma tikus kumpulan



RAJAH 1. Kesan rawatan ekstrak *Gynura procumbens* ke atas aras glukosa darah tikus normal dan diabetik (* menunjukkan perbezaan yang signifikan $p < 0.05$)



RAJAH 2. Kesan rawatan ekstrak *Gynura procumbens* ke atas bilangan sperma ($\times 10^7$) tikus normal dan diabetik (* menunjukkan perbezaan yang signifikan $p < 0.05$)

diabetik adalah lebih rendah berbanding tikus normal. Tikus diabetis yang diberi rawatan dengan ekstrak GP telah menunjukkan peningkatan bilangan sperma secara signifikan ($p < 0.05$) berbanding kawalan diabetis.

Kesan diabetik ke atas kualiti sperma serta keberkesanan rawatan ekstrak GP ditentukan melalui analisis motiliti. Motiliti atau progresi sperma merujuk kepada pergerakan sperma dan analisis dilakukan dengan merujuk kepada gred berdasarkan keaktifan sperma semasa cerapan. Gred a menunjukkan pergerakan sperma paling pantas (paling progresif) iaitu $\geq 25 \mu\text{m/s}$ dan gred d pula menunjukkan sperma tidak bergerak (immotil) iaitu $0 \mu\text{m/s}$. Jadual 1 menunjukkan kesan rawatan ekstrak GP ke atas motiliti sperma tikus normal dan diabetik. Aruhan diabetik menyebabkan penurunan motiliti sperma daripada 23.99% kepada 38.5% gred d iaitu sperma immotil dan tiada kesan perubahan kepada peratus motiliti sperma gred a. Pemberian ekstrak GP telah meningkatkan motiliti sperma tikus rawatan daripada 31.25% kepada 34.86% gred a iaitu sperma paling progresif. Malah, rawatan dengan ekstrak GP juga memberi hasil penurunan motiliti sperma daripada 38.5% kepada 30.48% gred d iaitu berkurangnya peratus sperma yang immotil bagi tikus yang diberi perlakuan 50 mg/kg ekstrak GP. Oleh itu, rawatan ekstrak GP ini dapat meningkatkan kemotilan sperma bagi tikus diabetik. Progresi sperma yang pantas adalah penting bagi proses

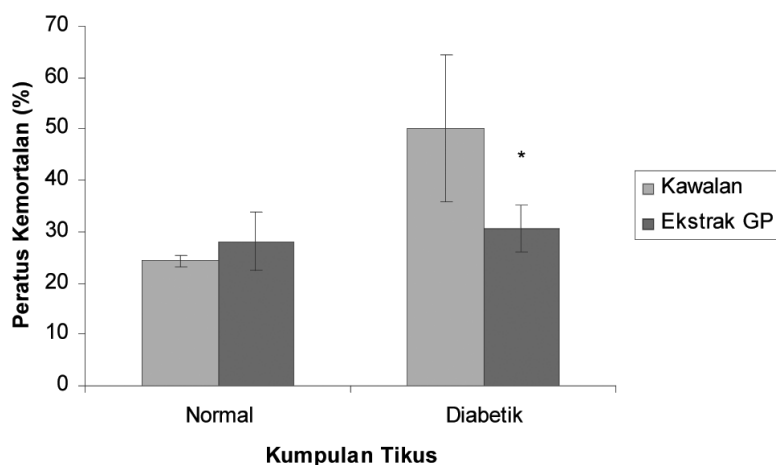
persenyawaan iaitu untuk sperma menembusi sel telur kerana hayat hidup sperma tikus hanyalah di antara 6 hingga 12 jam sahaja.

Kajian ke atas kemortalan sperma tikus adalah penting untuk melihat jumlah sperma yang mati atau mortal kesan daripada penyakit diabetis serta hasil rawatan ekstrak GP. Kebiasaannya, peratus mortaliti sperma ditentukan apabila peratus sperma yang immotil melebihi 50 peratus jumlah bilangan sperma. Rajah 3 menunjukkan perbandingan peratus kemortalan sperma di antara kumpulan normal dan diabetik yang diberi perlakuan ekstrak akues GP. Aruhan diabetik dengan STZ telah meningkatkan peratus kemortalan sperma daripada $24.26 \pm 1.097\%$ kepada $50.09 \pm 14.34\%$. Pemberian rawatan ekstrak akues GP tidak mempengaruhi peratus kemortalan tikus normal kerana hanya sedikit peningkatan berlaku secara tidak signifikan. Namun rawatan kepada tikus diabetik dengan 50 mg/kg ekstrak akues GP telah menurunkan peratus kemortalan secara signifikan ($p < 0.05$) kepada $30.57 \pm 4.61\%$.

Analisis kemortalan sperma memberikan penyemakan pada ketepatan penilaian motiliti sperma memandangkan peratusan sel sperma yang mati tidak sepatutnya melebihi (dalam julat ralat pengiraan) peratusan sperma yang immotil atau tidak bergerak. Kehadiran bilangan sperma hidup yang banyak tetapi tidak bergerak (immotil) mungkin

JADUAL 1. Kesan rawatan ekstrak *Gynura procumbens* ke atas motiliti sperma tikus normal dan diabetik

Kumpulan Rawatan	Peratus Motiliti Sperma mengikut Gred Motiliti (%)			
	a	b	c	d
Kawalan Normal	31.54	28.19	16.28	23.99
Kawalan Diabetik	31.25	21	9.25	38.5
50 mg/kg GP	34.86	19.25	15.14	30.48



RAJAH 3. Kesan rawatan ekstrak *Gynura procumbens* ke atas min peratus kemortalan sperma tikus normal dan diabetik. (* menunjukkan penurunan yang signifikan $p < 0.05$)

menunjukkan terdapat kecacatan struktur flagelum sperma dan menyebabkan ia tidak dapat bergerak (WHO 2000).

Secara keseluruhannya, kesan STZ terhadap kualiti sperma telah menyebabkan penurunan bilangan sperma dan peratus motiliti sperma mengikut gred serta meningkatkan peratus kemortalan sperma. Menurut Amaral et al. (2006) kemerosotan fungsi reproduktif lelaki ini disebabkan oleh tekanan oksidatif yang terhasil akibat penyakit diabetis. Tekanan oksidatif ini menyebabkan penurunan kualiti sperma serta menjejaskan penghasilan tenaga untuk proses spermatogenesis. Dari segi kualiti sperma, spesies reaktif oksigen bertindak mengganggu proses kapasitasi sperma dan fungsi akrosom yang normal (Abul et al. 2002). Serangan spesies reaktif oksigen adalah sensitif terhadap membran lipid spermatosit. Oleh kerana kepekatan spesies reaktif oksigen merencat proses spermatogenesis dan pematangan sperma, maka tahap kandungannya dalam sistem pembiakan dan bendalir seminal harus dikawal (Abul et al. 2002). Oleh yang demikian, sistem antioksidatif adalah penting bagi menurunkan tekanan oksidatif yang disebabkan oleh peningkatan spesies reaktif oksigen ini.

Hasil kajian ini membuktikan bahawa ekstrak akues GP dapat menurunkan aras glukosa darah serta meningkatkan kualiti sperma. Ini mungkin disebabkan oleh kandungan flavonoid dalam GP yang bertindak sebagai agen antioksidan, antiinflamatori, anti kanser dan anti alergi (Donald et al. 1984). Flavonoid merupakan suatu sebatian yang banyak ditemui dalam buah-buahan dan sayuran yang berfungsi memberi kesan antioksidan. Tindakan aktiviti antioksidatif oleh flavonoid boleh menghalang radikal bebas daripada memusnahkan sel β pankreas yang merembeskan insulin (Drum 2002). Antioksidan merupakan molekul yang berinteraksi dengan radikal bebas dan menamatkan tindak balas rantaian sebelum molekul penting mengalami kerosakan. Antioksidan terlibat dalam pencegahan kerosakan sel yang merupakan tapak jalan biasa bagi kanser dan pelbagai jenis penyakit seperti diabetis (Cos et al. 2004). Bagi mengelakkan kerosakan sel akibat radikal bebas, antioksidan berfungsi sebagai agen penurun dan menurunkan agen pengoksida sebelum merosakkan sel. Oleh itu, kerosakan sel dapat dikurangkan. Ini dapat menerangkan bagaimana GP bertindak sebagai agen antioksidan yang melindungi sel daripada tindakan radikal bebas.

Mekanisme tindakan GP ke atas kualiti sperma mungkin berlaku melalui pengurangan atau perencatan peroksidaan lipid oleh spesies reaktif oksigen (ROS) yang dihasilkan oleh diabetis dan menyebabkan penurunan motiliti sperma (Baumber et al. 2003). ROS menyebabkan peningkatan tekanan oksidatif dan ini disokong oleh kajian Muralidhara (2006), iaitu kerosakan DNA disebabkan tekanan oksidatif berlaku dengan lebih kerap pada peringkat progresif sperma. Selain itu, ia dikaitkan juga dengan gangguan DNA dalam testis serta penghasilan sperma abnormal. Sperma adalah sensitif terhadap penyerangan oksidatif kerana membran sperma mempunyai kepekatan asid lemak tak larut (PUFA) yang

tinggi dan sensitif terhadap serangan ROS (Aitken & Clarkson 1987). Selain itu, penyerangan ROS ke atas sperma boleh menyebabkan degradasi seminal plasma (Abul et al. 2002). Oleh itu, sistem antioksidan berupaya untuk mengurangkan kepekatan ROS serta degradasi sperma, seterusnya mengurangkan bilangan sperma mati.

Kajian kesan antidiabetik ekstrak GP ke atas aras glukosa darah dan aras lipid telah dilaporkan oleh Zhang dan Tan (2000). Reka bentuk kajian menggunakan ekstrak etanol daun GP dan melihat keberkesannya melalui pemberian tiga dos berbeza iaitu 50, 150 dan 300 mg/kg kepada tikus normal dan teraruh diabetik bagi ujian toleransi aras glukosa darah. Metformin dan glibenklamid digunakan sebagai kawalan positif. Hasil kajian mereka telah menunjukkan dos 50, 150 dan 300 mg/kg ekstrak GP yang diberi secara oral telah menurunkan aras glukosa darah pada tikus diabetik secara signifikan ($p < 0.05$). Kesimpulannya, ekstrak etanol GP memberi kesan antihiperlipisemia kepada tikus diabetik.

KESIMPULAN

Aruhan diabetik dengan streptozotocin pada dos 65 mg/kg telah berjaya meningkatkan aras glukosa dalam darah ke tahap diabetik melalui kerosakan sebahagian sel β pankreas tikus yang bertanggungjawab merembes insulin dalam pengawalan aras glukosa darah. Kerosakan ini menyebabkan berlakunya peningkatan aras glukosa dalam darah serta gangguan fungsi sistem reproduksi lelaki yang sering dikaitkan dengan ketidaksuburan. Kajian kesan ekstrak akues daun GP ke atas tikus normal dan diabetik telah dilakukan dengan pemberian secara suap paksa 50 mg/kg ekstrak selama 10 hari iaitu selepas tikus disahkan diabetik melalui penentuan aras glukosa darah. Selepas 10 hari, aras glukosa darah diukur semula dan hasil kajian menunjukkan penurunan aras glukosa darah tikus teraruh diabetik secara signifikan ($p < 0.05$) kepada 10.42 ± 2.71 mmol/L serta meningkatkan kualiti sperma bagi setiap parameter yang dikaji. Hasil yang diperolehi menunjukkan berlakunya peningkatan bilangan sperma secara signifikan ($p < 0.05$) kepada $(50.23 \pm 3.12) \times 10^7$ setelah diberi rawatan ekstrak GP. Tikus diabetik yang diberi rawatan ekstrak GP menunjukkan penurunan sperma dalam gred d iaitu sperma immotil daripada 38.5% kepada 30.48% serta peningkatan sperma gred a iaitu sperma bergerak paling pantas daripada 31.25% kepada 34.86%. Tikus diabetik yang dirawat dengan ekstrak GP menunjukkan penurunan secara signifikan ($p < 0.05$) dalam peratusan mortaliti sperma iaitu daripada $50.09 \pm 14.34\%$ kepada $30.57 \pm 4.61\%$. Oleh yang demikian, hasil ini menunjukkan ekstrak akues *Gynura procumbens* dapat menurunkan aras glukosa darah, merawat ketidaksuburan serta meningkatkan spermatogenesis pada tikus diabetik jantan.

PENGHARGAAN

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Rumah Haiwan, Fakulti Sains dan Teknologi kerana membekalkan

tikus kajian serta memberi kemudahan makmal untuk penyelidikan. Terima kasih juga kepada Pusat Pengajian Biosains dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi kerana memberi kemudahan makmal untuk analisis serta penghargaan kepada Kementerian Pengajian Tinggi kerana membiayai projek penyelidikan ini di bawah geran UKM-ST-01-FRGS0051-2006.

RUJUKAN

- Abul, H.T., Mathew T.C., Abul, F. & Dashti, H.M. 2002. Antioxidant enzyme level in the testis of Cirrhotic rats. *Department of Pharmacology and Surgery, Faculty of Medicine, Kuwait University Health Sciences Center* 18: 56-59.
- Aitken RJ. & Clarkson J.S. 1987. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *Journal of Reproductive Fertility* 81: 459-469.
- Akerele, O. 1983. Traditional medicine, update from the world Health Organization, Geneva. *America Journal of Ethnopharmacology* 28: 215-220.
- Amaral, S., Moreno, A.J., Santos, M.S., Seica, R. & Ramalho-Santos, J. 2006. Effects of hyperglycemia on sperm and testicular cells of Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated rat models for diabetes. *Journal of Theriogenology* 66(9): 2056-2067.
- Bailey, C.J. & Day, C. 1989. Traditional plant medicine as treatment for diabetes. *Diabetes Care* 12(8): 553-564.
- Baumber, J., Ball, B.A., Linfor, J.J. & Meyers, S.A. 2003. Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *Journal of Andrology* 24(4): 621-628.
- Butrimovitz, G.P., Farina, F. & Sharlip, I. 2001. Micromethod for determination of lactate dehydrogenase isoenzyme C4 activity in rat epididymis in *Asian Journal of Andrology* 162: 276-288.
- Challem J., Thomas, C.M.G. & Merkus, J.M. 2001. Male factor subfertility: Possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertility and sterility* 73(3): 435-442.
- Chandra, A., Mahdi, A.A., Ahmad, S. & Kumar, R. 2006. Indian herbs result in hypo-glycemic responses in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research* 27: 161-168.
- Chitra, K.C., Sujatha, R., Latchoumycandane, C. & Mathur, P.P. 2001. Effect of lindane on antioxidant enzymes in epididymis and epididymal sperm of adult rats. *Asian Journal of Andrology* 3: 205-8.
- Cos, P., De Bruyne, T., Hermans, N., Apers, S. Berghe, D.V., Vlietinck, A.J. 2004. Proanthocyanidins in health care: Current and new friends. *Current Medicinal Chemistry* 1345-1359.
- Donald S. 1984. *Diabetes mellitus type I and type II with clinical correlations*. Fifth edition. New York: Wiley-Liss.
- Drum, D. 2002. *Alternatives therapies for managing diabetes: everything you need to know about*. Detroit: Contemporary books.
- Goldberg, E. 1998. Study on the relationship between LDH-C4 in seminal plasma and sperm motility. *Asian Journal of Andrology* 19: 479-486.
- Grover, J.K., Vats, V. & Rathi, S.S. 2000. Anti-hyperglycemia effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Journal of Ethnopharmacology* 73(3): 461-470.
- Muralidhara, B.S. 2007. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxin consequences. *Department of Biochemistry and Nutrition, Central food Technological Research Institute, Mysore, India* 23(4): 578-587.
- Mohamad, H.A.G. 2001. Kesan ekstrak akues lengkuas (*Languas galanga*) ke atas kualiti sperma tikus. Tesis Ijazah Sarjanamuda Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Nurdiana binti Samsulrizal. 2005. Kesan diet lipid dan diabetes ke atas kualiti sperma dan aktiviti enzim laktat dehidrogenase-C4. Tesis Ijazah Sarjanamuda Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Ojewole, J.A.O. 2005. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology* 99(1): 13-19.
- Peungvicha, P., Thirawarapam, S.S., Tamsiririrkkul, R., Prasin, J.K., Kadota, S. & Watanabe, H. 1998. Hypoglycemic effect of water extract of *Piper sarmentosum* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 60: 27-32.
- Siti, A.M.C. 2006. Kesan pengambilan *Centella asiatica* terhadap kualiti sperma, kolesterol, β -glukosidase dan histopatologi testis tikus. Tesis Ijazah Sarjanamuda Universiti Kebangsaan Malaysia.
- WHO. 2000. *WHO laboratory manual for examination of human semen & sperm-servical mucus interaction*. 4th edition. Cambridge: Cambridge University Press.
- William. 1981. Streptozotocin as a antitumor agent. *Pharmacological Reviews* 25(2): 485-518.
- Wohaieb, S. A. & Godin, D. V. 1987. Alteration in free radical tissue defense mechanism in STZ-induced diabetes in rat. *Diabetes* 36: 1014-10.
- Wyrobek, A.J., Bruce, W.R. & Furrer, R. 1974. Abnormalities in the shape of murine sperm after acute testicular X-radiation. *Mutation research and molecular mechanism of mutagenesis* 23(2): 381-386.
- Yamanaka, M., Shirai, M., Shiina, H., Tanaka, Y., Tsujimura, A., Matsumiya, K., Okuyama, A., & Dahiya, R. 2002. Diabetes induced erectile dysfunction and apoptosis in penile crura are recovered by insulin treatment in rats. *Asian Journal of Andrology*. USA: Department of Urology, Veterans Affairs Medical Centre, University of California at San Francisco. CA 94121. USA.
- Zhang, X.F. & Tan, B.K.H. 2000. Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal* 4(1): 9-13.
- Pusat Pengajian Biosains dan Bioteknologi
Fakulti Sains dan Teknologi
Universiti Kebangsaan Malaysia
43600 UKM Bangi
Selangor Darul Ehsan
Malaysia
- Diserahkan : 11 Mac 2008
Diterima : 28 April 2008

