

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper Betle L.*) TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*)

Jofter Julian Longdong¹⁾, Edwin De Queljoe¹⁾, Adithya Yudistira¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*Problems in Indonesia today, the increase in the number of very high population, should be developed methods of contraception in men safe, effective, and easy to apply. Betel leaf (*Piper betle L.*) contains phenol, alkaloids and tannins that have been used as traditional natural antifertility. The purpose of this study to determine the conferral effect of betel leaf extract against male wistar rat spermatogenesis. This research is experimental with complete randomized design. Research subjects were 24 male wistar strains divided into 4, Group 1 was not treated and as negative control and Group 2-4 were treated with different doses of 200, 400 and 800 mg. The treatment was performed for 50 days according to the spermatogenesis cycle. Assessment of spermatogenesis was measured by assessment of the Johnson spermatogenesis score on seminiferous tubules. The results of the investigation showed that there were significant differences in the inter-group spermatogenesis process shown by the Kruskal-Wallis test. It can be concluded that the active substances present in betel leaf may affect the spermatogenesis process of male white rats wistar strains by inhibiting spermatozoa production. It is recommended that betel leaf extract may be considered to be use as a natural contraceptive for men.*

Keywords: *Spermatogenesis, antifertility, betel leaves (*Piper betle L.*), male wistar rat (*Rattus norvegicus*)*

ABSTRAK

Permasalahan di Indonesia saat ini, terjadinya peningkatan jumlah penduduk yang sangat tinggi, perlu dikembangkan metoda kontrasepsi pada pria yang aman, efektif, dan mudah diaplikasikan. Daun sirih (*Piper betle L.*) mengandung fenol, alkaloid dan tannin yang telah digunakan sebagai antifertilitas alami secara tradisional. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih terhadap spermatogenesis tikus putih wistar jantan. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Subyek penelitian sebanyak 24 ekor tikus jantan galur wistar yang terbagi menjadi 4, Kelompok 1 tidak diberi perlakuan dan sebagai kontrol negatif dan Kelompok 2-4 diberi perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 200, 400 dan 800 mg. Perlakuan dilakukan selama 50 hari sesuai siklus spermatogenesis. Penilaian Spermatogenesis diukur berdasarkan penilaian skor spermatogenesis Johnson pada tubulus seminiferus. Hasil peneilitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada proses spermatogenesis antar kelompok yang ditunjukkan oleh uji *Kruskal-Wallis*. Dapat disimpulkan zat aktif yang ada dalam daun sirih dapat mempengaruhi proses spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar dengan cara menghambat pembentukan spermatozoa. Disarankan ekstrak daun sirih dapat dipertimbangkan untuk digunakan sebagai kontrasepsi alami untuk pria.

Kata kunci: *Spermatogenesis, antifertilitas, Daun Sirih (*Piper betle L.*), Tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*)*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan sebuah negara berkembang dengan jumlah peningkatan penduduk yang tinggi. Hasil sensus menurut publikasi BPS pada bulan Agustus 2015 antara lain jumlah penduduk Indonesia adalah 255.182.144 orang, terdiri atas 128.231.889 laki-laki dan 126.950.255 perempuan dengan laju pertumbuhan penduduk sebesar 1,2 persen per tahun (BPS, 2015). Pertumbuhan jumlah penduduk ini tentu saja akan berimplikasi secara signifikan terhadap perkembangan ekonomi dan kesejahteraan negara (Sulistiyawati, 2011). Untuk menahan laju peningkatan jumlah penduduk, Indonesia menggunakan program keluarga berencana. Program ini cukup efektif dalam menurunkan laju pertumbuhan penduduk. Keluarga berencana adalah tindakan yang membantu individu untuk mendapatkan objek – objek tertentu, menghindari kehamilan yang tidak diinginkan, mendapatkan kehamilan yang diinginkan, mengatur interval kehamilan, menentukan jumlah anak dalam keluarga, mengontrol saat kelahiran dalam hubungan dengan umur suami istri (Hanafi, 2003).

Sejak kontrasepsi itu pertama kali ada hingga masa sekarang ini, terutama yang berperan untuk menggunakan kontrasepsi hanyalah kaum wanita saja. Beberapa metode keluarga berencana untuk pria seperti kondom, vasektomi, coitus interruptus, konsepnya telah ada sejak beberapa ratus tahun yang lalu, namun hal tersebut sangat sulit dilaksanakan dan sama sekali tidak efektif dan tidak efisien (Costantino A, et al. 2007).

Usaha pengembangan cara pengendalian kesuburan pria lebih sulit dari

wanita, karena seorang pria setiap hari dapat memproduksi jutaan spermatozoa, sedangkan seorang wanita hanya melepaskan sebuah sel telur setiap bulan. Pil atau suntikan KB untuk pria harus dapat mengendalikan produksi jutaan spermatozoa, tanpa penurunan libido dan efek samping yang membahayakan (Simbala, 2007).

Penelitian tentang antifertilitas dari tumbuhan Sirih (*Piper betle L*) pernah dilakukan, yaitu dengan ekstrak air daun Sirih. Menurut Ratnasooria and Pemakumara (1997) ekstrak air daun Sirih (*Piper belte L*). dapat menghambat kesuburan tikus putih jantan galur secara tidak permanen. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan ekstrak etanol daun Sirih. Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol Daun Sirih (*Piper betle L*) terhadap spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Farmakologi Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado yang dimulai pada Agustus 2016 – Februari 2017. Jenis penelitian ini ialah eksperimen laboratorium. Hewan uji dikelompokkan dalam 4 kelompok masing-masing terdiri dari 6 ekor hewan uji. Kelompok 1 tidak diberi perlakuan dan sebagai kontrol negatif. Kelompok 2-4 diberi perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 200, 400 dan

800 mg. Dosis terlebih dahulu dikonversikan dengan menggunakan faktor konversi Laurence. Kelompok I : Tikus putih tidak diberikan perlakuan (Kontrol); Kelompok II : Tikus putih diberi dosis I (200 mg dikonversikan dalam dosis tikus menjadi 3,6 mg) ekstrak daun sirih sebanyak 1 cc setiap hari; Kelompok III : Tikus putih diberi dosis II (400 mg dikonversikan dalam dosis tikus menjadi 7,2 mg) ekstrak daun sirih sebanyak 1 cc setiap hari; dan Kelompok IV : Tikus putih diberi dosis III (800 mg dikonversikan dalam dosis tikus menjadi 14,4 mg) ekstrak daun sirih sebanyak 1 cc setiap hari.

Daun Sirih yang digunakan diambil di Perumahan Minanga, Minahasa. Daun sirih sebanyak 1500 g berat basah dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan dan ditimbang berat basahnya. Daun yang telah dibersihkan dikering anginkan didalam ruangan selama 5 hari. Sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 200 dan didapatkan serbuk simplisia halus. Daun sirih yang telah menjadi serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan dalam beker gelas kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara serbuk simplisia direndam dalam pelarut etanol 96%, proses maserasi menggunakan etanol sebanyak 2500 mL dan dibiarkan selama 3 hari dengan 3 kali penggantian pelarut. kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang peroleh dievaporasi menggunakan rotary evaporator dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 61,12 g.

Pemberian perlakuan untuk penelitian ini masing-masing konsentrasi menggunakan 6 hewan uji. Ekstrak daun

Sirih diberikan sesuai dosis perlakuan secara oral menggunakan alat penyekok oral (Sonde) dengan *dispo* satu hari sekali 1 cc untuk satu ekor tikus selama 50 hari sesuai siklus spermatogenesis.

Setelah 50 hari, masing-masing hewan uji dikorbankan untuk diambil organ testisnya. Tikus dibius dengan eter, kemudian di bedah. Diambil testisnya kemudian dimasukan kedalam wadah yang berisi larutan formalin 9.1% dan nantinya akan dianalisis di laboratorium.

Sampel preparat melintang tubulus seminiferus yang telah disediakan. Masing-masing sediaan dipilih penampang tubulus seminiferus secara acak. Diamati gambaran histologi dan morfologi dari sampel yang diberikan perlakuan dengan sampel kontrol. Penilaian Spermatogenesis diukur berdasarkan penilaian skor spermatogenesis Johnson pada tubulus seminiferus preparat testis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus* L).

Hasil percobaan yang dianalisis untuk melihat adanya perubahan yang nyata terhadap histologi dan morfologi spermatogenesis dari masing-masing kelompok tikus perlakuan. Analisis data yang diperoleh diolah dengan menggunakan program SPSS uji non-parametik (*Kruskal Wallis*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) terhadap spermatogenesis pada tikus putih jantan galur wistar. Penyiapan preparat melintang testis tikus dilakukan di Laboratorium Pusat Diagnostik Patologi dan Anatomi

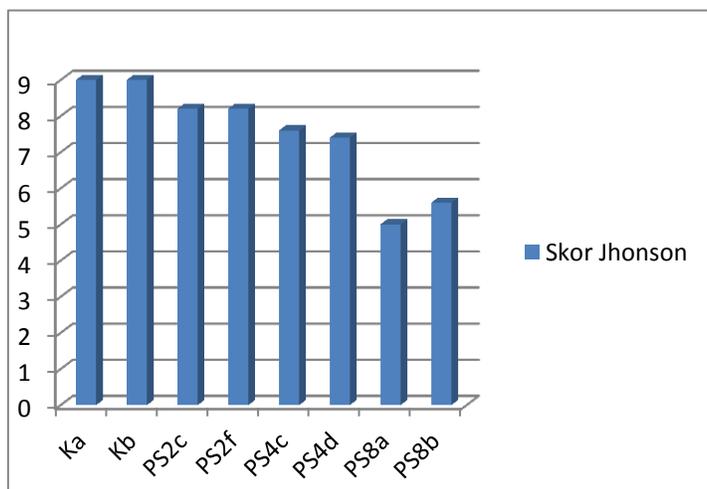
Malalayang Manado. Preparat yang telah tersedia kemudian diamati menggunakan mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan mengambil secara acak 2 sampel dari 6 sampel masing-masing perlakuan.

Pemeriksaan dan penilaian dilakukan dengan pengamatan mikroskopis pada pembesaran 200x dan 400x. Pengamatan dan

pemberian skor dilakukan pada lima lapangan pandang tiap preparat. Skor dari masing masing lapangan pandang dirata-rata, sehingga didapatkan skor untuk masing-masing tikus putih jantan galur wistar. Hasil rerata skor masing masing kelompok kemudian dibandingkan.

Tabel 1. Hasil skoring preparat testis pada masing-masing kelompok percobaan.

PERLAKUAN		LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	Rata-rata
KONTROL	A	9	9	9	9	9	9
	B	9	9	9	9	9	9
PS2	C	8	9	8	8	8	8.2
	F	8	8	8	9	8	8.2
PS4	C	7	9	7	6	9	7.6
	D	6	9	8	6	8	7.4
PS8	A	5	5	5	5	5	5
	B	5	5	6	7	5	5.6



Gambar 1. Histogram Rerata Skor Pada Setiap Kelompok Perlakuan

Tabel 2. *Kruskal-Wallis* hasil skor Jhonson

Test Statistics^{a,b}	
skor	
Chi-Square	29.728
Df	7
Asymp. Sig.	.000
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: perlakuan	

Dari hasil pengujian di atas pada pengujian skor spermatogenesis menunjukkan nilai sig 0,000 ($p > 0.05$) artinya terdapat perbedaan diantara perlakuan secara statistik. Terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Dari hasil yang diperoleh dapat dilihat bahwa skor dari setiap kelompok perlakuan mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dapat dikatakan bahwa kelompok yang diberi perlakuan mengalami perubahan atau gangguan dalam proses spermatogenesis. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa yang terkandung pada daun sirih dapat mengganggu proses spermatogenesis yaitu senyawa alkaloid, flavanoid dan Triterpenoid. Susetyarini (2009) dalam penelitiannya menyampaikan bahwa salah satu kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid dapat menghambat kerja enzim aromatase yang merupakan enzim yang

dapat mengkatalis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormon testosteron yang sangat dibutuhkan dalam spermatogenesis. Dalam tubulus seminiferus, testosteron berfungsi mengontrol spermatogenesis pada pembelahan meiosis dan juga spermiogenesis. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis yaitu tidak melepaskan FSH atau LH, sehingga akan menghambat spermatogenesis (Sutiarso, 1994). Terhambatnya FSH ini akan menyebabkan terganggunya pula proses mitosis dan proliferasi spermatogonia A.

Menurut Mudayatiningsih, *et. al* (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa penurunan kualitas spermatozoa yang meliputi gerakan sperma, viabilitas, macam gerakan akibat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) pada mencit jantan disebabkan oleh kandung bahan ekstrak daun sirih yang mengandung senyawa zat kimia salah satunya tannin dan diastase yang memiliki sifat septik yang dapat menghambat dan mempengaruhi sekresi GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) yang dilakukan oleh system limbik di otak. Fungsi dari hormone GnRH untuk menstimulasi pelepasan hormon gonadotropin hipofisis terhadap FSH dan LH, sehingga apabila terjadi hambatan di GnRH, maka hipofisis anterior sebagai penghasil FSH dan LH juga akan dipengaruhi dan secara tidak langsung akan memengaruhi testis terutama sel sertoli tidak mendapatkan rangsangan hormone testosterone yang di hasilkan oleh sel leydig. Kondisi ini akan mempengaruhi proses spermatogenesis, sehingga kualitas sperma

juga akan terpengaruh. Hal ini juga sesuai dengan teori bahwa obatan-obatan dan ramuan tradisional dapat mempengaruhi kecepatan sekresi GnRH oleh hipotalamus yang akan mempengaruhi mekanisme feed back negatif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan bahwa ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle* L) berpengaruh terhadap proses spermatogenesis pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), dan pada hasil pemberian skor johnson penampang melintang testis yang di uji menggunakan uji *Kruskal-Wallis* pada taraf uji 0,05 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara pemberian skor kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

SARAN

1. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut pada daun sirih menggunakan metode yang berbeda agar didapatkan informasi lebih mendalam sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.
2. Disarankan untuk fraksinasi senyawa spesifik yang terdapat dalam daun sirih yang bersifat sebagai antifertilitas.

DAFTAR PUSTAKA

Austin, C.R., and Short, R.V. 1982. *Reproduction in Mammals : Book I, Germ Cells and Fertilization 2nd Edition*. Inggris: University Press Cambrigde.

Baker DEJ, Lindsey JR and Weisbroth SH, 1979. *The Laboratory Rat Vol 1.*

Biology and Disease. Academic Press 276 pp.

- Clermont, Y.1962. Quantitative analysis of Spermatogenesis of Rat: A revised model for renewal of spermatogonia. *Am. J. anat.* 111:11-127
- Costantino A , Cerpolini S , Perrone AM , Ghi T , Pelusi C , Pelusi G , Merigiola MC. 2007. *Current status and future perspectives in male contraception*. *Minerva Ginecologica*. 59(3):299-310
- Daniel, M. 2015. *Taksonomi: Perjalanan Evolusi*. Jakarta: EGC.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Duke, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J., duCellier, J., and Duke, P. K. 2002. *Handbook of Medicinal Herbs Second Edition*. Florida: CRC Press LLC.
- Fawcett, D. W. 2002. *Buku Ajar Histologi Bloom & Fawcetr 12th Edition*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Garner, D.L., and E.S.E. Hafez., 1987. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: *Reproduction in farm Animals*. Ed Hafez E.S.E, 1987. Ed 5th. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia Edisi ke dua*. Bandung : ITB.
- Harkness J.E. dan J.E. Wagner. 1989. *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*. Philadelphia : Lea and Febiger.

- Hartono. 1988. *Histologi Veteriner Jilid II*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Heffner, L. J., Schust, D.J. 2005. *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi 2*. Jakarta: Erlangga.
- Ilyas, S. 2007. Azoospermia dan Pemulihan Melalui Regulasi Apoptosis Sel Spermatogenik Tikus (*Rattus sp.*) Pada Penyuntikan Kombinasi TU & MPA. Disertasi. Program doctor Ilmu Biomedik FKUI.
- Krinke, J.G. 2000. *The Laboratory Rat First Edition*. United State: Academic Press.
- Mudayatiningsih, S., Dewi, E. S., Suryandari, H., dan Isnaeni. 2015. Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) Dan Kualitas Spermatozoa Pada Mencit (*Mus musculus*). Jurnal Informasi Kesehatan Indonesia (JIKI). 1 (2) : 127-136.
- Pramono, R. 2015. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn.) Terhadap Gambaran Histopatologi Dan Ketebalan Tubulus Seminiferus (Testis). Thesis. Fakultas Kedokteran UNISSULA
- Ratnasooriya, W. D., and Premakumara. G. a. s. 1997. *Piper betle* Leaves Reversibly Inhibits Fertility of Male Rats. Vidyodaya Journal of Science. Vol 7 : 15-21.
- Satriyasa, B, K. 2005. Fraksi Heksan Ekstrak Biji Pepaya Muda Dapat Menghambat Proses Spermatogenesis Mencit Jantan Lebih Besar Daripada Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda.
- Sherwood, L. 2007. *Human physiology from cells to systems 6th Edition*. California: Thomson Higher Education
- Sirait, M., Loohu, E., dan Sutrisno, R.B. 1980. *Materi Medika Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Dirjen POM, Departemen Kesehatan RI.
- Smith, J.B. dan Mangkoewidjojo S. 1987. *The Laboratory Rat (Rattus norvegicus)*. In: *The Care, Breeding and Management of Experimental Animals for Research in The Topiks*. J.B. Smith (Edt.) IDP. Australia p.36-52. Sulistyawati, A. 2011. *Pelayanan Keluarga Berencana*. Jakarta: Salemba
- Susetyarini, R., E. 2009. Efek senyawa aktif daun beluntas terhadap kadar testoteron Tikus putih (*Ratus norvegicus*) jantan. GAMMA. 5 (1): 21 – 27.
- Sutyarso, dkk. 1994. Efek anti fertilitas ekstrak buah pare (*M. charantia* L.) pada mencit jantan. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 44 (12). Hal. 729–735.
- Syamsu, H., dan Hutapea, J. R. 1997. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Depkes RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Jakarta.
- Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Penerbit Angsa.
- Wischnitzer, S. 1967. *Anatomy of The Cat: Atlas and Dissection Guide for*

Comparative Anatomy 2nd
Edition. Francisco: W.H. Freeman
and Company.