

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Pare (*Momordica charantia* L) Terhadap Jaringan Tubulus Seminiferus Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)

The Effect Extract Ethanol of Bitter Melon (*Momordica charantia* L) Consumption on The Thickness of Tubulus Seminiferous in Mice

¹Nadiyya Yasmin, ²R.B. Soeherman, ³Wida Purbaningsih

¹Prodi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, ²Departemen Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, ³Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung

Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email:¹nadiyyayasmin@gmail.com, ²bambangsoeherman@yahoo.com, ³Widapurbaningsih@gmail.com

Abstract. One of the effort to reduce the increasing population is the use of contraception. However the use of male contraception is still not effective. In order to increase the uses, research has to be done. Bitter melon is traditional plant that can be used as contraception because it has cucurbitacin inside. The purpose of this study was to determine the effect of bitter melon fruit on the thickness of the seminiferous tubules in male mice that give the effect of infertility. The study was conducted at the medical biology laboratory of the Faculty of Medicine, University of Padjadjaran on May 17 to June 20, 2018. Measurement of the thickness of the seminiferous tubules starts from spermatogonia at the basal layer to the spermatid head at the distal lumen. Subjects used were 28 male mice, divided into four groups; negative control group, treatment 1 (P1) given a dose of 280 mg/kgBW/day, treatment 2 (P2) given a dose of 560 mg/kgBW/day and treatment 3 (P3) given a dose of 1,120 mg/kgBW/day. The thickness of the normal seminiferous tubules in mice is 54-62 μ m. From the results of the one way ANOVA hypothesis test, consumption of ethanol extract of bitter melon can reduce the thickness of the seminiferous tubules, with a thickness reaching 39.56 μ m at an optimal dose of 1,120 mg/kgBW/day. Cucurbitacin active substance has a structure similar to steroids so it can reduce testosterone levels and affect spermatogenesis. Decreased spermatogenic cells cause a decrease in the thickness of the seminiferous tubule.

Keywords: extract ethanol of bitter melon, thickness of tubulus seminiferous.

Abstrak. Salah satu upaya untuk mengurangi peningkatan penduduk yaitu dengan menggunakan kontrasepsi. Namun penggunaan kontrasepsi pria masih minim, sehingga diperlukan upaya untuk meningkatkan penggunaan kontrasepsi pria. Buah pare merupakan tanaman tradisional yang dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi karena mengandung kukurbitasin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh buah pare terhadap ketebalan tubulus seminiferus pada mencit jantan sehingga memberikan efek infertil. Penelitian dilakukan di laboratorium biologi medik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran pada 17 Mei sampai 20 Juni 2018. Pengukuran ketebalan tubulus seminiferus dimulai dari spermatogonia pada lapisan basal sampai dengan kepala spermatid pada distal lumen. Subjek penelitian yang digunakan adalah 28 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi empat kelompok; kelompok kontrol negatif, perlakuan 1 (P1) yang diberi dosis 280 mg/kgBB/hari, perlakuan 2 (P2) yang diberi dosis 560 mg/kgBB/hari dan perlakuan 3 (P3) yang diberikan dosis 1.120 mg/kgBB/hari. Ketebalan tubulus seminiferus normal pada mencit adalah 54-62 μ m. Dari hasil uji hipotesis *one way ANOVA*, pemberian ekstrak etanol pare dapat menurunkan ketebalan tubulus seminiferus secara keseluruhan, dengan ketebalan mencapai 39,56 μ m pada dosis optimal 1.120 mg/kgBB/hari. Zat aktif kukurbitasin mempunyai struktur mirip dengan steroid sehingga dapat menurunkan kadar testosteron dan mempengaruhi spermatogenesis. Sel spermatogenik yang menurun menyebabkan penurunan ketebalan tubulus seminiferus.

Kata Kunci: ekstrak etanol buah pare, ketebalan dinding tubulus seminiferus.

A. Pendahuluan

Penduduk dunia mencapai 7,6 triliun pada pertengahan 2017. Peningkatan pertumbuhan penduduk terjadi di negara yang masih berkembang. Asia menyumbangkan 60% dari populasi dunia dan menjadi wilayah dengan tingkat kepadatan penduduk paling padat di dunia. Indonesia menempati urutan ke 4 dari 10 negara dengan populasi terbanyak di dunia.¹

Peningkatan jumlah penduduk memberikan pengaruh besar terhadap lingkungan karena penggunaan sumber daya alam. Peningkatan jumlah penduduk tidak sebanding dengan ketersediaan sumber daya alam. Hal tersebut mengakibatkan kompetisi dalam mendapatkannya. Upaya untuk menurunkan peningkatan jumlah penduduk telah dilakukan, salah satunya dengan penggunaan kontrasepsi.²

Menurut Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) pada tahun 2012 penggunaan kontrasepsi di Indonesia sudah menunjukkan angka yang baik. Namun penggunaan kontrasepsi masih banyak dilakukan oleh wanita. Partisipasi pria masih tergolong rendah dalam mendukung program penggunaan kontrasepsi.³ Partisipasi pria yang rendah dikarenakan oleh berbagai aspek, meliputi faktor pengetahuan, sikap dan aksesibilitas terhadap pelayanan kontrasepsi. Pelayanan yang tersedia bagi kontrasepsi pria memiliki keterbatasan. Seperti kondom yang mengurangi kenikmatan dalam berhubungan seksual dan tidak nyaman dipakai.^{4,5}

Ketersediaan kontrasepsi yang efektif dan fasilitas yang terjangkau diperlukan untuk meningkatkan partisipasi pria. Bahan kontrasepsi yang berasal dari tanaman memiliki berbagai keuntungan, antara lain toksisitas yang rendah, mudah diperoleh dan harganya murah.⁴

Tanaman pare (*Momordica charantia L*) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai efek spermisid. Pemberian ekstrak pare dapat menurunkan kadar testosteron mencit, yang kemudian berpengaruh pada penurunan kualitas sperma dan jumlah sel spermatogenik.⁶

Pada penelitian oleh Panas Tumkiratiwong pada tahun 2014, pemberian 400mg ekstrak biji pare pada tikus jantan Wistar secara per oral selama 42 hari menunjukkan efek infertilitas. Bahan aktif ekstrak, yaitu kukurbitasin dapat menurunkan jumlah dan motilitas spermatozoa karena kandungannya mirip dengan steroid. Setelah 14 hari pemberian ekstrak pare, infertilitas menjadi normal kembali. Hal tersebut menjadi keuntungan, karena ekstrak pare tidak menimbulkan infertilitas permanen.⁷

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol pare (*Momordica charantia L*) terhadap ketebalan tubulus seminiferus pada mencit jantan.

B. Metode

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium murni in vivo, dengan memberikan intervensi kepada hewan coba. Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dilakukan pada mencit jantan (*Mus musculus*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Sebelumnya telah disetujui oleh komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor: 214/Komite Etik.FK/III/2018.

Mencit yang digunakan sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi, yaitu mencit jantan (*Mus musculus*) dengan berat 20-40 gram, sehat dan usia 4-8 minggu. Pembuatan ekstrak etanol pare dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran, Bandung.

Dosis yang diambil dari penelitian Panas Tumikiratiwong didapatkan dosis ekstrak pare optimal dalam menurunkan kualitas sperma tikus adalah 400 mg. Dosis tikus tersebut kemudian di konversi dengan tabel Laurence dan Bacharach, dan didapatkan dosis 400 mg pada tikus sama dengan 560 mg pada mencit. Maka pada penelitian ini dibagi menjadi tiga dosis yaitu 280 mg/kgBB, 560 mg/kgBB dan 1.120 mg/kgBB.

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 6 mencit, yaitu kelompok kontrol (kelompok I) diberikan akuades 0,5 mL dan pakan mencit CP551 selama 35 hari yang kemudian dibedah untuk dilihat testisnya; kelompok perlakuan I (kelompok II) diberikan ekstrak etanol pare dengan dosis 280mg/kgBB/hari selama 35 hari yang kemudian dibedah untuk dilihat testisnya; kelompok perlakuan II (kelompok III) diberikan ekstrak etanol pare dengan dosis 560 mg/kgBB/hari selama 35 hari; kelompok perlakuan III (kelompok IV) diberikan ekstrak etanol pare dengan dosis 1.120 mg/kgBB/hari.

Semua kelompok mencit setelah 35 hari akan dilihat kualitas tubulus seminiferus pada hari ke 36. Mencit terlebih dahulu dilakukan dislokasi *cervical*, setelah mencit mati, ambil dan taruh diatas papan bedah dengan posisi telentang. Kemudian dibedah dan diambil testis dan dimasukkan ke tabung berisi cairan formalin.

Pembuatan preparat tubulus seminiferus yang diambil dari jaringan testis dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Pembuatan preparat terlebih dahulu dengan melakukan fiksasi dalam 10% solusi formalin netral melalui teknik parafin. Bagian yang diambil kemudian diwarnai dengan hematoxylin dan eosin.

Pengukuran ketebalan dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung. Preparat terlebih dahulu di lihat melalui *software OptiLab* pada pembesaran 400x dan simpan foto tubulus seminiferus. Setelah itu dilakukan pengukuran ketebalan tubulus seminiferus melalui *software Image Raster* dengan satuan μm . Pengukuran dilakukan dengan memasukkan foto tubulus seminiferus kemudian pilih *measure* sampai kotak *measurement tools* muncul. Pilih *line* dan arahkan kursor pada spermatogonia sampai kepala spermatid. Hasil panjang pengukuran akan tampil pada kotak *length*.

Semua data yang diperoleh dinilai terlebih dahulu menggunakan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui distribusi data dan uji *Levene's* untuk uji homogenitas data. Selanjutnya uji hipotesis di lakukan dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk pengukuran pada sampel pada tingkat kepercayaan 95%. Kemudian dilakukan analisis *Post Hoc Duncan* untuk mengetahui kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna. Uji statistic penelitian ini menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS).

C. Hasil Penelitian

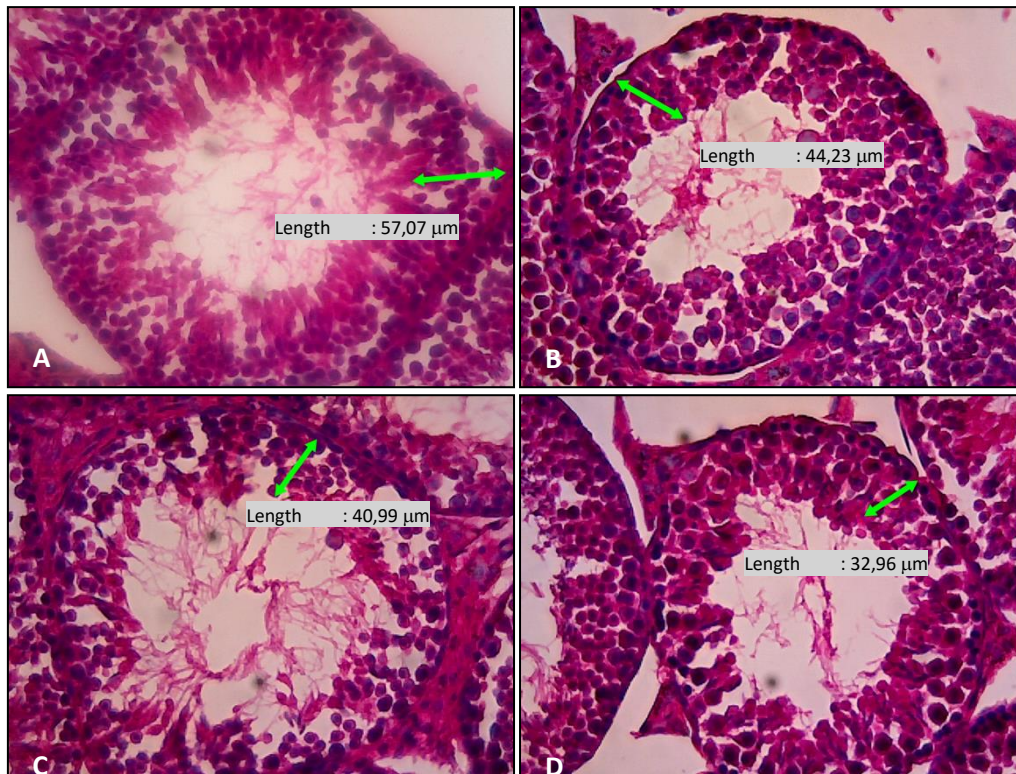
Pengujian dilakukan terhadap empat kelompok mencit jantan dengan perlakuan yang berbeda untuk melihat ketebalan tubulus seminiferus. Pada setiap kelompok digunakan enam mencit jantan yang diukur sebanyak 10 kali ulangan untuk melihat rerata tubulus seminiferus setiap mencit

Hasil pemeriksaan ketebalan tubulus seminiferus kelompok I pada mencit yang diberi akuades dan pakan CP 551 di tunjukkan oleh Gambar 1.

Pada Gambar 1 bagian (A), susunan sel spermatogonia tersusun rapi dan melingkar. Rerata ketebalan pada kelompok kontrol adalah 55,00 μm . Ketebalan tubulus

seminiferus normal pada mencit adalah 54 sampai 62 μm . Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok kontrol normal.

Hasil pemeriksaan ketebalan tubulus seminiferus kelompok II pada mencit yang diberi ekstrak pare 280mg/kgBB/hari dan pakan CP551 di tunjukkan oleh Gambar 1. Pada Gambar 1 bagian (B), sel spermatogonia pada lapisan basal tersusun rapih. Rerata ketebalan pada kelompok P1 adalah 46,82 μm , menunjukkan adanya penurunan akibat pemberian buah pare. Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P1 dibawah nilai normal.



Gambar 1 Struktur tubulus seminiferus mencit jantan kelompok perlakuan 1 (P1), pewarnaan HE dan pembesaran 400x. Keterangan: (A) Kontrol, (B) P1, (C) P2, (D) P3

Hasil pemeriksaan ketebalan tubulus seminiferus kelompok III pada mencit yang diberi ekstrak pare 560mg/kgBB/hari dan CP 551 di tunjukkan oleh Gambar 1. Pada Gambar 1 bagian (C), terlihat sel spermatogonia tidak tersusun secara rapih dan terdapat jarak antar sel. Rerata ketebalan tubulus seminiferus kelompok P2 adalah 43,38 μm . Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P2 dibawah nilai normal.

Hasil pemeriksaan rerata ketebalan tubulus seminiferus kelompok IV pada mencit yang diberi ekstrak pare 1.120mg/kg/BB dan pakan CP 551 di tunjukkan oleh Gambar 1. Pada Gambar 1 bagian (D), sel spermatogonia pada lapisan basal tidak tersusun rapih, terdapat jarak antar sel dan lumen yang luas. Rerata ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P3 adalah 39,56 μm . Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P3 dibawah nilai normal.

Hasil perhitungan rerata dari empat kelompok mencit menunjukkan ketebalan yang berbeda pada setiap kelompoknya.

Tabel 1 Perbandingan rerata ketebalan tubulus seminiferus pada empat kelompok

Kelompok	Ketebalan Tubulus Seminiferus (μm)
Kontrol (Akuades 0,5 mL + CP 551)	55,00
Perlakuan 1 (Ekstrak Pare 280 mg/kgBB/ hari + CP 551)	46,82
Perlakuan 2 (Ekstrak Pare 560 mg/kgBB/ hari + CP 551)	43,38
Perlakuan 3 (Ekstrak Pare 1.120 mg/kgBB/ hari + CP 551)	39,56

Berdasarkan tabel 1 di atas, diketahui bahwa pada perlakuan 3 (ekstrak pare 1.120mg/kgBB/hari) menghasilkan ketebalan tubulus seminiferus paling rendah di antara kelompok lain, yakni ketebalan rerata sebesar 39.56 μm . Sedangkan ketebalan tertinggi dihasilkan oleh kelompok kontrol dengan rerata ketebalan 55,00 μm .

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas varians menunjukkan hasil data yang berdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen, sehingga dilanjutkan untuk uji *Anova*.

Uji hipotesis dilakukan melalui uji *one way Anova*. Hipotesis perbandingan antar kelompok yang akan diuji adalah sebagai berikut:

H0: Pemberian ekstrak etanol pare tidak menurunkan ketebalan tubulus seminiferus pada mencit jantan

H1: Pemberian ekstrak etanol pare dapat menurunkan ketebalan tubulus seminiferus pada mencit jantan.

Tabel 2 Hasil One Way ANOVA

Ketebalan Tubulus Seminiferus	JK	db	KT	F hitung	F tabel	P-value
Perlakuan	779,774	3	259,925	34,801	3,098	0,000*
Kekeliruan	149,377	20	7,469			
Total	929,151	23				

Dari tabel 2 diatas diperoleh nilai F hitung sebesar 34,801 dan *p-value* sebesar 0,000000039. Dengan $\alpha=0,05$, derajat bebas $db_1=3$ dan $db_2=20$, diperoleh nilai F tabel sebesar 3,098.

Dari nilai-nilai yang didapatkan diketahui bahwa nilai F hitung > F tabel dan *p-value* yang didapatkan < 0,05. Maka kesimpulannya adalah menolak H0 dan menerima H1, pemberian ekstrak etanol pare dapat menurunkan ketebalan tubulus seminiferus pada mencit jantan.

Untuk mengetahui kelompok mencit yang mengalami perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan tes *Post Hoc Duncan*.

Tabel 3 Hasil Uji *Duncan*

Kelompok	n	Pengelompokkan			
		1	2	3	4
Perlakuan 3	6	39,56			
Perlakuan 2	6		43,38		
Perlakuan 1	6			46,82	
Kontrol	6				55,00

Berdasarkan tabel 3, didapatkan hasil ketebalan terendah pada kelompok Perlakuan 3, dan secara berurutan oleh kelompok Perlakuan 2, kelompok Perlakuan 1 dan kelompok Kontrol. Ketebalan tubulus seminiferus pada keempat kelompok dinyatakan berbeda signifikan antara satu kelompok dengan kelompok lain.

D. Pembahasan

Ketebalan tubulus seminiferus kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah zat aktif kukurbitasin. Zat aktif tersebut mempunyai struktur dasar seperti steroid yaitu *siklopentana pehidrofenatrena*. Kandungan zat tersebut dapat mempengaruhi hormon testosteron.⁷

Pada gambar 1 (D) terlihat susunan sel epitel germinal tidak tersusun secara melingkar, beberapa diantaranya tidak ada sel spermatogonia. Hal tersebut disebabkan karena kukurbitasin dapat menghambat proses mitosis sehingga perkembangan sel epitel germinal terhambat bahkan rusak. Didukung oleh penelitian dari Siti dkk, kukurbitasin yang mempunyai struktur seperti steroid, dapat menghambat 17- β -hidroksisteroidoksireduktase yaitu enzim yang dibutuhkan dalam sintesis androsendion menjadi testosteron. Defisiensi pada enzim tersebut mengakibatkan penurunan kadar testosteron yang berakibat pada terganggunya proses spermatogenesis. Penurunan jumlah sel-sel spermatogenik akan menyebabkan berkurangnya ketebalan tubulus seminiferus.⁸

Selain kukurbitasin, zat lain pada buah pare yaitu saponin, triptenoid dan alkaloid merupakan prekursor dalam sintesis steroid. Pada penelitian Aisatul, zat tersebut diduga masuk ke dalam jalur biosintesis testosteron dan bekerja secara kompetitif pada reseptor jaringan sasaran untuk menghalangi aksi steroid androgen.⁹

Penelitian yang dilakukan oleh Satriyasa yang menggunakan ekstrak biji pepaya muda dengan pelarut heksan menghasilkan kandungan bahan aktif triptenoid dan steroid. Bahan aktif tersebut mengandung hormon progesteron (P4) dan estradiol (E2). Estradiol menyebabkan penekanan terhadap hipotalamus dan hipofisis anterior menyebabkan GnRH dan hormon Gonadotrophin (FSH dan LH) terhambat. Sedangkan progesteron akan menghambat sekresi FSH yang menyebabkan gangguan proses spermatogenesis.¹⁰

Penurunan FSH akan menyebabkan perubahan struktur sitoskeletal sel sertoli sehingga mengurangi kemampuan dalam mengikat spermatid. Sedangkan hormon testosteron akan menyebabkan penurunan daya adhesi antara sel spermatid dengan sel sertoli. FSH turut berperan dalam pematangan spermatid menjadi spermatozoa selama spermatogenesis. Penurunan FSH dan testosteron akan menyebabkan sintesis protein spermatid terganggu, sehingga menyebabkan sel spermatid degenerasi.¹⁰

Pada penelitian ini didapatkan perubahan ketebalan tubulus seminiferus sejak pemberian dosis pertama yaitu 280 mg/kgBB/hari. Seperti pada gambar 1 bagian B,C dan D, penurunan ketebalan tubulus ditunjukkan dengan menurunnya sel-sel

spermatogenik. Hal ini di perkuat dengan analisis data setiap kelompok perlakuan. Penurunan tubulus seminiferus dapat mengakibatkan penurunan kualitas sperma. Ekstrak etanol pare bersifat infertil yang reversibel, sehingga dapat menjadi alternatif obat kontrasepsi bagi pria. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar lanjutan atau pembaharuan pada penelitian selanjutnya sehingga mendapatkan hasil yang lebih akurat.

E. Simpulan

Pemberian ekstrak etanol pare dapat menurunkan ketebalan tubulus seminiferus. Dosis optimal yang dapat menyebabkan ketebalan tubulus seminiferus paling tipis adalah 1.120 mg/kgBB/hari.

Ucapan Terima Kasih

Saya ucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian ini, yaitu pihak Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung yang telah mendukung berbagai proses sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

Daftar Pustaka

- United Nations Development Programe. World Population Prospects. Data booklet. 2017;1–10.
- A. FM, Leon S. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Edisi ke-8. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins; 2015
- Pusat Data dan Informasi, Kementrian Kesehatan RI. Situasi dan Analisis Keluarga Berencana. 2014;1–8.
- Ahmad A. Frekuensi dan Determinan Kontrasepsi Pria di Indonesia. *J Kes Masy Nas.* 2009;3(5):201–205.
- Musafaah, Noor F. Faktor Struktural Keikutsertaan Pria Dalam Ber-Keluarga Berencana (Kb) Di Indonesia. *Bul Pen Kes.* 2012;40(323):154–161.
- Astuti Y, Fitriana S, Rahayu NS. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica charantia L*) terhadap Motilitas dan Morfologi Sperma Mencit. *Mutiara Med J Kedokt dan Kesehat.* 2016;9(1):26–32.
- Tumkiratiwong P, Ploypattarapinyo R, Pongchairerk U, Thong-asa W. Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. *Iran J Reprod Med.* 2014;12(10):695–704.
- Cholifah S, Arsyad, Salni. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia , L*) Terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Jantan. *MKS.* 2014;(2):149–157.
- Jannah A. Pengaruh pemberian buah pare (*Momordica charantia L*) terhadap proses spermatogenesis mencit (*Mus musculus*) (tesis). Malang: Universitas Islam Negri Malang; 2009.
- Komang BS. Fraksi Heksan Ekstrak Biji Pepaya Muda Dapat Menghambat Proses Spermatogenesis Mencit Jantan Lebih Besar Daripada Fraksi Metanol Ekstrak Biji Papaya Muda. *Indo J Biomed Sci.* 2012;2(2).