

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Pare (*Momordica charantia L*) terhadap Jaringan Tubulus Seminiferus pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)Nadiyya Yasmin,¹ Miranti Kania Dewi,² R.A. Retno Ekowati,³
Wida Purbaningsih,⁴ R.B. Soeherman⁵¹Program Studi Pendidikan Dokter, ²Departemen Farmakologi, ³Departemen Biologi Medik,
⁴Departemen Histologi, ⁵Departemen Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung**Abstrak**

Salah satu upaya 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 penelitian ini adalah 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 μm . Dari hasil uji hipotesis *one way* ANOVA, pemberian ekstrak etanol pare menurunkan ketebalan tubulus seminiferus secara keseluruhan, dengan ketebalan mencapai 39,56 μm pada dosis optimal 1.120 mg/kgBB/hari. Zat aktif kukurbitasin mempunyai struktur mirip dengan steroid sehingga dapat menurunkan kadar testosteron dan memengaruhi spermatogenesis. Sel spermatogenik yang menurun menyebabkan penurunan ketebalan tubulus seminiferus.

Kata kunci: Ekstrak etanol buah pare, ketebalan dinding tubulus seminiferus**The Effect Extract Ethanol of Bitter Melon (*Momordica charantia L*) Consumption on the Thickness of Tubulus Seminiferous in Mice****Abstract**

One effort to reduce the increase in population is to use contraception. However, the use of male contraception is still minimal, so efforts are needed to increase the use of male contraception. Bitter melon is a traditional plant that can be used as a contraceptive because it contains kukurbitasin. The purpose of this study was to determine the effect of bitter melon on the thickness of the seminiferous tubules in male mice so that it gives an infertile effect. The study was conducted at the Medical Biology Laboratory of the Faculty of Medicine, Padjadjaran University on May 17 to June 20, 2018. Measurement of seminiferous tubule thickness starts from spermatogonia in the basal layer to the head of spermatids in the distal lumen. The research subjects used were 28 male mice which were divided into four groups; negative control group, treatment 1 (P1) who were given a dose of 280 mg/kgBB/day, treatment 2 (P2) were given a dose of 560 mg/kgBB/day and treatment 3 (P3) were given a dose of 1,120 mg/kgBB/day. The thickness of the normal seminiferous tubules in mice is 54–62 μm . From the results of the one way ANOVA hypothesis test, administration of bitter melon ethanol extract decreased the thickness of the seminiferous tubules as a whole, with a thickness reaching 39.56 μm at an optimal dose of 1,120 mg/kgBB/day. The active ingredient kukurbitasin has a structure similar to steroids so that it can reduce testosterone levels and affect spermatogenesis. Decreased spermatogenic cells cause a decrease in the thickness of the seminal tubules.

Keywords: Extract ethanol of bitter melon, thickness of tubulus seminiferous**Korespondensi:** Nadiyya Yasmin. Program Studi Pendidikan Dokter. Alamat: Jl. Tamansari No.20, Bandung 40116, Provinsi Jawa Barat Telepon: 022 4203368 Faksimile: 022 4203368 Email: nadiyyayasmin@gmail.com.

Pendahuluan

Penduduk dunia mencapai 7,6 triliun pada pertengahan 2017. Peningkatan pertumbuhan penduduk terjadi di negara yang masih berkembang. Asia menyumbang 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 akan memberikan pengaruh yang besar terhadap lingkungan dikarenakan 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

Berdasar atas Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) pada tahun 2012 penggunaan kontrasepsi di Indonesia sudah memperlihatkan angka yang baik, namun penggunaan kontrasepsi terutama 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 pada pria. Bahan kontrasepsi yang berasal dari tanaman memiliki berbagai keuntungan, antara lain toksisitas yang rendah, mudah diperoleh, dan harganya murah.⁴

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

Pada penelitian dilakukan oleh Tumkiratiwong dkk.⁷ pemberian 400 mg ekstrak biji pare pada tikus jantan Wistar secara per oral selama 42 hari menunjukkan efek infertilitas. Bahan aktif ekstrak, yaitu kuku bitasin 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.

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

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 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 Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan Nomor: 214/Komite Etik.FK/III/2018.

Mencit yang digunakan sesuai dengan kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi, yaitu mencit jantan (*Mus musculus*) dengan bobot 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 Tumkiratiwong dkk.⁷ didapatkan dosis ekstrak pare optimal dalam menurunkan kualitas sperma tikus adalah 400 mg. Dosis tikus tersebut kemudian dikonversi dengan tabel Laurence dan Bacharach dan didapatkan dosis 400 mg pada tikus sama dengan 560 mg pada mencit. Pada penelitian ini dosis dibagi menjadi tiga, yaitu 280 mg/kgBB, 560 mg/kgBB, dan 1.120 mg/kgBB.

Mencit dibagi menjadi empat kelompok dengan kelompok masing-masing 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 280 mg/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 dilihat kualitas tubulus seminiferusnya pada hari ke-36. Mencit terlebih dahulu dilakukan dislokasi servikal, setelah mencit mati, ambil dan taruh di atas papan bedah dengan posisi telentang. Kemudian, dibedah dan diambil testis dan dimasukkan ke dalam tabung berisi cairan formalin.

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

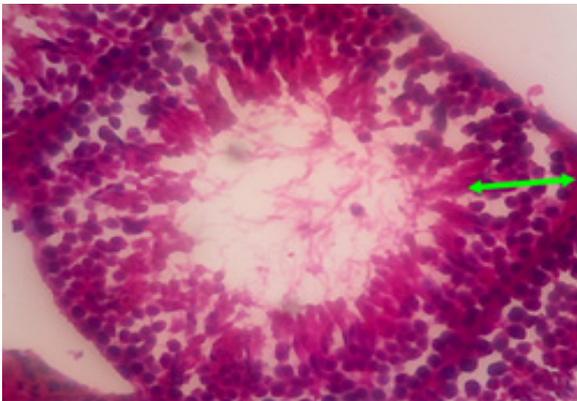
Pengukuran ketebalan dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung. Preparat terlebih dahulu dilihat melalui *software OptiLab* pada pembesaran 400x dan simpan foto tubulus seminiferus. Setelah itu, dilaksanakan pengukuran ketebalan tubulus seminiferus melalui *software image raster* dengan satuan μm . Pengukuran dilakukan dengan cara 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 dengan menggunakan Uji Shapiro Wilk untuk mengetahui distribusi data dan Uji Levene untuk uji homogenitas data. Selanjutnya, uji hipotesis dilakukan

menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) untuk pengukuran pada sampel dengan tingkat kepercayaan 95%. Kemudian, dilakukan analisis *Post Hoc Duncan* untuk mengetahui kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna. Uji statistik penelitian ini menggunakan program *statistical product and service solutions* (SPSS).

Hasil

Pengujian dilaksanakan 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 ditunjukkan pada Gambar 1.



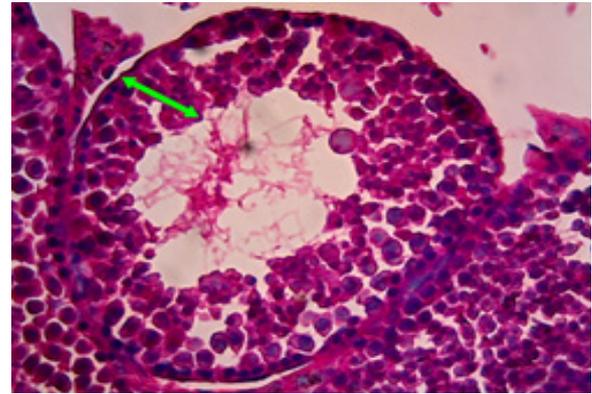
Gambar 1 Struktur Tubulus Seminiferus Mencit Jantan Kelompok Kontrol, Pewarnaan HE, dan Pembesaran 400x

Keterangan: ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok kontrol memiliki ukuran yang normal

Gambar 1 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 280 mg/kgBB/hari dan pakan CP551 di tunjukkan pada Gambar 2.

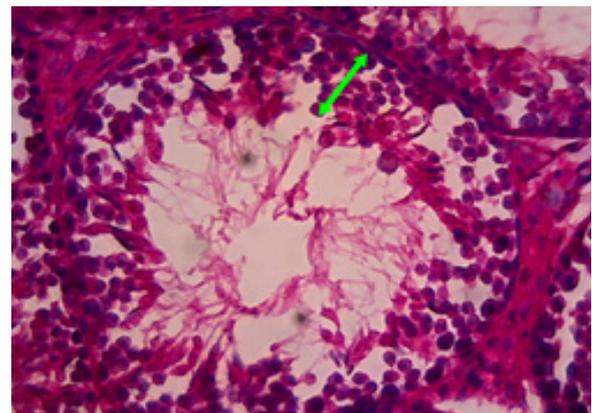
Pada Gambar 2 sel spermatogonia pada lapisan basal tersusun rapih. Rerata ketebalan pada kelompok P1 adalah 46,82 μm menunjukkan penurunan akibat pemberian buah pare. Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P1 di bawah nilai normal.



Gambar 2 Struktur Tubulus Seminiferus Mencit Jantan Kelompok Perlakuan 1 (P1), Pewarnaan HE, dan Pembesaran 400x

Keterangan: terjadi penurunan ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P1

Hasil pemeriksaan ketebalan tubulus seminiferus kelompok III pada mencit yang diberi ekstrak pare 560 mg/kgBB/hari dan CP 551 ditunjukkan pada Gambar 3.

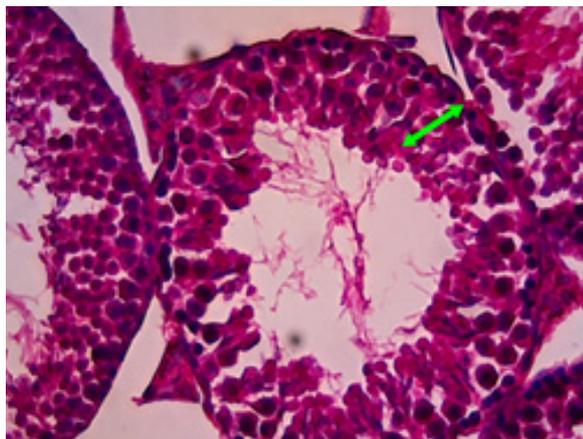


Gambar 3 Struktur Tubulus Seminiferus Mencit Jantan Kelompok Perlakuan 2 (P2), Pewarnaan HE, dan Pembesaran 400x

Keterangan: ketebalan tubulus seminiferus menurun dibandingkan dengan kelompok P1

Pada Gambar 3 terlihat sel spermatogonia tidak tersusun secara rapih dan terdapat jarak antarsel. Rerata ketebalan tubulus seminiferus kelompok P2 adalah 43,38 μm . Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P2 di bawah nilai normal.

Hasil rerata ketebalan tubulus seminiferus kelompok IV pada mencit yang diberi ekstrak pare 1.120 mg/kg/BB dan pakan CP 551 ditunjukkan pada Gambar 4. Sel spermatogonia pada lapisan basal tidak tersusun rapih dan terdapat jarak antarsel dan lumen yang luas. Rerata ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P3 adalah 39,56 μm . Ketebalan tubulus seminiferus pada kelompok P3 di bawah nilai normal.



Gambar 4 Struktur Tubulus Seminiferus Mencit Jantan Kelompok Perlakuan 3 (P3), Pewarnaan HE, dan Pembesaran 400x

Keterangan: penurunan ketebalan paling rendah didapatkan pada kelompok P3

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

Berdasar atas Tabel 1 diketahui bahwa pada perlakuan 3 (ekstrak pare 1.120 mg/kgBB/hari) menghasilkan ketebalan tubulus seminiferus paling rendah di antara kelompok lain, yakni ketebalan rerata 39,56 μm , sedangkan ketebalan tertinggi dihasilkan pada 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 dengan uji ANOVA.

Tabel 2 Hasil One Way ANOVA

Ketebalan Tubulus Seminiferus	JK	db	KT	F hitung	F tabel	Nilai p
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 diperoleh nilai F hitung sebesar 34,801 dan nilai p sebesar 0,000000039. Dengan $\alpha=0,05$, derajat bebas $db_1=3$ dan $db_2=20$, diperoleh nilai F tabel sebesar 3,098. Simpulan pemberian ekstrak etanol pare 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

Berdasar atas 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 dan kelompok lain.

Pembahasan

Ketebalan tubulus seminiferus tersebut 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 memengaruhi oleh hormon testosteron.⁷

Pada Gambar 4 terlihat susunan sel epitel germinal tidak tersusun secara melingkar, beberapa di antaranya tidak ada sel spermatogonia. Hal tersebut disebabkan oleh kukurbitasin dapat menghambat proses mitosis sehingga perkembangan sel epitel germinal terhambat bahkan rusak. Keadaan ini sesuai dengan penelitian Cholifah dkk.⁸ kukurbitasin yang mempunyai struktur seperti steroid dapat menghambat 17- β -hidroksisteroidoksido reduktase, yaitu enzim yang dibutuhkan dalam sintesis androsendion menjadi testosteron. Defisiensi enzim tersebut mengakibatkan penurunan kadar testosteron yang berakibat mengganggu proses spermatogenesis. Penurunan jumlah sel-sel spermatogenik akan mengurangi ketebalan tubulus seminiferus.

Selain kukurbitasin, zat lain pada buah pare, yaitu saponin, triptenoid, serta alkaloid merupakan prekursor dalam sintesis steroid. Pada penelitian Jannah⁹ zat tersebut diduga masuk ke dalam jalur biosintesis testosteron dan bekerja secara kompetitif pada reseptor jaringan sasaran untuk menghalangi aksi steroid androgen.

Penelitian yang dilakukan oleh Komang¹⁰ 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 gonadotropin (FSH dan LH) terhambat. Progesteron akan menghambat sekresi FSH yang menyebabkan gangguan proses spermatogenesis.

Penurunan hormon FSH akan mengubah struktur sitoskeletal sel-sel sertoli sehingga akan mengurangi kemampuan mengikat spermatid, sedangkan hormon testosteron akan menurunkan daya adhesi antara sel spermatid dan 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 didapatkan perubahan ketebalan tubulus seminiferus sejak pemberian dosis pertama 280 mg/kgBB/hari. Seperti pada Gambar 2 sampai 4, penurunan ketebalan tubulus ditunjukkan dengan penurunan sel-sel spermatogenik. Hal ini diperkuat dengan analisis data setiap kelompok perlakuan. Penurunan tubulus seminiferus ini 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.

Simpulan

Pemberian ekstrak etanol pare menurunkan ketebalan tubulus seminiferus. Dosis optimal yang 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 (FK) Universitas Padjadjaran dan Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Islam Bandung yang telah mendukung berbagai proses sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

Daftar Pustaka

1. United Nations Development Programme. World population prospects. Data booklet. 2017;1–19. Tersedia dari: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2017_DataBooklet.pdf.
2. FMA, Leon S. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Edisi ke-8. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins; 2015.
3. Pusat Data dan Informasi, Kementerian Kesehatan RI. Situasi dan Analisis Keluarga Berencana. Jakarta: Kemenkes RI; 2014.
4. Ahmad A. Frekuensi dan determinan kontrasepsi pria di Indonesia. *J Kes Masy Nas*. 2009;3(5):201–5.
5. Musafaah, Noor F. Faktor struktural keikutsertaan pria dalam ber-Keluarga Berencana (KB) di Indonesia. *Bul Pen Kes*. 2012;40(323):154–61.
6. Astuti Y, Fitriana S, Rahayu NS. Pengaruh pemberian ekstrak pare (*Momordica charantia* L) terhadap motilitas dan morfologi sperma mencit. *Mutiara Med J Kedokt Kesehat*. 2016;9(1):26–32.
7. Tumkiratiwong P, Ployattarapinyo 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.
8. Cholifah S, Arsyad, Salni. Pengaruh pemberian ekstrak pare (*Momordica charantia* L) terhadap struktur histologi testis dan epididimis tikus jantan. *MKS*. 2014;(2):149–57.
9. Jannah A. Pengaruh pemberian buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap proses spermatogenesis mencit (*Mus musculus*) (tesis). Malang: Universitas Islam Negeri Malang; 2009.
10. Komang BS. Fraksi heksan ekstrak biji pepaya muda dapat menghambat proses spermatogenesis mencit jantan lebih besar daripada fraksi metanol ekstrak biji pepaya muda. *Indo J Biomed Sci*. 2012;2(2):1–12.