

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH
(Piper betle L.)
TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR (Rattus Novergicus)

SKRIPSI



OLEH:
WIDIA SYAHFITRI
1808260087

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2022

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

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh kelulusan
Sarjana Kedokteran



OLEH:
WIDIA SYAHFITRI
(1808260087)

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2022

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Widia Syahfitri
NPM : 1808260087
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Novergicus*)

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat di pergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 8 Juli 2022



Widia Syahfitri



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488
Website : www.umsu.ac.id E-mail : rektor@umsu.ac.id
Bankir : Bank Syariah Mandiri, Bank Bukopin, Bank Mandiri, Bank BNI 1946, Bank Sumut.

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Widia Syahfitri

NPM : 1808260087

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Spermogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Novergicus*)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.


DEWAN PENGUJI
Pembimbing,


(dr. Melviana Lubis, M.Biomed)

Penguji 1


(dr. Ilham Hariaji, M.Biomed)

Penguji 2


(dr. Irfan Hamdani Sp.An)

Dekan FK-UMSU


(dr. Masliana Siregar, Sp.THT-KL.(K))
NIDN: 0106098201


Ketua Program Studi Pendidikan Dokter
FK-UMSU


(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)
NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 10 Agustus 2022

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullahiwabarokatuh

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan hidayah-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan”**

Alhamdulillah, sepenuhnya penulis menyadari bahwa selama penyusunan dan penelitian skripsi ini, penulis banyak mendapat dukungan, bimbingan, arahan dan bantuan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini. Ilmu, kesabaran dan ketabahan yang diberikan semoga menjadi amal kebaikan baik di dunia maupun di akhirat. Adapun tujuan didalam penulisan ini adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (UMSU).

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih serta penghormatan yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan dan bantuan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Orang tua saya bapak Hozai Saragih dan ibu Sarti Rastum yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral.
3. dr. Siti Masliana Sp. THT-KL (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. dr. Desi Isnayanti, M.Pd. Ked selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter.
5. dr. Melviana Lubis, M. Biomed selaku dosen pembimbing, yang telah mengarahkan dan memberikan bimbingan, terutama selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Ilham Hariaji, M.Biomed yang telah bersedia menjadi dosen penguji satu dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.

7. dr. Irfan Hamdani Sp. An yang telah bersedia menjadi dosen penguji dua dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
8. Seluruh laboran dan staf pekerja di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah banyak membantu selama berlangsungnya penelitian
9. Teman-teman satu perjuangan penelitian, Sadilla keliat, Cici Bayu nanda.
10. Kerabat penulis, Lin Yi, Ester Febrina, Amarul Azhar, dan teman-teman sejawat 2018 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 14 Juli 2022

Penulis

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Widia Syahfitri', written in a cursive style.

Widia Syahfitri

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,
saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Widia Syahfitri
NPM : 1808260087
Fakultas : Fakultas Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk
memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera
Utara Hak Bebas Royalti Non Eksklusif atas skripsi saya yang berjudul:

**“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap
Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar”**

Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini Universitas Muhammadiyah
Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan mengelola dalam
dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas
saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai
pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada Tanggal : 8 Juli 2022

Yang menyatakan



Widia Syahfitri

ABSTRAK

Latar Belakang: Program keluarga berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam ber-KB masih sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang benar-benar aman dan nyaman bagi pria. Upaya peningkatan keikutsertaan pria dalam ber-KB perlu dilakukan melalui penelitian obat antifertilitas yang dapat digunakan oleh kaum pria. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk eksplorasi bahan alam berasal dari tanaman yang berkhasiat sebagai antifertilitas pria hendaknya mendapat dukungan dana dari pemerintah.

Tujuan: Mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap spermatogenesis tikus putih galur wistar (*Rattus Novergicus*) antar berbagai kelompok kontrol dan perlakuan.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan rancangan *post test controlled group design*, yaitu jenis penelitian yang melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sesudah tindakan, dimana di penelitian ini terdapat 1 kontrol dan 3 kelompok dengan dosis perlakuan yang berbeda

Hasil: Pemberian ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle L.*) memiliki pengaruh terhadap konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa, dari tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus L.*) meskipun secara statistik dengan menggunakan uji Oneway ANOVA, hasil pengujian tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada taraf uji > 0.05 antara motilitas dan morfologi. Pada konsentrasi spermatozoa menunjukkan bermakna pada taraf uji < 0.05 .

Kesimpulan: Tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) Terhadap motilitas, dan morfologi spermatozoa.

Kata Kunci: Ekstrak daun sirih, spermatogenesis, kualitas spermatozoa.

ABSTRACT

Background: *The family planning program implemented by the government is still not running optimally due to the low participation of men in family planning. This is due to the unavailability of family planning facilities that are truly safe and comfortable for men. Efforts to increase the participation of men in family planning need to be done through research on antifertility drugs that can be used by men. Therefore, research that aims to explore natural ingredients derived from plants that are efficacious as male antifertility should receive financial support from the government.*

Aim: *To determine the difference in the effect of betel leaf extract (Piper betle L.) on the spermatogenesis of wistar white rats (Rattus novergicus) between various control and treatment groups.*

Methods: *This study is a true experimental study with a post test controlled group design, which is a type of research that observes the control group and the treatment group after the action, where in this study there were 1 control and 3 groups with different treatment doses.*

Results: *The administration of ethanol extract of betel leaf (Piper betle L.) has an effect on the concentration, motility and morphology of spermatozoa, from male white rats of wistar strain (Rattus norvegicus L.) although statistically using the Oneway ANOVA test, the test results showed no significant difference at the test level > 0.05 between motility and morphology. The concentration of spermatozoa showed significant at the test level < 0.05 .*

Conclusion: *There was no significant effect of betel leaf extract (Piper betle L.) on motility and morphology of spermatozoa.*

Keywords: *Betel leaf extract, spermatogenesis, spermatozoa quality.*

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| KATA PENGANTAR..... | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI..... | vi |
| ABSTRAK | vii |
| ABSTRACT | viii |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR GAMBAR..... | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan penelitian..... | 3 |
| 1.3.1 Tujuan Umum | 3 |
| 1.3.2 Tujuan khusus | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| 1.5 Hipotesis | 3 |
| | |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1 Daun Sirih Hijau | 4 |
| 2.1.1 Taksonomi | 4 |
| 2.1.2 Nama latin | 4 |
| 2.1.3 Syarat tumbuh tanaman..... | 4 |
| 2.1.4 Kandungan | 5 |
| 2.1.5 Morfologi | 5 |
| 2.2. Hewan Coba Tikus | 6 |
| 2.2.1 Taksonomi | 6 |
| 2.2.2 Biologi | 7 |
| 2.2.3 Sistem reproduksi | 7 |
| 2.3. Spermatogenesis | 9 |
| 2.3.1. Definisi | 9 |
| 2.3.2. Morfologi | 10 |
| 2.3.3. Faktor-faktor | 10 |
| 2.3.4. Morfologi sperma tikus | 12 |
| 2.3.5. Proses spermatogenesis | 12 |
| 2.3.6. Hormon yang mempengaruhi | 14 |
| 2.3.7 Regulasi hormon pada tikus jantan dan betina..... | 16 |
| 2.3 Kerangka Penelitian | 17 |
| 2.3.1 Kerangka Teori | 17 |
| 2.3.2 Kerangka Konsep..... | 18 |

| | |
|--|-----------|
| BAB 3 METODE PENELITIAN | 19 |
| 3.1 Definisi Operasional Variabel | 19 |
| 3.2 Jenis Penelitian | 22 |
| 3.3 Waktu dan Tempat | 22 |
| 3.3.1 Waktu Penelitian | 22 |
| 3.3.2 Tempat Penelitian | 22 |
| 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian | 22 |
| 3.4.1 Populasi Penelitian | 22 |
| 3.4.2 Sampel Penelitian | 23 |
| 3.4.3 Besar Sampel | 23 |
| 3.5 Teknik Pengumpulan Data Penelitian | 24 |
| 3.5.1 Alat | 24 |
| 3.5.2 Bahan | 24 |
| 3.5.3 Cara Kerja | 25 |
| 3.6 Metode Hasil Analisis | 27 |
| 3.6.1 Cara Pengolahan Data | 27 |
| 3.6.2 Analisis Data | 28 |
| 3.7 Alur Pelaksanaan Penelitian | 29 |
| 3.7.1 Alur Pembuatan Ekstrak | 29 |
| 3.7.2 Alur Perlakuan Terhadap Hewan Coba | 30 |
| | |
| BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 31 |
| 4. 1 Hasil Penelitian | 31 |
| 4.2 Analisa Data | 31 |
| 4.2.1 Hasil analisis konsentrasi | 31 |
| 4.2.2. Hasil analisis motilitas | 32 |
| 4.2.3. Hasil analisis morfologi | 33 |
| 4.2 Pembahasan | 33 |
| | |
| BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN | 36 |
| 5.1 Kesimpulan | 36 |
| 5.2 Saran | 36 |
| | |
| DAFTAR PUSTAKA | 37 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Penampang ventral Sistem Urogenital Tikus Jantan..... | 9 |
| Gambar 2.2 Jalur endokrin dasar pada hypothalamic pituitary testis | 15 |
| Gambar 2.3 Kerangka teori | 17 |
| Gambar 2.4 Kerangka konsep | 18 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 3.2 Waktu Penelitian | 22 |
| Tabel 4.1 Hasil analisis konsentrasi spermatozoa tikus | 31 |
| Tabel 4.2 Uji post hoc LSD | 32 |
| Tabel 4.3 Hasil analisis motilitas spermatozoa tikus | 32 |
| Tabel 4.4 Hasil analisis morfologi spermatozoa tikus | 33 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran analisis data..... | 40 |
| Lampiran perhitungan BB tikus | 43 |
| Lampiran dokumentasi spermatozoa | 44 |
| Lampiran dokumentasi penelitian | 46 |
| Lampiran ethical clearance | 47 |
| Lampiran surat izin penelitian | 48 |
| Lampiran Riwayat hidup penulis | 49 |

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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. Pertumbuhan jumlah penduduk ini tentu saja akan berimplikasi secara signifikan terhadap perkembangan ekonomi dan kesejahteraan negara. Untuk menahan laju peningkatan jumlah penduduk, Indonesia menggunakan program keluarga berencana. Keluarga berencana adalah tindakan yang membantu individu untuk mendapatkan objek tertentu, menghindari kehamilan yang tidak diinginkan, mendapatkan kehamilan yang diinginkan, mengatur interval kehamilan, menentukan jumlah anak dalam keluarga, mengontrol saat kelahiran dalam hubungan suami istri ¹

Program keluarga berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam ber-KB masih sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang benar-benar aman dan nyaman bagi pria. Upaya peningkatan keikutsertaan pria dalam ber KB perlu dilakukan melalui penelitian obat antifertilitas yang dapat digunakan oleh kaum pria. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk eksplorasi bahan alam berasal dari tanaman yang berkhasiat sebagai antifertilitas pria hendaknya mendapat dukungan dana dari pemerintah ².

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. Kontrasepsi hormonal merupakan kontrasepsi dimana estrogen dan

progesteron memberikan umpan balik terhadap kelenjar hipofisis melalui hipotalamus sehingga terjadi hambatan terhadap folikel dan proses ovulasi. Melalui hipotalamus dan hipofisis, estrogen dapat menghambat pengeluaran *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) sehingga perkembangan dan kematangan Folicle De Graaf tidak terjadi. Di samping itu progesteron dapat menghambat pengeluaran *Hormone Luteinizing* (LH). Estrogen mempercepat peristaltik tuba sehingga hasil konsepsi mencapai uterus endometrium yang belum siap untuk menerima implantasi³

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. Pilatau suntikan KB untuk pria harus dapat mengendalikan produksi jutaan spermatozoa tanpa penurunan libido dan efek samping yang membahayakan⁴

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 betle L*). dapat menghambat kesuburan tikus putih jantan galur secara tidak permanen⁵.

Dalam penelitiannya menyatakan bahwa penurunan kualitas spermatozoa yang meliputi gerakan sperma, viabilitas, macam gerakan akibat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L*) pada tikus jantan disebabkan oleh kandungan 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 sistem limbik di otak.

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.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, apakah terdapat Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus L.*)?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus L.*)

1.3.2 Tujuan khusus

Mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap spermatogenesis tikus putih galur wistar (*Rattus Novergicus*) antar berbagai kelompok kontrol dan perlakuan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi terhadap masyarakat luas bahwa daun sirih (*Piper betle L.*) berpotensi sebagai kontrasepsi yang berasal dari bahan alam.
2. Memberikan sumbangsih dalam pengembangan kontrasepsi pria dari bahan alam.
3. Memperbanyak referensi dalam penelitian aktifitas antifertilitas dari daun sirih (*Piper betle L.*).

1.5 Hipotesis

Hipotesis 0: Tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap motilitas dan morfologi spermatozoa tikus putih jantan galur wistar.

Hipotesis alternative : Terdapat pengaruh yang signifikan dari pemberian ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap konsentrasi spermatozoat tikus putih jantan galur wistar karena bisa menekan produksi konsentrasi spermatozoa.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*)

2.1.1 Klasifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)

Kedudukan tanaman sirih dalam sistematika tumbuhan (*taksonomi*) di klasifikasikan sebagai berikut ⁶

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Kelas : Dikotiledonaea
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : Piper
Spesis : *Piper betle L.*

2.1.2 Nama latin (Nama Daerah)

Ranub (aceh), sereh (Gayo), Belo Batak (karo), Burangir (Mandailing), Cabai (Mentawai), Sirih (Palembang, Minangkabau), Seureuh (Sunda), Sere (Madura), Uwit (Dayak), Nahi (Bima), Malu (Solor), Mokeh (Alor), Mota (Flores), Bido (Bacan) ⁷.

2.1.3 Syarat tumbuh tanaman sirih hijau (*Piper betle L.*)

Syarat tumbuh tanaman sirih hijau (*Piper betle L.*) pada dasarnya hidup subur dengan ditanam di atas tanah gembur yang tidak terlalu lembab dan memerlukan cuaca tropika dengan air yang mencukupi. Tanaman sirih hijau menyukai tempat yang terbuka atau sedikit terlindung, tumbuh merambat dan dapat diperbanyak dengan setek batang yang sudah agak tua yang terdiri dari 4-6 ruas.

2.1.4 Kandungan kimia daun sirih hijau (*Piper betle L.*)

Kandungan kimia utama yang memberikan ciri khas daun sirih adalah minyak atsiri. Selain minyak atsiri, senyawa lain yang menentukan dapat berupa golongan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid. Komposisi minyak atsiri terdiri dari senyawa fenol, turunan fenol propenil (sampai 60%). Komponen utamanya eugenol (sampai 42,5 %), karvakrol, chavikol, kavibetol, alilpirokatekol, kavibetol asetat, alilpirokatekol asetat, sinoel, estragol, eugenol, metileter, p-simen, karyofilen, kadinen, dan senyawa seskuiterpen. Zat metabolit sekunder hasil ekstraksi dari daun sirih, diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol^{6 8}.

Daun sirih segar mengandung komposisi sebagai berikut: kadar air 85,4 g, protein 3,1 g, lemak 0,8 g, karbohidrat sebanyak 6,1 g, serat 2,3 g, bahan mineral 2,3 g, kalsium 230 mg, fosfor 40 mg, besi 7,0 mg, besi ion 3,5 g, karoten (dalam bentuk vitamin A) 9600 IU, tiamin 70 ug, riboflavin 30 ug, asam nikotianat 0,7 mg, dan vitamin C 5 mg. Daun sirih mengandung senyawa tanin, gula, vitamin, dan minyak atsiri. Minyak atsiri daun sirih yang berwarna kuning kecokelatan mempunyai rasa getir, berbau wangi dan larut dalam pelarut organik seperti alkohol, eter, dan kloroform, serta tidak larut dalam air.

2.1.5 Morfologi daun sirih hijau (*Piper betle L.*)

Sirih hijau (*Piper betle L.*) termasuk jenis tumbuhan perdu merambat dan bersandarkan pada batang pohon lain, batang berkayu, berbuku-buku, beralur, warna hijau keabu-abuan, daun tunggal, bulat panjang, warna hijau, perbungaan bulir, warna kekuningan, buah buni, bulat, warna hijau keabu-abuan. Daun sirih muda yang diambil pada daun ke 3 sampai ke 5 dari pucuk, berwarna hijau cerah, tidak mengalami kerusakan, robek, berlubang, atau layu. Tanaman ini panjangnya mampu mencapai puluhan meter. Bentuk daunnya pipih menyerupai jantung, tangkainya agak panjang, tepi daun rata, ujung daun meruncing, pangkal daun berlekuk, tulang daun menyirip, dan daging daun tipis. Permukaan daun warna hijau dan licin, sedangkan batang pohonnya berwarna hijau tembelek atau hijau

agak kecoklatan dan permukaan kulitnya kasar serta berbuku-buku. Daun sirih yang subur berukuran lebar antara 8-12 cm dan panjangnya 10-15 cm⁹.

2.2. TINJAUAN HEWAN COBA

2.2.1. Klasifikasi taksonomi

Klasifikasi taksonomi tikus adalah sebagai berikut:

| | |
|-------------|--|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Chordata |
| SubFilum | : Vertebrata |
| Kelas | : Mammalia |
| SubKelas | : Theria |
| Infrakelas | : Eutheria |
| Ordo | : Rodentia |
| Subordo | : Myomorpha |
| Famili | : Muridae |
| Superfamili | : Muroidea |
| Subfamili | : Murinae |
| Genus | : Rattus |
| Spesies | : <i>Rattus norvegicus</i> (tikus cokelat atau tikus Norwegia), <i>Rattus exulans</i> (tikus polinesian), <i>Rattus rattus</i> (tikus hitam atau tikus rumah). |
| Subspesies | : <i>R. rattus rattus</i> (tikus hitam), <i>R. rattus alexandrinus</i> (tikus hitam Alexandria), <i>R. rattus brevicaudatus</i> (tikus sawah), <i>R. rattus diardii</i> (tikus hitam Malaya), <i>R. rattus frugivorous</i> . |

Temperatur yang baik untuk tikus putih yaitu 19° C-23° C, sedangkan kelembaban 40-70. 13 Tikus melakukan kegiatannya pada malam hari dan akan istirahat pada saat siang hari. Pakan tikus putih mudah didapat¹⁰.

2.2.2 Biologi tikus putih

Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dengan mamalia lainnya. Penggunaan tikus sebagai hewan percobaan di dasarkan atas pertimbangan ekonomis dankemampuan hidup tikus 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun.

Kelompok tikus pertama-tama dikembangkan di Amerika Serikat dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat berkembang baik. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Secara umum, berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40 gram dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Galur Sprague dawley merupakan galur yang paling besar diantara galur yang lain ¹¹.

Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian. Galur- galur tersebut antara lain: Wistar, Sprague-Dawley, Long Evans, dan Holdzman. Dalam penelitian ini digunakan galur Sprague-Dawley dengan ciri-ciri berwarna putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang daripada badannya. Tikus ini pertama kali diproduksi oleh peternakan Sprague-Dawley ¹⁰.

2.2.3 Sistem reproduksi tikus jantan

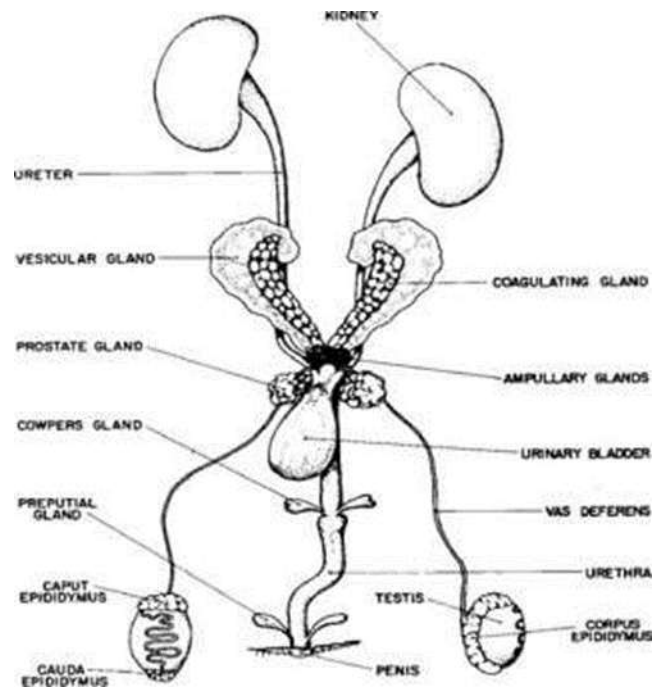
Tikus adalah salah satu hewan penelitian yang paling banyak digunakan dalam fisiologis reproduksi. Testis tikus jantan terdapat pada dua kantung skortum yang dipisahkan oleh membran tipis yang terletak antara anus dan preputium. Testis tersebut kemudian turun dari hari ke 30-40 masa hidupnya dari rongga perut ke kantung skortum melalui kanalis inguinal terbuka. Jarak dubur kelamin pada tikus jantan lebih jauh daripada betina. Testis terdiri dari tubulus seminiferus yang panjang dan berkelok kelok, yang pada epitelnya merupakan tempat berlangsungnya spermatogenesis. Ujung dari tubulus seminiferus ini kemudian bermuara menuju epididymis.

Diantara tubulus seminiferus di dalam testis terdapat sel Leydig yang merupakan sel interstisial berfungsi mensekresikan testosteron ke dalam pembuluh darah. Selain sel germinal, di dalam tubulus seminiferus juga terdapat sel sertoli. Sel ini berperan secara metabolik dan struktural untuk menjaga spermatozoa yang sedang berkembang juga memfagosit sitoplasma spermatid yang telah dikeluarkan. Ukuran sel sertoli sangat besar dengan selubung sitoplasma yang melimpah dan mengelilingi spermatogonia yang sedang berkembang. Sel sertoli mensekresikan Androgen Binding Protein (ABP), inhibin dan Mullerian Inhibiting Substance (MIS). Sel sertoli mengandung aromatase, yaitu enzim yang berperan dalam perubahan androgen menjadi estrogen¹²

Arteri testikular dan vena fleksus pampiniformis dikelilingi dengan lemak karena mereka memasuki kanal inguinal. Di dalam skrotum, beberapa cabang epididimis berakhir dari arteri spermatik internal untuk menyediakan asupan darah ke testis dan epididymis.

Epididimis terdiri dari tiga bagian: kaput epididimis yang membesar di ujung proksimal pada testis, yang hampir seluruhnya terbenam ke dalam lemak; korpus epididimis yang terdapat di sekitar dorsomedial testis serta kauda epididimis pada ujung distal testis, merupakan tempat pematangan spermatozoa, yang kemudian bermuara ke vas deferens.

Tikus memiliki lima pasang kelenjar seks aksesori yang terletak didalam pelvis dan dikelilingi empedu kelenjar duktus deferens, dua pasang kelenjar prostat, orientasi dorsal dan ventral mengarah ke duktus deferens, sepasang scythe-shaped besar dan kelenjar vesicular terkonvolusi dan sepasang kelenjar pengkoagulasi dan pasangan kelenjar bulbouretra.



Gambar 2.1 Penampang ventral Sistem Urogenital Tikus Jantan

Vesikula seminalis dan kelenjar koagulasi penting untuk fertilitas tikus. Kedua organ tersebut mensekresi cairan yang digunakan untuk pembentukanformasi vaginal plug. Aturan vaginal plug tidak dipahami secara benar, tetapi diduga berperan sebagai reservoir pelepasan gradual sperma atau untuk mencegah aliran sperma menuju vagina.

2.3. SPERMATOGENESIS

2.3.1. Definisi

Spermatogenesis adalah suatu proses kompleks ketika spermatogonium (sel germinativum primordial yang relatif belum differensiasi) yang mengandung 46 kromosom berproliferasi dan dirubah menjadi spermatozoa yang sangat khusus dan motil yang berisi 23 kromosom.

Spermatogenesis adalah proses multiplikasi dan diferensiasi sel germinal dengan tujuan memproduksi sel gamet jantan (spermatozoa) yang terjadi testis tepatnya di tubuli seminiferi. Sel spermatozoa dilepaskan oleh kutub apikal sel sertoli yang terletak pada tubuli seminiferi. Secara umum, spermatogenesis dibagi

menjadi tiga tahap yaitu: 1) Spermatositogenesis, 2) meiosis, dan 3) Spermogenesis. Spermatositogenesis dimulai dengan proses proliferasi sel spermatogonia. Pada fase ini, spermatogonia menghasilkan dua tipe sel diploid yaitu sel untuk memperbaharui stok spermatogonia dan spermatogonia yang berproliferasi menjadi bentuk lain yaitu spermatosit primer¹³.

2.3.2. Morfologi Spermatozoa

Fungsi dari spermatozoa adalah untuk mengantarkan gen paternal (haploid) sampai dengan sel telur dan menginisiasi perkembangan embrio. Untuk mencapai hal tersebut, struktur sel spermatozoa berevolusi menjadi sel yang berkompartemen dan memiliki fungsi khusus pada setiap kompartemen. Secara umum, spermatozoa terbagi menjadi bagian kepala dan bagian ekor (flagellum). Bagian kepala bisa dibagi kembali menjadi bagian akrosomal dan nukleus. Bagian akrosomal terbagi menjadi 2 yaitu sekretori akrosomal vesikel dan membran plasma yang menyelimuti akrosom. Bagian akrosomal ini berisi acrosin, hyaluronidase, dan enzim hidolisis lainnya yang digunakan untuk proses fertilisasi. Sementara, bagian nukleus berisi duplikat dari materi gen paternal yang akan ditransportasikan ke oosit¹⁴.

2.3.3. Faktor- faktor yang mempengaruhi spermatogenesis

1. Hormon

Hormon memegang peranan penting dalam proses pembentukan sperma.

Beberapa jenis hormon yang punya andil dalam proses ini, yaitu:

a. LH (*Luteinizing Hormone*)

LH berfungsi untuk merangsang sel Leydig yang terdapat di testis untuk menghasilkan hormon testosteron yang dapat mendorong proses spermatogenesis terjadi.

b. FSH (*Folicle Stimulating Hormone*)

FSH merupakan hormon yang dapat merangsang sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*), yang berfungsi untuk

melindungi, menunjang, dan memberi makan benih sperma hingga menjadi sperma yang matang.

c. Testosteron

Hormon testosteron dihasilkan oleh testis yang berfungsi merangsang perkembangan organ seks untuk melakukan spermatogenesis.

Keseimbangan hormon-hormon di atas akan membantu pembentukan sperma yang berkualitas. Sebaliknya, jika terdapat ketidakseimbangan dalam jumlahnya, maka sperma akan mengalami penurunan kualitas hingga dapat menyebabkan gagalnya sperma dalam membuahi sel telur¹⁵.

2. Suhu tinggi

Peningkatan suhu di dalam testis akibat demam berkepanjangan atau terlalu lama melakukan kegiatan dengan kondisi panas yang berlebihan, bisa menyebabkan berkurangnya pergerakan dan jumlah sperma, serta meningkatkan jumlah sperma yang abnormal di dalam semen. Pembentukan sperma yang paling efisien adalah pada suhu 33,5° C (lebih rendah dari suhu tubuh).

3. Penyakit

Penyakit serius pada testis atau terjadinya penyumbatan pada vas deferens bisa mengakibatkan azoospermia, yang merupakan gangguan di mana sperma tidak terbentuk sama sekali. Selain itu, jika terjadi pelebaran vena di dalam skrotum (kantong testis) yang dinamakan varikokel, dapat menyebabkan terhalangnya aliran darah pada testis sehingga mengurangi laju pembentukan sperma.

4. Obat-obatan

Penggunaan obat-obatan, seperti simetidin, spironolakton dan nitrofurantoin, atau pemakaian ganja, dapat memengaruhi jumlah sperma yang dihasilkan.

5. Asap rokok

Rokok selama 32 hari dapat menghambat proses spermatogenesis secara nyata yang ditandai dengan penurunan jumlah sel-sel spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, dan lapisan sel spermatogenik serta penurunan kualitas spermatozoa secara nyata yang ditandai dengan penurunan persentase spermatozoa normal, penurunan kecepatan gerak spermatozoa, penurunan

persentase motilitas spermatozoa, dan penurunan persentase spermatozoa hidup pada tikus.

6. Usia

Usia memegang peranan penting dalam fertilitas. Penelitian telah menunjukkan bahwa level testosteron darah akan menurun seiring bertambahnya usia dan resiko pria untuk menjadi infertil 2 kali lipat lebih besar pada usia di atas 35 tahun dibandingkan dengan pria di bawah 25 tahun dan 5 kali lipat pada usia di atas 45 tahun. Produksi hormon testosteron mulai menurun sekitar usia 40 tahun, perubahan kualitas sperma seiring dengan bertambahnya usia juga menurunkan volume semen, konsentrasi, motilitas dan morfologi sperma normal.

2.3.4. Morfologi sperma tikus

Kepala sperma tikus memiliki panjang sekitar 2,5 mikrometer dan menyerupai kail. Mengandung inti padat dan memiliki ujung yang kurang padat disebut akrosom. Bagian tengah mengandung sentriol dan selubung spiral melingkar dari material mitokondria. Ekor mengandung filament aksial yang menjadi vibratil pada saat spermatozoa telah matang. Dapat dikatakan bahwa kadang sentriol mungkin terlihat, dan terlihat sekitar setengah bagian sepanjang ekor, dan itu bukan merupakan sebuah abnormalitas.

2.3.5. Proses spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses sel germinal yang belum matang berdiferensiasi dan bermeiosis menjadi haploid. Spermatogenesis terjadi pada tubulus seminiferus testis yang diinduksi dengan sel somatik epitelium sel seminiferus, dan sel Sertoli. Spermatogenesis proses pembentukan sel sperma yang dimulai dari proliferasi sel germinal sampai menjadi spermatozoa dalam tubulus seminiferous testis yang dinilai secara semikuantitatif menggunakan skor Johnsen dengan melihat 5 lapangan pandang. Spermatogenesis diukur berdasarkan penilaian skor spermatogenesis Johnson pada tubulus seminiferus preparat testis tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus L*). Hasil dari spermatogenesis,

spermatid yang sudah mengalami pematangan dikeluarkan oleh sel Sertoli ke dalam lumen tubulus seminiferous^{16 17}.

Pengamatan jumlah sel spermatogenik dilakukan dalam tubulus seminiferus yang disayat melintang dan diambil secara acak. Jumlah sel spermatogenik adalah jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa yang terletak pada tubulus seminiferus yang menandakan adanya proses spermatogenesis yang terjadi di dalam testis. Jumlah sel spermiogenesis adalah jumlah sel spermatid dan spermatozoa. Waktu yang diperlukan untuk pembentukan spermatogonia 3 hari, spermatosit primer selama 16 hari, spermatosit II 26 hari, spermatid 36 hari dan spermatozoa 49 hari. Spermatozoa yang terbentuk di dalam testis disalurkan ke saluran epididimis untuk mengalami proses pematangan¹⁸

Spermatogenesis dapat dibagi menjadi 3 fase:

- a. Fase Spermatogonial (proliferasi, pembaharuan dan diferensiasi spermatogonia)
 - Tipe A gelap (Ad): spermatogonia memiliki inti ovoid, paling sering basofilik (stem sel reverse ditemukan pada manusia tapi tidak ditemukan pada rodensia).
 - Tipe A pucat (Ap): spermatogonia memiliki inti ovoid dengan pewarnaan ringan/ warna yang pucat.
 - Tipe intermediet (In): spermatogonia memiliki inti ovoid dengan kromatin yang kental sempurna. Sel ini hanya ditemukan pada tikus dan akan berdiferensiasi menjadi spermatogonia tipe B. Sel ini tidak dianggap stem sel.
 - Tipe B: spermatogonia memiliki inti ovoid dengan gumpalan kental kromatin, yang memberikan peningkatan spermatosit prelepton. Sel ini tidak dianggap stem sel.
- b. Fase Spermatosit (meiosis)

Spermatosit primer diproduksi oleh bagian mitotik spermatogonia tipe B. Spermatosit mereplikasi DNA segera setelah terbentuk. Spermatosit primer mengandung 4n jumlah DNA (44 autosom, sebuah kromosom X dan Y yang

masing-masing memiliki 2 untai atau kromatid). Selama meiosis terbentuk 2 bagian. Profase pada bagian meiotik dibagi menjadi beberapa tahapan: tahap pretepton dan leptoten, kromatin mengental menjadi kromosom visible, pasangan kromosom homolog zigoten-pakiten yang disebutdiploten. Setelah profase, spermatosit primer terbelah dan tetrads terpisah menjadi diad pada sel anak (perbedaan dari mitosis dimana pada mitosis kromatid yang terpisah).

Spermatosit sekunder memiliki 22 autosom dan sebuah kromosom X atau Y (haploid). Sel ini memiliki jumlah DNA $2n$. Selama metafase bagian kedua dari anakan mengalami pemisahan kromatid, 2 haploid spermatid round terbentuk dari masing masing spermatosit. Diploid normal (46 kromosom) disimpan kembali setelah fertilisasi ¹⁹

c. Fase Spermatid (spermiogenesis)

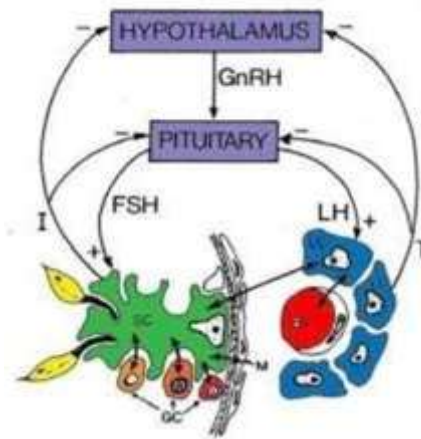
Fase ini dibagi menjadi 4 subdivisi:

- Fase golgi, apparatus golgi membentuk granul pro-akrosomik didalam vesikel akrosomik. Sentriol mulai membentuk axoneme (ekor).
- Fase penutup kepala, vesikel akrosomal menyebar untuk melapisi bagian anterior nucleus.
- Fase akrosom, kepala spermatid mengarah ke membrane dasar. Manchete mikrotubul terbentuk dan apparatus golgi berpinda ke bagian posterior.
- Fase pematangan, spermatid mengalami pemanjangan, kromatin mengental, mitokondria berpindah dan membentuk bagian tengah dari ekor, residual tubuh (*surplus of cytoplasm*) terbentuk dan di buang.

2.3.6. Hormon yang mempengaruhi spermatogenesis

Berdasarkan 26 terdapat proses spermatogenesis di pengaruhi oleh hormon-hormon yang di hasilkan oleh hipotalamus, hipofisis dan testis sendiri. Testis memproduksi sejumlah hormone jantan yang semuanya di sebut androgen, proses pembentukan hormone ini di sebut juga steroidogenesis. Yang paling poten dari androgen adalah testosterone. Fungsi testosterone adalah merangsang

pendewasaan spermatozoa yang terbentuk dalam tubulus seminiferous, merangsang pertumbuhan kelenjar-kelenjar asesori dan merangsang²⁰



Gambar 2.2 Jalur endokrin dasar pada hypothalamic pituitary testis

a. Testosteron

Sekresi hormon ini oleh sel-sel Leydig yang terletak di intersisiumtestis. Hormon ini memegang peranan penting pada satu tahap penting proses pembelahan sel-sel germinal untuk pembentukan sperma, terutama pembelahan miosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Hormon ini mengontrol perkembangan organ reproduksi pria dan tanda seks sekunder pada pria berupa pembesaran laring, perubahan suara, pertumbuhan rambut ketiak, pubis, dada, kumis dan jenggot. Juga pertumbuhan otot dan tulang.

b. Hormon Lutein

Hormon ini disekresikan oleh sel bagian anterior. Berperan dalam stimulasi sel-sel Leydig untuk memproduksi testosteron, juga menyebabkan dihasilkannya estradiol.

c. FSH (*Folicle Stimulating Hormone*)

Dihasilkan oleh sel basofil lobus anterior hipofise. Pada testis, hormon ini mengakibatkan terpacunya Adenyl cyclase di dalam sel sertoli yang berperan dalam meningkatkan produksi cyclic AMP, memacu produksi Androgen Binding Protein (ABP) di dalam tubuli semeniferus dan di dalam epididimis.

Dengan demikian FSH bekerja menyiapkan kadar androgen yang cukup untuk sel germinal dan memacu pendewasaan spermatozoa di dalam epididymis¹⁷.

d. Estrogen

Dibentuk oleh sel-sel sertoli ketika sedang di stimulasi oleh FSH. Hormone ini kemungkinan di perlukan untuk proses spermiasi. Sel-sel sertoli juga mengsekresikan suatu protein pengikat androgen. Yang mengikat baik testosteron dan estrogen maupun keduanya ke dalam cairan tubulus seminiferus, yang di perlukan untuk maturasi sperma.

e. Growth Hormone

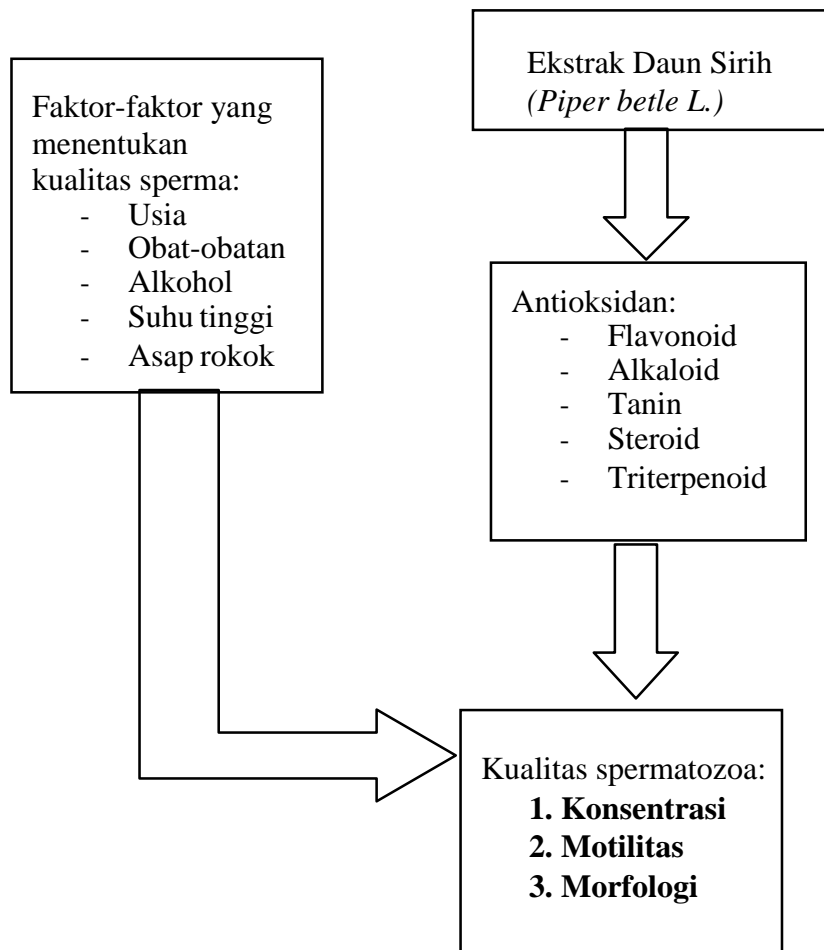
Berperan untuk mengatur fungsi metabolik dari testis, selain itu juga berperan dalam pembelahan awal spermatogonia. Bila hormon ini kadarnya berkurang bisa mencetuskan suatu keadaan yang disebut infertil.

2.3.7. Regulasi hormon pada tikus jantan dan betina

Pada hewan jantan, gonadotrophin releasing hormone (GnRH) disekresikan dari hipotalamus untuk menstimulasi pelepasan lutenising hormone (LH) dan follicle stimulating hormone (FSH) dari pituitari anterior. LH and FSH mengatur aktivitas testis. LH merangsang sel-sel Leydig untuk memproduksi testosterone. FSH akan menstimulasi sel-sel Sertoli untuk proses pembentukan sel-sel germinal pada spermatogenesis. FSH dan testosteron merangsang sel-sel spermatogenik untuk melakukan meiosis dan berdiferensiasi menjadi sperma.

2.4 Kerangka Penelitian

2.4.1 Kerangka teori



Gambar 2.3 Kerangka teori

Keterangan:



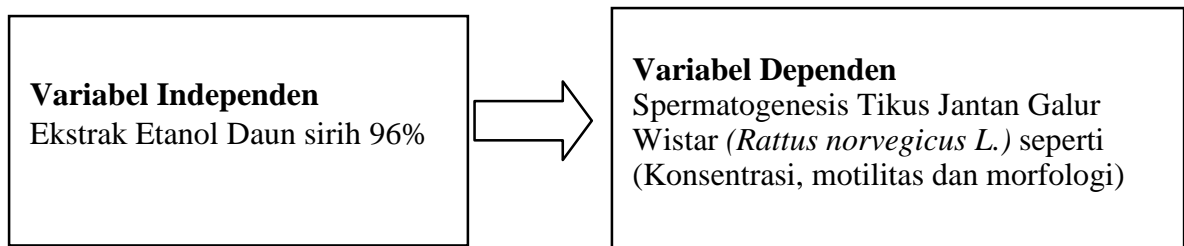
: Diteliti



: Tidak diteliti

2.4.2 Kerangka konsep

Berdasarkan tujuan penelitian dan tinjauan pustaka di atas, maka kerangka konsep dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 2.4 Kerangka konsep

BAB 3
METODE PENELITIAN

| No | Variabel | Definisi | Cara kerja & Alat ukur | Skala ukur | Hasil |
|----|---------------------------------------|---|---|------------|---|
| 1 | Ekstrak Daun Sirih (Independen) | Di ekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% | Daun sirih 1kg, kemudian di cuci dengan air mengalir hingga bersih. Setelah di lakukan pencucian, daun di blender sampai halus dan di dapatkan 100 gram berat kering daun sirih. Lalu di lakukan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian di vacuum eppavorator | Numerik | Dosis: - (200mg/kgBB/hari) - (400mg/kgBB/hari) - (800mg/kgBB/hari) |
| 2 | Konsentrasi spermatozoa (Dependen) | Konsentrasi spermatozoa yang di amati | 1. Pemeriksaan ini di lakukan dengan mengencerkan 20 μ L semen yang telah telah terliquifikasi ke dalam 380 μ L PBS. 2. Kemudian masukkan sejumlah kecil campuran tersebut ke dalam improved neubauer chamber dan tunggu selama 5 menit untuk dihitung konsentrasi. | Numerik | Konsentrasi dalam 10^6 per μ L |

 3. Perhitungan

dilakukan pada 4 persegi besar untuk WBC.

4. Konsentrasi sperma

dihitung dengan

mengalikan jumlah

sperma pada ke empat

persegi dikali 50,000.

Hasil perhitungan

dinyatakan dalam $\times 10^6$

sel/ ml

| | | | | | |
|---|-----------------------|------------------------------------|---|---------|--|
| 3 | Motilitas spermatozoa | Gerakan sperma yang di amati | Suspensi spermatozoa di teteskan pada gelas objek menggunakan pipet tetes dan di tutup menggunakan gelas penutup kemudian gerakan- gerakan spermatozoa di amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 60x. | Numerik | Presentasi motilitas spermatozoa yang normal yakni sperma dengan: Kategori A: gerakan spermatozoa maju lurus dan cepat (progresif). Kategori B: gerakan spermatozoa belok-belok, sulit maju lurus/lambat (nonprogresif). Kategori C: spermatozoa diam atau tidak tampak bergerak (immotil). |
| 4 | Morfologi spermatozoa | Presentasi morfologi yang di amati | 1) Pemeriksaan ini dilakukan dengan | Numerik | Persentase sperma yang memiliki |

| | |
|---|---|
| menggunakan zat warna safranin dan crystal violet untuk melihat morfologi sel sperma yang normal dan abnormal (spermatogenic cells). | morfologi normal yakni: memiliki bentuk kepala oval beraturan dengan ekor lurus panjang di tengahnya. |
| 2) Terlebih dahulu buat sediaan apusan cairan sperma epididimis pada objects glass. | |
| 3) Kemudian teteskan zat warna crystal violet pada apusan selama 30 detik. Setelah itu, teteskan larutan iodine tanpa membilas zat warna sebelumnya dan tunggu selama 30 detik. | |
| 4) Kemudian bilas dengan aqudest. | |
| 5) Terakhir teteskan lagi apusan dengan zat warna safranin dan tunggu selama 30 detik. | |
| 6) Setelah itu baca apusan di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 60x. | |

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan rancangan *post test controlled group design*, yaitu jenis penelitian yang melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sesudah tindakan, di mana satu kelompok sebagai kontrol dan 3 kelompok dengan dosis perlakuan yang berbeda.

3.3. Waktu dan Tempat

3.3.1 Waktu Penelitian

Tabel 3.2 Waktu Penelitian

| No. | Kegiatan | Bulan | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|----------------------------|-------|---|---|---|---|--|---|---|---|---|---|---|---|---|--|--|--|--|---|--|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1. | Persiapan Proposal | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. | Seminar Proposal | | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. | Ethical Clearance | | | | | | | ■ | ■ | | | | | | | | | | | | |
| 4. | Penelitian | | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | |
| 5. | Analisis data dan Evaluasi | | | | | | | | | | | | | ■ | ■ | | | | | | |
| 6. | Sidang Seminar Hasil | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | |

3.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium Bagian Farmakologi dan Bagian patologi klinik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (Galur Wistar) jantan galur yang diperoleh dari Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium (UPHL) Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus putih (*Galur Wistar*) jantan dan betina galur dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

Kriteria Inklusi:

1. Tikus jantan (*Galur Wistar*)
2. Tikus dalam keadaan aktif dan sehat
3. Usia tikus 4-5 bulan
4. Berat badan ideal 250-275 gram

Kriteria Eksklusi:

1. Tikus mengalami kelainan anatomis (cacat)
2. Tikus pernah digunakan sebagai hewan coba pada penelitian sebelumnya

3.4.3 Besar Sampel

Besar sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus Federer, dimana jumlah kelompok (k) saya dalam penelitian ini adalah 4 kelompok.

$$(k-1) (n-1) > 15$$

$$(4-1) (n-1) > 15$$

$$3 (n-1) > 15$$

$$3n-3 > 15$$

$$3n > 15 + 3$$

$$3n > 18$$

$$n > 18/3 = 6$$

Keterangan:

k: jumlah kelompok

n: jumlah sampel dalam tiap kelompok

Jadi, seluruh sampel yang digunakan sebanyak 28 ekor tikus dengan 7 ekor tikus sebagai kelompok kontrol, 7 ekor tikus sebagai kelompok perlakuan 1 (P1), 7 ekor tikus sebagai kelompok perlakuan 2 (P2), 7 ekor tikus sebagai kelompok perlakuan 3 (P3).

Kriteria Drop Out:

10% dari total sampel= $24 + 4 = 28$ tikus

4.5 Teknik Pengumpulan Data Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan teknik observasi eksperimen yaitu sampel dibagi menjadi 3 kelompok

4.5.1 Alat

1. Kandang hewan coba
2. Tempat makan dan minum tikus
3. *Beaker glass*
4. Gelas ukur
5. Sonde lambung tikus
6. Timbangan analitik
7. Pengaduk
8. *Handscoon*
9. Sduit
10. Kain flanel
11. Pipet leukosit
12. Dekker glass
13. Slide glas

4.5.2 Bahan

1. Daun sirih
2. Etanol 96%
3. Pakan 551
4. Aquades
5. Metanol
6. Larutan PBS
7. Reagensia
8. Safranin
9. Gentian violet

3.5.3. Cara Kerja

a. Pembuatan ekstrak daun sirih

Siapkan daun sirih segar sebanyak 1 kg, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Setelah dilakukan pencucian, daun dikeringkan. Daun sirih yang telah kering, dihancurkan sampai halus sampai tingkat kehalusan tertentu dan didapatkan 100 gram berat kering daun sirih. Lalu dilakukan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Serbuk daun sirih dimasukkan ke dalam wadah tertutup kemudian direndam menggunakan pelarut etanol 96% hingga melewati batas permukaan serbuk sekitar tiga jari. Perendaman dilakukan selama 3 hari dan sesekali dilakukan pengadukan pada suhu ruang. Kemudian maserat diuapkan dengan *Vacuum Rotary Evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental daun sirih.

b. Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Sebelum hewan coba diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi pada hewan uji yang dilakukan selama 1 minggu sebelum diberikan perlakuan dan bertujuan sebagai proses seleksi hewan uji mana yang dapat memenuhi kriteria serta adaptasi tikus terhadap lingkungan nya yang baru. Setiap kelompok ditempatkan di kandang yang berbeda-beda.

28 tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok, satu sebagai kontrol negatif dan tiga sebagai kelompok perlakuan terdiri dari:

1. Kontrol negatif sebanyak 7 ekor tikus diberi aquades.
2. Kelompok perlakuan 1 (P1) dengan dosis 200 mg/kgBB, sebanyak 7 ekor tikus diberi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)
3. Kelompok perlakuan 2 (P2) dengan dosis 400 mg/kgBB, sebanyak 7 ekor tikus diberi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)
4. Kelompok perlakuan 3 (P3) dengan dosis 800 mg/kgBB, sebanyak 7 ekor tikus diberi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)

Penelitian ini dilakukan selama 30 hari dengan pemberian ekstrak daun sirih sesuai dosis masing-masing tiap kelompok, dan dilakukan pembedahan di hari ke 31. Setelah melakukan pembedahan di lakukan pemeriksaan konsentrasi spermatozoa, motilitas dan morfologi spermatozoa

c. Pengambilan sampel spermatozoa

Hewan coba diterminasi kemudian dibedah menggunakan dissecting kit untuk mengambil organ testis dan cauda epididimis. Cauda epididimis dipisahkan dari testis dengan cara memotong bagian proksimal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Selanjutnya, cauda epididimis dimasukkan ke dalam pot plastik yang berisi PBS 1,5 ml kemudian pot yang sudah ada cauda epididimis di getarkan dengan tangan supaya sperma keluar ke larutannya. sehingga terbentuk suspensi spermatozoa.

d. Konsentrasi spermatozoa

1. Pemeriksaan ini di lakukan dengan mengencerkan 20 μL semen yang telah telah terliquifikasi ke dalam 380 μL PBS.
2. Kemudian masukkan sejumlah kecil campuran tersebut ke dalam improved neubauer chamber dan tunggu selama 5 menit untuk dihitung konsentrasi.
3. Perhitungan dilakukan pada 4 persegi besar untuk WBC.
4. Konsentarsi sperma dihitung dengan mengalikan jumlah sperma pada ke empat persegi dikali 50,000. Hasil perhitungan dinyatakan dalam $\times 10^6$ sel/ ml

e. Motilitas spermatozoa

Suspensi spermatozoa di teteskan pada gelas objek menggunakan pipet tetes dan di tutup menggunakan gelas penutup kemudian gerakan- gerakan spermatozoa di amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 60x.

Kategori motilitas spermatozoa adalah sebagai berikut:

- I. Kategori A: gerakan spermatozoa maju lurus dan cepat (progresif).
 - II. Kategori B: gerakan spermatozoa belok-belok, sulit maju lurus/lambat (nonprogresif).
 - III. Kategori C: spermatozoa diam atau tidak tampak bergerak (immotil).
- spermatozoa yang normal adalah presentase dari kategori A dan B. Presentase motilitas spermatozoa yang abnormal adalah presentase dari kategori C.

f. Morfologi spermatozoa

1. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan zat warna safranin dan crystal violet untuk melihat morfologi sel sperma yang normal dan abnormal (spermatogenic cells).
2. Terlebih dahulu buat sediaan apusan cairan sperma epididimis pada objects glass.
3. Kemudian teteskan zat warna crystal violet pada apusan selama 30 detik. Setelah itu, teteskan larutan iodine tanpa membilas zat warna sebelumnya dan tunggu selama 30 detik.
4. Kemudian bilas dengan aqudest.
5. Terakhir teteskan lagi apusan dengan zat warna safranin dan tunggu selama 30 detik.
6. Setelah itu baca apusan di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 60x.

3.6 Metode pengolahan data

3.6.1. Cara pengolahan data

Tahap – tahap Pengolahan data:

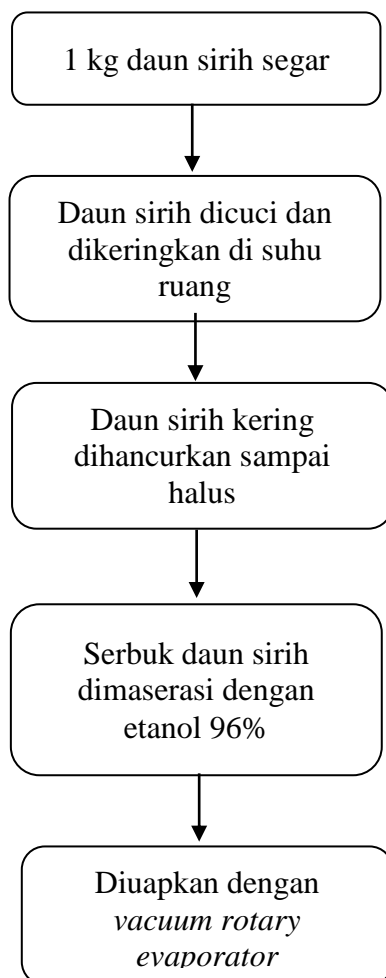
1. Editing data dilakukan untuk memeriksa dan kelengkapan data apabila data belum lengkap ataupun pada kesalahan data.
2. Coding data dilakukan apabila data sudah terkumpul kemudian dikoreksi ketepatannya dan kelengkapannya kemudian diberikan kode oleh peneliti secara manual sebelum di olah ke dalam computer.
3. Cleaning data yaitu pemeriksaan semua data yang telah dimasukkan ke dalam komputer guna menghindari terjadinya kesalahan pemasukan data.
4. Penabulasian data dengan cara disajikan kedalam tabel-tabel yang telah di sediakan.

3.6.2. Analisis Data

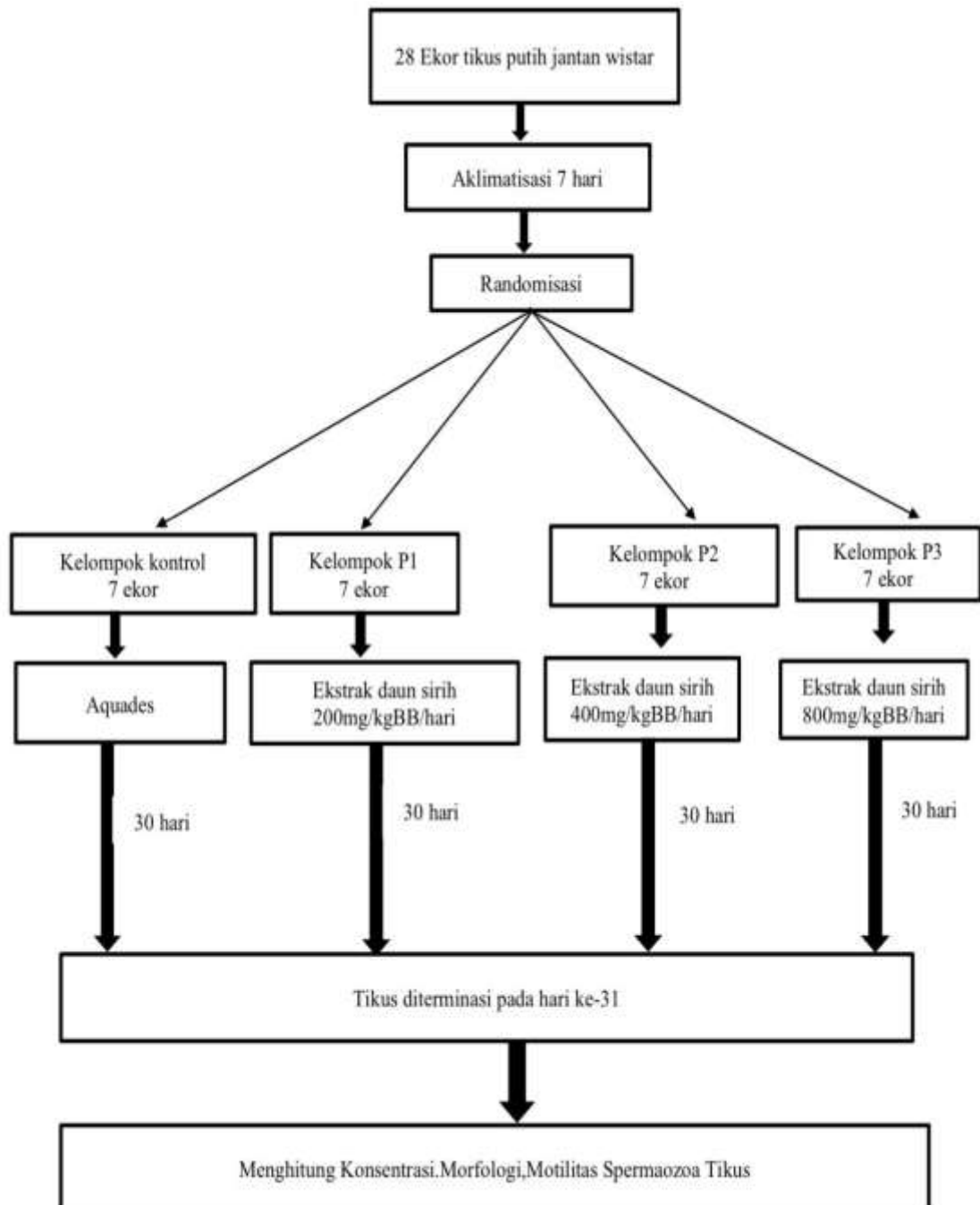
Data yang diperoleh dari setiap parameter (variabel) pengamatan dicatat dan disusun kedalam bentuk table. Data kuantitatif (variabel dependen) yang didapatkan, diuji kemaknaanya terhadap pengaruh kelompok perlakuan (variabel independen) dengan bantuan program statistik melalui komputer yaitu program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Selanjutnya dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro Wilk* dan apabila menunjukkan data terdistribusi normal dan data homogen maka dianalisa secara statistik dengan uji *One Way ANOVA* (*Analysis of Variant*). Jika terdapat data yang tidak normal maka dilanjutkan dengan *Non Parametric* yaitu uji *Kruskal wallis*. Derajat kemaknaan yang digunakan adalah ($p < 0,05$).

3.7 Alur Pelaksanaan Penelitian

3.7.1 Alur Pembuatan Ekstrak



3.7.2 Alur Perlakuan Terhadap Hewan Coba



BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian tentang pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap spermatogenesis ini dilakukan pada 28 ekor tikus putih jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang di bagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol 7 ekor tikus di beri pakan dan minum standar serta aquades. Kelompok perlakuan 1,2, dan 3 masing-masing 7 ekor tikus di beri pakan dan minum standar serta ekstrak daun sirih dengan dosis 200mg/grBB/hari, 400mg/grBB/hari, 800mg/grBB/hari ekstrak daun sirih selama 30 hari. Setelah induksi selesai tikus di bedah dengan alat dissecting kit yang di ambil epididymis tikus. Setelah di bedah epididymis nya di masukan ke pot plastic yang sudah ada larutan PBS. Lalu di ambil suspensi sperma epididymis nya dan masukan ke masing-masing pemeriksaan yang mau di periksa. Setelah selesai di amati konsentrasi,morfologi,motilitas dan dihitung dengan pembesaran 60x.

4.2. Analisis Data

4.2.1. Hasil analisis konsentrasi spermatozoa tikus

Tabel 4.1 Hasil analisis konsentrasi spermatozoa tikus

| Kelompok Tikus | Jumlah Spermatozoa | | | | Konsentrasi Spermatozoa (10^6) | P |
|----------------|--------------------|---------|---------|---------|------------------------------------|------|
| | Kamar 1 | Kamar 2 | Kamar 3 | Kamar 4 | | |
| Kontrol | 300 | 341 | 311 | 328 | 64.00 | 0.01 |
| P1 | 214 | 150 | 222 | 236 | 41.10 | |
| P2 | 171 | 162 | 159 | 177 | 33.45 | |
| P3 | 62 | 57 | 65 | 63 | 12.35 | |

Keterangan: Kontrol (tanpa perlakuan)

P1 di berikan ekstrak daun sirih dosis 200mg/hari

P2 di berikan ekstrak daun sirih dosis 400mg/hari

P3 di berikan ekstrak daun sirih dosis 800mg/hari selama 30 hari

Tabel 4.2.1.1 menunjukkan kecenderungan penurunan rata-rata konsentrasi spermatozoa tikus Wistar setelah di berikan ekstrak daun sirih di bandingkan dengan tikus Wistar kelompok kontrol. Semakin tinggi dosis ekstrak daun sirih semakin terjadi kecenderungan penurunan pada konsentrasi spermatozoa.

Uji statistik Anova memperlihatkan signifikansi sebesar 0.01. Untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Dari pengujian didapat bahwa perbedaan bermakna tersebut terjadi antar semua kelompok.

Tabel 4.2 Uji post hoc LSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Sig. |
|--------------|--------------|------|
| K | P1 | .000 |
| | P2 | .000 |
| | P3 | .000 |
| P1 | K | .000 |
| | P2 | .027 |
| | P3 | .000 |
| P2 | K | .000 |
| | P1 | .027 |
| | P3 | .000 |
| P3 | K | .000 |
| | P1 | .000 |
| | P2 | .000 |

Keterangan:

4.2.2 Hasil analisis motilitas spermatozoa tikus

Tabel 4.3 Hasil analisis motilitas spermatozoa tikus

| Kelompok Tikus | Motilitas Spermatozoa (%) | | | Persentase motilitas normal (A+B) | p |
|----------------|---------------------------|------------|------------|-----------------------------------|------|
| | Kategori A | Kategori B | Kategori C | | |
| Kontrol | 35 | 40 | 25 | 75 | 0.92 |
| P1 | 14 | 55 | 30 | 69 | |
| P2 | 10 | 60 | 30 | 70 | |
| P3 | 5 | 70 | 24 | 75 | |

Keterangan: Kontrol (Tanpa perlakuan)

P1 di berikan ekstrak daun sirih dosis 200mg/hari

P2 di berikan ekstrak daun sirih dosis 400mg/hari
 P3 di berikan ekstrak daun sirih dosis 800mg/hari selama 30 hari.

Tabel 4.2.2.1 menunjukkan pada kategori B menunjukkan kecenderungan kenaikan rata-rata pada motilitas spermatozoa setelah di berikan ekstrak daun sirih (P1,P2 dan P3). Namun berdasarkan persentase motilitas normal yang dihitung dari penjumlahan kategeori A dan B, tidak didapatkan perbedaan bermakna motilitas sperma antar kelompok perlakuan (p 0.92)

4.2.3 Hasil analisis morfologi spermatozoa tikus

Tabel 4.4 Hasil analisis morfologi spermatozoa tikus

| Kelompok Tikus | Morfologi Spermatozoa (%) | | P |
|----------------|---------------------------|----------|-------|
| | Normal | Abnormal | |
| Kontrol | 88 | 11 | 0.972 |
| P1 | 55 | 45 | |
| P2 | 31 | 69 | |
| P3 | 17 | 83 | |

Keterangan: Kontrol (Tanpa perlakuan)

P1 di berikan ekstrak daun sirih dosis 200mg/hari

P2 di berikan ekstrak daun sirih dosis 400mg/hari

P3 di berikan ekstrak daun sirih dosis 800mg/hari selama 30 hari.

Hasil ini menunjukkan kecenderungan penurunan rata-rata pada morfologi spermatozoa tikus Wistar setelah di berikan ekstrak daun sirih, dibandingkan dengan tikus Wistar kelompok kontrol. Semakin tinggi dosis yang di berikan maka semakin terjadi penurunan morfologi normal spermatozoa tikus Wistar. Untuk hasil morfologi spermatozoa abnormal menunjukkan kecenderungan kenaikan rata-rata morfologi spermatozoa tikus Wistar (P1, P2 dan P3) di bandingkan dengan tikus Wistar kelompok kontrol.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spermatogenesis dari kualitas spermatozoa seperti konsentrasi, motilitas, dan morfologi spermatozoa tikus Wistar yang di beri ekstrak daun sirih. Pada konsentrasi spermatozoa tikus Wistar yang di berikan ekstrak daun sirih mengalami kecenderungan penurunan konsentrasi, secara berurutan kelompok P1(41.10) spermatozoa/ml),P2 (34.45

spermatozoa/ml) dan P3(12.35 spermatozoa/ml) dibandingkan dengan konsentrasi kelompok kontrol yaitu (64.00 spermatozoa/ml)²¹.

Senyawa antifertilitas meliputi senyawa golongan steroid, alkaloid, isoflavonoid, triterpenoid dan xanton. dalam penelitian mengatakan golongan terpen dan minyak atsiri bekerjanya tidak pada proses spermatogenesisnya, tetapi pada proses transportasi sperma dapat menggumpalkan sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup sperma, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat tercegah. Hal ini yang dapat menjadi penyebab menurunnya motilitas spermatozoa pada kelompok kategori A dimana kelompok P1(15%), P2(10%) dan P3 (5%)²².

Pada hasil morfologi spermatozoa normal tikus Wistar yang diberikan ekstrak daun sirih mengalami kecenderungan penurunan presentase morfologi spermatozoa normal, secara berurutan P1 (55%), P2 (31%, dan P3 (17%), dibandingkan dengan morfologi spermatozoa normal dari kelompok kontrol yaitu (88%). Hasil sebaliknya didapatkan pada morfologi spermatozoa abnormal tikus wistar yang mengalami kecenderungan kenaikan presentase, secara berurutan P1 (45%), P2 (69%) dan P3 (83%), dibandingkan dengan morfologi spermatozoa abnormal dari kelompok kontrol sebanyak (12%). Berdasarkan data tersebut, dapat diamati pada morfologi normal, semakin tinggi dosis yang di berikan maka presentase setiap kelompok terjadi penurunan, dan untuk morfologi abnormal semakin tinggi dosis yang di berikan maka presentase setiap kelompok meningkat.

Selanjutnya adalah perhitungan anova pada konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa. Hasil dari uji statistic konsentrasi spermatozoa terdapat 0.001 ($P < 0.05$) menunjukkan ada perbedaan yang nyata pada konsentrasi spermatozoa. Pada hasil uji statistic motilitas spermatozoa terdapat 0.092 ($P > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan/ tidak bermakna pada motilitas spermatozoa. Dan hasil uji statistic morfologi terdapat 0.972 (> 0.05) menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata/ tidak bermakna. Penurunan ini terjadi karenakan kandungan senyawa dari daun sirih yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau teroid, saponin, terpen, fenilpropan terpinen, diastase 0.8-1.8% dan tannin 1-1.3%.

Kellis dan Vickery (1984) mengatakan bahwa, flavonoid yang disintesis oleh hampir seluruh dunia tumbuhan, dapat menghambat enzim aromatase. Dengan dihambatnya enzim tersebut yaitu yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen, maka jumlah androgen (testosteron) akan meningkat. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis tidak melepaskan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan atau LH (*Luteinizing Hormone*) dengan demikian akan menghambat spermatogenesis²³.

Dari penjelasan diatas, terlihat bahwa senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak daun sirih berpengaruh baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap keseimbangan hormonal tubuh, khususnya yang bertanggung jawab dalam menstimulasi proses spermatogenesis yaitu testosteron, *Luteinizing Hormone*, *Follicle Stimulating Hormone*, estrogen dan *Growth Hormone*. Ketidakseimbangan hormon-hormon ini dapat menurunkan bahkan dapat membuat sampai terjadinya proses spermatogenesis, sehingga infertilitas. Terganggunya proses spermatogenesis juga akan berpengaruh terhadap motilitas, jumlah dan morfologi spermatozoa.²⁴

Dari hasil dan pembahasan diatas, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun sirih berpotensi sebagai agen kontrasepsi pria karena dapat menekan produksi sperma dan dapat menurunkan kualitas dari spermatozoa.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle L.*) memiliki pengaruh terhadap konsentrasi spermatozoa, dari tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus L.*).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan lebih lanjut mengenai kandungan dalam daun sirih (*Piper betle L.*) dalam mengenai spermatogenesis seperti pada motilitas dan morfologi spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferdian J, Wijayahadi N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus Rotundus L.*) Terhadap Kuantitas Asi Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Betina. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2018;7(2):655-666.
2. Pemberian P, Daun E, Piper S, Longdong JJ, Queljoe E De, Yudistira A. TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*). 2017;6(3):120-127.
3. Bahrami H, Mohseni M, Amini L, Karimian Z. The effect of six weeks yoga exercises on quality of life in infertile women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Iran J Obstet Gynecol Infertil*. 2019;22(5):18-26.
4. Akbar A. Gambaran Faktor Penyebab Infertilitas Pria Di Indonesia: Meta Analisis. *J PANDU HUSADA*. 2020;1(2):66-74.
5. Mudayatiningsih S, Endang SD, Hastuti S, Isnaeni DTN. Ekstrak Daun Sirih (*Piper Bettle. L*) Dan Kualitas Spermatozoa Pada Mencit (*Mus musculus*). *J Inf Kesehat Indones*. 2015;1(2):127-136.
6. Nursalam T. Klasifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*). *J Chem Inf Model*. 2015;53(9):1689-1699.
7. Putri RA, Nugroho AS, Nurwahyunani A. Jenis–Jenis Tanaman Obat Di Kebun Raya Baturraden Kabupaten Banyumas. In: *Seminar Nasional Sains & Entrepreneurship*. Vol 1. ; 2021.
8. Solheim AM. Discovery and Optimization of Anti-Cancer Properties of Traditional Herbal Medicines Using Zebrafish-Human Tumor Xenografts. Published online 2020.
9. Fitri Ningtias A. Manfaat Daun Sirih (*Piper betle L.*) Sebagai Obat Tradisional Penyakit Dalam di Kecamatan Kalianget Kabupaten Sumenep Madura.
10. Rejeki PS, Putri EAC, Prasetya RE. Ovariectomi pada Tikus dan Mencit. Published online 2019.

11. Tolistiawaty I. Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba. Published online 2019.
12. Shubhangi S. Contraceptive Capability of Herbs and Plants: A Review. *Bull Pure Appl Sci.* 2021;(1).
13. Golshan M, Alavi SMH. Androgen signaling in male fishes: Examples of anti-androgenic chemicals that cause reproductive disorders. *Theriogenology.* 2019;139:58-71.
14. Staub C, Johnson L. Spermatogenesis in the bull. *Animal.* 2018;12:s27-s35.
15. Nyanti L, Samsudin A, Tiong IK. Syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion and Leser-Trélat syndrome as uncommon paraneoplastic manifestations of renal malignancy - A geriatric experience: A case report. *J Med Case Rep.* 2019;13(1):1-5. doi:10.1186/s13256-019-2122-8
16. Amilah S, Sukarjati S, Rachmatin DP, Masruroh M. Leaf and Petiole Extract of *Centella Asiatica* are Potential for Antifertility and Antimicrobial Material. *Folia Medica Indones.* 2019;55(3):188-197.
17. Recchia K, Jorge AS, Pessôa LV de F, et al. Actions and roles of FSH in germinative cells. *Int J Mol Sci.* 2021;22(18):10110.
18. Arisanti V. Pengaruh Kontrasepsi Hormonal terhadap Disfungsi Seksual pada Wanita. *J Med Hutama.* 2021;2(02 Januari):721-725.
19. Wuryaningsih LE, Taufik A, Karina L, Wenny K. Uji In Vivo Efektivitas Cuka Madu dengan Ultrasound untuk Mengurangi Selulit. *Sci Comm.*:14.
20. Vickram S, Rohini K, Srinivasan S, et al. Role of Zinc (Zn) in Human Reproduction: A Journey from Initial Spermatogenesis to Childbirth. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):2188.
21. Tethool AN, Purwaningsih P. EFEK PEMBERIAN EKSTRAK KAYU AKWAY (*Drymis Sp*) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus L*): The Effect of Akway Wood Extract (*Drymis Sp*) on The Mice (*Mus musculus L*) Spermatozoa Quality. *J Ilmu Peternak Dan Vet Trop (Journal Trop Anim Vet Sci.* 2019;9(1):24-31.
22. Susilo S, Akbar B, Pratinaningsih I. Pengaruh ekstrak etanol daun sambiloto terhadap jumlah dan motilitas spermatozoa mencit jantan. *J*

Biodjati. 2018;3(2):166-172.

23. Schenk JL. Principles of maximizing bull semen production at genetic centers. *Animal*. 2018;12(s1):s142-s147.
24. As'ari H, Kurnia TID. PENGARUH PAPARAN TEPUNG MOCAF TERFERMENTASI TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus L.*). *Bioma J Biol dan Pembelajaran Biol*. 2019;4(2):101-110.

LAMPIRAN

Lampiran Analisa Data

Descriptives

| | | Statistic | Std. Error | |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------|------------|--------|
| Konsentrasi | Mean | 182.13 | 35.807 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 97.46 | |
| | | Upper Bound | 266.79 | |
| | 5% Trimmed Mean | 180.25 | | |
| | Median | 166.50 | | |
| | Variance | 10256.982 | | |
| | Std. Deviation | 101.277 | | |
| | Minimum | 57 | | |
| | Maximum | 341 | | |
| | Range | 284 | | |
| | Interquartile Range | 195 | | |
| | Skewness | .357 | .752 | |
| | Kurtosis | -.710 | 1.481 | |
| | Motiltas | Mean | 36.25 | 8.647 |
| 95% Confidence Interval for Mean | | Lower Bound | 15.80 | |
| | | Upper Bound | 56.70 | |
| 5% Trimmed Mean | | 36.11 | | |
| Median | | 37.50 | | |
| Variance | | 598.214 | | |
| Std. Deviation | | 24.458 | | |
| Minimum | | 5 | | |
| Maximum | | 70 | | |
| Range | | 65 | | |
| Interquartile Range | | 48 | | |
| Skewness | | .004 | .752 | |
| Kurtosis | | -1.670 | 1.481 | |
| Morfologi | | Mean | 50.00 | 10.210 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 25.86 | |
| | | Upper Bound | 74.14 | |
| | 5% Trimmed Mean | 50.00 | | |
| | Median | 50.00 | | |
| | Variance | 834.000 | | |
| | Std. Deviation | 28.879 | | |
| | Minimum | 12 | | |
| | Maximum | 88 | | |
| | Range | 76 | | |
| | Interquartile Range | 59 | | |
| | Skewness | .000 | .752 | |
| | Kurtosis | -1.546 | 1.481 | |

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Konsentrasi | .169 | 8 | .200* | .933 | 8 | .545 |
| Motiltas | .183 | 8 | .200* | .931 | 8 | .523 |
| Morfologi | .123 | 8 | .200* | .940 | 8 | .611 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Descriptives

Konsentrasi

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| K | 4 | 320.00 | 18.129 | 9.065 | 291.15 | 348.85 | 300 | 341 |
| P1 | 4 | 205.50 | 38.101 | 19.050 | 144.87 | 266.13 | 150 | 236 |
| P2 | 4 | 167.25 | 8.261 | 4.131 | 154.10 | 180.40 | 159 | 177 |
| P3 | 4 | 61.75 | 3.403 | 1.702 | 56.33 | 67.17 | 57 | 65 |
| Total | 16 | 188.63 | 97.288 | 24.322 | 136.78 | 240.47 | 57 | 341 |

Descriptives

Motiltas

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| K | 3 | 33.33 | 7.638 | 4.410 | 14.36 | 52.31 | 25 | 40 |
| P1 | 3 | 33.00 | 20.664 | 11.930 | -18.33 | 84.33 | 14 | 55 |
| P2 | 3 | 32.67 | 24.705 | 14.263 | -28.70 | 94.04 | 10 | 59 |
| P3 | 3 | 33.00 | 33.422 | 19.296 | -50.02 | 116.02 | 5 | 70 |
| Total | 12 | 33.00 | 20.059 | 5.791 | 20.26 | 45.74 | 5 | 70 |

Descriptives

Morfologi

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|---|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| K | 2 | 49.50 | 54.447 | 38.500 | -439.69 | 538.69 | 11 | 88 |
| P1 | 2 | 50.00 | 7.071 | 5.000 | -13.53 | 113.53 | 45 | 55 |
| P2 | 2 | 50.00 | 26.870 | 19.000 | -191.42 | 291.42 | 31 | 69 |
| P3 | 2 | 49.50 | 45.962 | 32.500 | -363.45 | 462.45 | 17 | 82 |
| Total | 8 | 49.75 | 28.907 | 10.220 | 25.58 | 73.92 | 11 | 88 |

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-------------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| Konsentrasi | Based on Mean | 4.089 | 3 | 12 | .033 |
| | Based on Median | 1.411 | 3 | 12 | .288 |
| | Based on Median and with adjusted df | 1.411 | 3 | 3.410 | .378 |
| | Based on trimmed mean | 3.489 | 3 | 12 | .050 |

Test of Homogeneity of Variances

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|----------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| Motiltas | Based on Mean | 1.603 | 3 | 8 | .264 |
| | Based on Median | .611 | 3 | 8 | .626 |
| | Based on Median and with adjusted df | .611 | 3 | 4.947 | .637 |
| | Based on trimmed mean | 1.518 | 3 | 8 | .283 |

Test of Homogeneity of Variances

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|----------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| Motiltas | Based on Mean | 1.392 | 3 | 8 | .142 |
| | Based on Median | .676 | 3 | 8 | .591 |
| | Based on Median and with adjusted df | .676 | 3 | 4.502 | .607 |
| | Based on trimmed mean | 3.860 | 3 | 8 | .156 |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Konsentrasi

LSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| K | P1 | 114.500* | 15.249 | .000 | 81.28 | 147.72 |
| | P2 | 152.750* | 15.249 | .000 | 119.53 | 185.97 |
| | P3 | 258.250* | 15.249 | .000 | 225.03 | 291.47 |
| P1 | K | -114.500* | 15.249 | .000 | -147.72 | -81.28 |
| | P2 | 38.250* | 15.249 | .027 | 5.03 | 71.47 |
| | P3 | 143.750* | 15.249 | .000 | 110.53 | 176.97 |
| P2 | K | -152.750* | 15.249 | .000 | -185.97 | -119.53 |
| | P1 | -38.250* | 15.249 | .027 | -71.47 | -5.03 |
| | P3 | 105.500* | 15.249 | .000 | 72.28 | 138.72 |
| P3 | K | -258.250* | 15.249 | .000 | -291.47 | -225.03 |

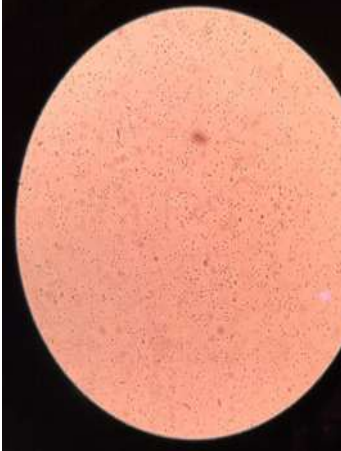
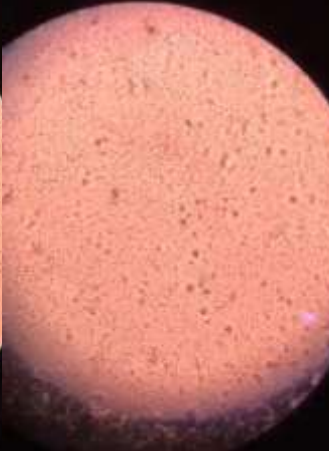
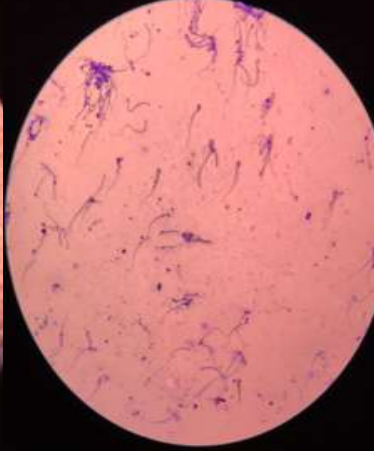
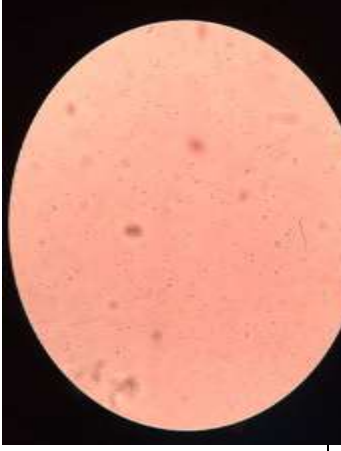
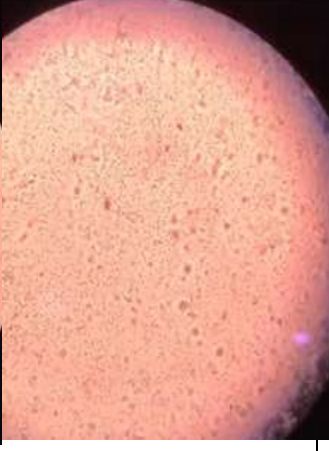
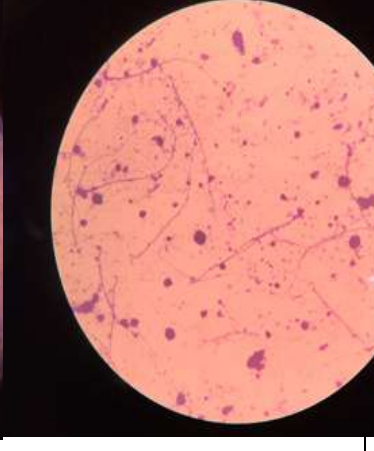
| | | | | | |
|----|-----------|--------|------|---------|---------|
| P1 | -143.750* | 15.249 | .000 | -176.97 | -110.53 |
| P2 | -105.500* | 15.249 | .000 | -138.72 | -72.28 |

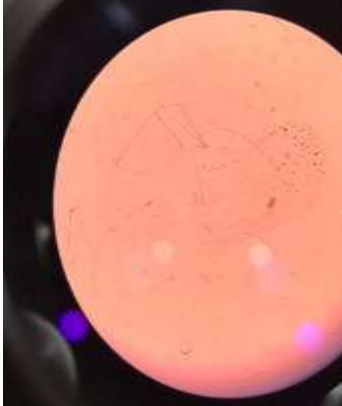
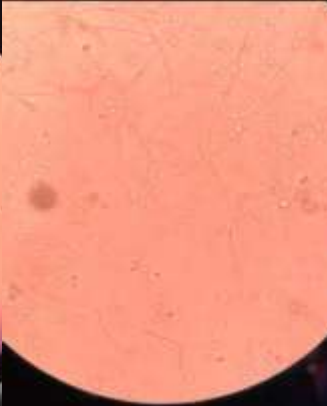

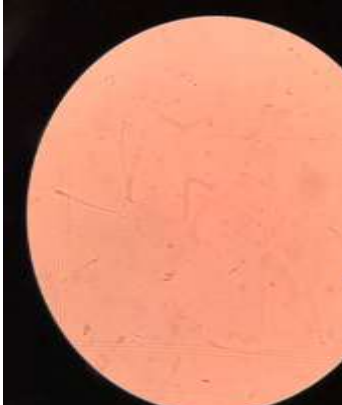
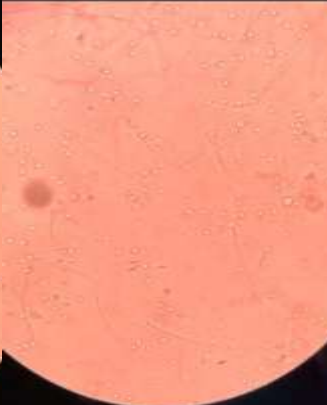

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran Perhitungan BB Tikus Hari Ke 1

| No | Kelompok kontrol | Kelompok P1 | Kelompok P2 | Kelompok P3 |
|---------------------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | 190 gr | 170 gr | 230 gr | 245 gr |
| 2 | 170 gr | 220 gr | 198 gr | 250 gr |
| 3 | 200 gr | 200 gr | 223 gr | 243 gr |
| 4 | 220 gr | 200 gr | 195 gr | 240 gr |
| 5 | 200 gr | 185 gr | 185 gr | 200 gr |
| 6 | 180 gr | 217 gr | 179 gr | 209 gr |
| 7 | 165 gr | 175 gr | 158 gr | 240 gr |
| Rata- Rata Berat Badan Tikus | 189,2 gr | 195,2 gr | 195,4 gr | 232,4 gr |
| Dosis Berdasarkan Rata- Rata BB Tikus | Aquades | 1 ml/hari | 2 ml/hari | 3 ml/hari |

Gambar: Lampiran Dokumentasi Spermatozoa


| Kelompok | Konsentrasi spermatozoa | Motilitas spermatozoa | Morfologi spermatozoa |
|----------|---|--|---|
| kontrol |  |  |  |
| P1 |  |  |  |

| | | | |
|----|--|---|--|
| P2 |  |  |  |
| P3 |  |  |  |

Gambar: Lampiran Dokumentasi Penelitian



Gambar: Lampiran Ethical Clearance



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
 No : 791/KEPK/FKUMSU/2022

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Widia Syahfitri
Principal In Investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan Judul
Title

"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRIH (PIPER BATTLE.L) TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (RATTUS NORVEGICUS L.)"


"EFFECT OF BETEL LEAF EXTRACT (PIPER BATTLE.L) AGAINST SPERMATOGENESIS MALE WHITE RAT WISTAR LINE (RATTUS NORVEGICUS L.)"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO-2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guadelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 23 Maret 2022 sampai dengan tanggal 23 Maret 2023
The declaration of ethics applies during the periode March 23, 2022 until March 23, 2023

Medan, 23 Maret 2022



Dr. Dr. Nurjady MKT

Dipindai dengan CamScanner

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

Widia Syahfitri¹, Melviana Lubis²

¹*Faculty of Medicine, Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

²*Department of Pharmacology and Patologi klinik, Faculty of Medicine,
Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

ABSTRACT

Background: *The family planning program implemented by the government is still not running optimally due to the low participation of men in family planning. This is due to the unavailability of family planning facilities that are truly safe and comfortable for men. Efforts to increase the participation of men in family planning need to be done through research on antifertility drugs that can be used by men. Therefore, research that aims to explore natural ingredients derived from plants that are efficacious as male antifertility should receive financial support from the government.*

Aim: *Knowing the difference in the effect of betel leaf extract (*Piper betle L.*) on the spermatogenesis of wistar white rats (*Rattus norvegicus*) between various control and treatment groups.*

Methods: *This study is a true experimental study with a post test controlled group design, which is a type of research that observes the control group and the treatment group after the action, where in this study there were 1 control and 3 groups with different treatment doses.*

Results: *The administration of ethanol extract of betel leaf (*Piper betle L.*) has an effect on the concentration, motility and morphology of spermatozoa, from male white rats of wistar strain (*Rattus norvegicus L.*) although statistically using the Oneway ANOVA test, the test results showed no significant difference at the test level > 0.05 between motility and morphology. The concentration of spermatozoa showed significant at the test level < 0.05*

Conclusion: *There was no significant effect of betel leaf extract (*Piper betle*) on motility and morphology of spermatozoa.*

Keywords: *Betel leaf extract, spermatogenesis, spermatozoa quality.*

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

Widia Syahfitri¹, Melviana Lubis²

¹*Faculty of Medicine, Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

²*Department of Pharmacology and Therapy, Faculty of Medicine,
Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

ABSTRAK

Latar Belakang: Program keluarga berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam ber-KB masih sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang benar-benar aman dan nyaman bagi pria. Upaya peningkatan keikutsertaan pria dalam ber-KB perlu dilakukan melalui penelitian obat antifertilitas yang dapat digunakan oleh kaum pria. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk eksplorasi bahan alam berasal dari tanaman yang berkhasiat sebagai antifertilitas pria hendaknya mendapat dukungan dana dari pemerintah.

Tujuan: Mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap spermatogenesis tikus putih galur wistar (*Rattus Novergicus*) antar berbagai kelompok kontrol dan perlakuan.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan rancangan post test controlled group design, yaitu jenis penelitian yang melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sesudah tindakan, dimana di penelitian ini terdapat 1 kontrol dan 3 kelompok dengan dosis perlakuan yang berbeda

Hasil: Pemberian ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle L.*) memiliki pengaruh terhadap konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa, dari tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus L.*) meskipun secara statistik dengan menggunakan uji Oneway ANOVA, hasil pengujian tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada taraf uji > 0.05 antara motilitas dan morfologi. Pada konsentrasi spermatozoa menunjukkan bermakna pada taraf uji < 0.05

Kesimpulan: Tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle*) Terhadap motilitas, dan morfologi spermatozoa.

Kata Kunci: Ekstrak daun sirih, spermatogenesis, kualitas spermatozoa.

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. Pertumbuhan jumlah penduduk ini tentu saja akan berimplikasi secara signifikan terhadap perkembangan ekonomi dan kesejahteraan negara. Untuk menahan laju peningkatan jumlah penduduk, Indonesia menggunakan program keluarga berencana. Keluarga berencana adalah tindakan yang membantu individu untuk mendapatkan objek tertentu, menghindari kehamilan yang tidak diinginkan, mendapatkan kehamilan yang diinginkan, mengatur interval kehamilan, menentukan jumlah anak dalam keluarga, mengontrol saat kelahiran dalam hubungan suami istri.

Program keluarga berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam ber-KB masih sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang benar-benar aman dan nyaman bagi pria. Upaya peningkatan keikutsertaan pria dalam ber-KB perlu dilakukan melalui penelitian obat antifertilitas yang dapat digunakan oleh kaum pria. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk eksplorasi bahan alam berasal dari tanaman yang berkhasiat sebagai antifertilitas pria hendaknya mendapat dukungan dana dari pemerintah (Rina, 2014).

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. Kontrasepsi hormonal merupakan kontrasepsi dimana estrogen dan progesteron memberikan umpan balik terhadap kelenjar hipofisis melalui hipotalamus sehingga terjadi hambatan terhadap folikel dan proses ovulasi. Melalui hipotalamus dan hipofisis, estrogen dapat menghambat pengeluaran Folicle Stimulating Hormone (FSH) sehingga perkembangan dan kematangan Folicle De Graaf tidak terjadi. Di samping itu progesteron dapat menghambat pengeluaran Hormone Luteinizing (LH). Estrogen mempercepat peristaltik tuba sehingga hasil konsepsi mencapai uterus endometrium yang belum siap untuk menerima implantasi.

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. Pilatau suntikan KB untuk pria harus dapat mengendalikan produksi jutaan spermatozoa tanpa penurunan libido dan efek samping yang membahayakan.

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 betle L*). dapat menghambat kesuburan tikus putih jantan galur secara tidak permanen.

Dalam penelitiannya menyatakan bahwa penurunan kualitas spermatozoa yang meliputi gerakan sperma, viabilitas, macam gerakan akibat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle L*) pada tikus jantan disebabkan oleh kandungan 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 sistem limbik di otak.

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.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan rancangan *post test controlled group design*, yaitu jenis penelitian yang melakukan pengamatan terhadap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sesudah tindakan, di mana satu kelompok sebagai kontrol dan 3 kelompok dengan dosis perlakuan yang berbeda.

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium Bagian Farmakologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dimulai dari bulan Mei 2022 – Juni 2022.

Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus Novergicus*) berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria Inklusi:

- Tikus jantan (*Rattus Novergicus*)
- Tikus dalam keadaan aktif dan sehat
- Usia tikus 4-5 bulan
- Berat badan ideal 250-275gram

Kriteria Eksklusi:

3. Tikus mengalami kelainan anatomis (cacat)
4. Tikus pernah digunakan sebagai hewan coba pada penelitian sebelumnya

Besar sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus Federer, dimana jumlah

kelompok (k) saya dalam penelitian ini adalah 4 kelompok:

$$\begin{aligned} (k-1)(n-1) &> 15 \\ (4-1)(n-1) &> 15 \\ 3(n-1) &> 15 \\ 3n-3 &> 15 \\ 3n &> 15 + 3 \\ 3n &> 18 \\ n &> 18/3 = 6 \end{aligned}$$

Keterangan:

k: jumlah kelompok

n: jumlah sampel dalam tiap kelompok

Pembuatan Ekstrak

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan daun sirih (*Rattus Novergicus*) dan dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 1 kg daun sirih segar dicuci dengan air mengalir hingga bersih, setelah itu keringkan daun. Daun sirih yang telah kering dihancurkan sampai halus sampai tingkat kehalusan tertentu dan didapatkan 100 gram berat kering daun sirih. Lalu daun sirih yang telah dihancurkan dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut etanol 96% hingga melewati batas permukaan sekitar tiga jari. Perendaman dilakukan selama 3 hari dan dilakukan pengadukan sesekali pada suhu ruang. Kemudian maserat diuapkan dengan *Vacuum Rotary Evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental daun sirih.

Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Sebelum hewan coba diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi pada hewan uji yang dilakukan selama 1 minggu sebelum diberikan perlakuan dan bertujuan sebagai proses seleksi hewan uji mana yang dapat memenuhi kriteria serta adaptasi tikus terhadap lingkungan nya yang baru. Setiap kelompok ditempatkan di kandang yang berbeda-beda. 28 tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok,

satu sebagai kontrol negatif dan tiga sebagai kelompok perlakuan terdiri dari:

1. Kontrol negatif sebanyak 7 ekor tikus diberi aquades.
2. Kelompok perlakuan 1 (P1) dengan dosis 200 mg/kgBB, sebanyak 7 ekor tikus diberi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)
3. Kelompok perlakuan 2 (P2) dengan dosis 400 mg/kgBB, sebanyak 7 ekor tikus diberi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)
4. Kelompok perlakuan 3 (P3) dengan dosis 800 mg/kgBB, sebanyak 7 ekor tikus diberi ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*)

Penelitian ini dilakukan selama 30 hari dengan pemberian ekstrak daun sirih sesuai dosis masing-masing tiap kelompok, dan dilakukan pembedahan di hari ke 31. Setelah melakukan pembedahan di lakukan pemeriksaan konsentrasi spermatozoa, motilitas dan morfologi spermatozoa

a. Pengambilan sampel spermatozoa

Hewan coba diterminasi kemudian dibedah menggunakan dissecting kit untuk mengambil organ testis dan cauda epididimis. Cauda epididimis dipisahkan dari testis dengan cara memotong bagian proksimal corpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Selanjutnya, cauda epididimis dimasukkan ke dalam pot plastik yang berisi PBS 1,5 ml kemudian pot yang sudah ada cauda epididimis di getarkan dengan tangan supaya sperma keluar ke larutannya. sehingga terbentuk suspensi spermatozoa.

b. Konsentrasi spermatozoa

1. Pemeriksaan ini di lakukan dengan mengencerkan 20 μ L semen yang telah telah terliquifikasi ke dalam 380 μ L PBS.
2. Kemudian masukkan sejumlah kecil campuran tersebut ke dalam improved neubauer chamber dan tunggu selama 5 menit untuk dihitung konsentrasi.
3. Perhitungan dilakukan pada 4 persegi besar untuk WBC.
4. Konsentarsi sperma dihitung dengan mengalikan jumlah sperma pada ke empat persegi dikali 50,000. Hasil perhitungan dinyatakan dalam $\times 10^6$ sel/ ml

c. Motilitas spermatozoa

Suspensi spermatozoa di teteskan pada gelas objek menggunakan pipet tetes dan di tutup menggunakan gelas penutup kemudian gerakan- gerakan spermatozoa di amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 60x. Kategori motilitas spermatozoa adalah sebagai berikut:

- I. Kategori A: gerakan spermatozoa maju lurus dan cepat (progresif).
- II. Kategori B: gerakan spermatozoa belok-belok, sulit maju lurus/lambat (nonprogresif).
- III. Kategori C: spermatozoa diam atau tidak tampak bergerak (immotil). spermatozoa yang normal adalah presentase dari kategori A dan B. Presentase motilitas spermatozoa yang abnormal adalah presentase dari kategori C.

d. Morfologi spermatozoa

1. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan zat warna safranin dan crystal violet untuk melihat morfologi sel sperma yang normal dan abnormal (spermatogenic cells).
2. Terlebih dahulu buat sediaan apusan cairan sperma epididimis pada objects glass.
3. Kemudian teteskan zat warna crystal violet pada apusan selama 30 detik. Setelah itu, teteskan larutan iodine tanpa membilas zat warna sebelumnya dan tunggu selama 30 detik.
4. Kemudian bilas dengan aquadest.
5. Terakhir teteskan lagi apusan dengan zat warna safranin dan tunggu selama 30 detik.
6. Setelah itu baca apusan di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif 60x.

HASIL

Penelitian tentang pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle*) terhadap spermatogenesis ini dilakukan pada 28 ekor tikus putih jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang di bagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol 7 ekor tikus di beri pakan dan minum standar serta aquades. Kelompok perlakuan 1,2, dan 3 masing-masing 7 ekor tikus di beri pakan dan minum standar serta ekstrak daun sirih dengan dosis 200mg/grBB/hari,400mg/grBB/hari,800mg/gr

BB/hari ekstrak daun sirih selama 30 hari. Setelah induksi selesai tikus di bedah dengan alat dissecting kit yang di ambil epididymis tikus. Setelah di bedah epididymis nya di masukan ke pot plastic yang sudah ada larutan PBS. Lalu di ambil suspensi sperma epididymis nya dan masukan ke masing-masing pemeriksaan yang mau di periksa. Setelah selesai di amati konsentrasi, morfologi, motilitas dan dihitung dengan pembesaran 60x.

ANOVA

Konsentrasi

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 136393.250 | 3 | 45464.417 | 97.764 | .000 |
| Within Groups | 5580.500 | 12 | 465.042 | | |
| Total | 141973.750 | 15 | | | |

Keterangan: Berdasarkan hasil pengujian Anova, di ketahui nilai sig sebesar 0.000 <0.05 sehingga dapat di simpulkan bahwa kelompok konsentrasi spermatozoa tersebut bermakna/ada pengaruh.

ANOVA

Motilitas

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | .667 | 3 | .222 | .011 | .972 |
| Within Groups | 4425.333 | 8 | 553.167 | | |
| Total | 4426.000 | 11 | | | |

Keterangan: Berdasarkan hasil pengujian Anova, di ketahui nilai sig 0.092 > 0.05 sehingga bisa dapat di simpulkan bahwa kelompok motilitas spermatozoa tersebut tidak bermakna/tidak ada pengaruh.

ANOVA

Morfologi

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | .500 | 3 | .167 | .094 | .972 |
| Within Groups | 5849.000 | 4 | 1462.250 | | |
| Total | 5849.500 | 7 | | | |

Keterangan: Berdasarkan hasil pengujian Anova, di ketahui nilai sig 0.972 > 0.05 sehingga bisa dapat di simpulkan bahwa kelompok morfologi spermatozoa tersebut tidak bermakna/tidak ada pengaruh.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spermatogenesis dari kualitas spermatozoa seperti konsentrasi, motilitas, dan morfologi spermatozoa tikus Wistar yang di beri ekstrak daun sirih. Pada konsentrasi spermatozoa tikus Wistar yang di berikan ekstrak daun sirih mengalami kecenderungan penurunan konsentrasi, secara berurutan kelompok P1(41.10) spermatozoa/ml, P2 (34.45 spermatozoa/ml) dan P3(12.35 spermatozoa/ml) dibandingkan dengan konsentrasi kelompok kontrol yaitu (64.00 spermatozoa/ml)²¹.

Senyawa antifertilitas meliputi senyawa golongan steroid, alkaloid, isoflavonoid, triterpenoid dan xanton. dalam penelitian mengatakan golongan terpen dan minyak atsiri bekerjanya tidak pada proses spermatogenesisnya, tetapi pada proses transportasi sperma dapat menggumpalkan sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup sperma, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat tercegah. Hal ini yang dapat menjadi penyebab menurunnya motilitas spermatozoa pada kelompok kategori A dimana kelompok P1(15%), P2(10%) dan P3 (5%)²².

Pada hasil morfologi spermatozoa normal tikus Wistar yang diberikan ekstrak daun sirih mengalami kecenderungan penurunan presentase morfologi spermatozoa normal, secara berurutan P1 (55%), P2 (31%, dan P3 (17%), dibandingkan dengan morfologi spermatozoa normal dari kelompok kontrol yaitu (88%). Hasil sebaliknya didapatkan pada morfologi spermatozoa abnormal tikus wistar yang mengalami kecenderungan kenaikan presentase, secara berurutan P1 (45%), P2 (69%) dan P3 (83%), dibandingkan dengan morfologi spermatozoa abnormal dari kelompok kontrol sebanyak (12%). Berdasarkan data tersebut, dapat diamati pada

morfologi normal, semakin tinggi dosis yang di berikan maka presentase setiap kelompok terjadi penurunan, dan untuk morfologi abnormal semakin tinggi dosis yang di berikan maka presentase setiap kelompok meningkat.

Selanjutnya adalah perhitungan Anova pada konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa. Hasil dari uji statistic konsentrasi spermatozoa terdapat 0.001 ($P < 0.05$) menunjukkan ada perbedaan yang nyata pada konsentrasi spermatozoa. Pada hasil uji statistic motilitas spermatozoa terdapat 0.092 ($P > 0.05$) menunjukkan tidak ada perbedaan/ tidak bermakna pada motilitas spermatozoa. Dan hasil uji statistic morfologi terdapat 0.972 (> 0.05) menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata/ tidak bermakna. Penurunan ini terjadi karenakan kandungan senyawa dari daun sirih yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau teroid, saponin, terpen, fenilpropan terpinen, diastase 0.8-1.8% dan tannin 1-1.3%.

Kellis dan Vickery (1984) mengatakan bahwa, flavonoid yang disintesis oleh hampir seluruh dunia tumbuhan, dapat menghambat enzim aromatase. Dengan dihambatnya enzim tersebut yaitu yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen, maka jumlah androgen (testosteron) akan meningkat. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis tidak melepaskan FSH (Follicle Stimulating Hormone) dan atau LH (Luteinizing Hormone) dengan demikian akan menghambat spermatogenesis.²³

Dari penjelasan diatas, terlihat bahwa senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak daun sirih berpengaruh baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap keseimbangan hormonal tubuh, khususnya

yang bertanggung jawab dalam menstimulasi proses spermatogenesis yaitu testosteron, Luteinizing Hormone, Follicle Stimulating Hormone, estrogen dan Growth Hormone. Ketidakseimbangan hormon-hormon ini dapat menurunkan bahkan dapat membuat sampai terjadinya proses spermatogenesis, sehingga infertilitas. Terganggunya proses spermatogenesis juga akan berpengaruh terhadap motilitas, jumlah dan morfologi spermatozoa.²⁴

Dari hasil dan pembahasan diatas, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun sirih berpotensi sebagai agen kontrasepsi pria karena dapat menekan produksi sperma dan dapat menurunkan kualitas dari spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle L.*) memiliki pengaruh terhadap konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa, dari tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus L.*) meskipun secara statistik dengan menggunakan uji Oneway ANOVA, hasil pengujian tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada taraf uji > 0.05 antara motilitas dan morfologi. Pada konsentrasi spermatozoa menunjukkan bermakna pada taraf uji < 0.05 .

SARAN

1. Perlu dilakukan lebih lanjut mengenai kandungan dalam daun sirih (*Piper betle L.*) dalam mengenai spermatogenesis seperti pada motilitas dan morfologi spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferdian J, Wijayahadi N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki (*Cyperus Rotundus L.*) Terhadap Kuantitas Asi Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Betina. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2018;7(2):655-666.
2. Pemberian P, Daun E, Piper S, Longdong JJ, Queljoe E De, Yudistira A. TERHADAP SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*). 2017;6(3):120-127.
3. Bahrami H, Mohseni M, Amini L, Karimian Z. The effect of six weeks yoga exercises on quality of life in infertile women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Iran J Obstet Gynecol Infertil*. 2019;22(5):18-26.
4. Akbar A. Gambaran Faktor Penyebab Infertilitas Pria Di Indonesia: Meta Analisis. *J PANDU HUSADA*. 2020;1(2):66-74.
5. Mudayatiningsih S, Endang SD, Hastuti S, Isnaeni DTN. Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle. L*) Dan Kualitas Spermatozoa Pada Mencit (*Mus musculus*). *J Inf Kesehat Indones*. 2015;1(2):127-136.
6. Nursalam T. Klasifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*). *J Chem Inf Model*. 2015;53(9):1689-1699.
7. Putri RA, Nugroho AS, Nurwahyunani A. Jenis-Jenis Tanaman Obat Di Kebun Raya Baturraden Kabupaten Banyumas. In: *Seminar Nasional Sains & Entrepreneurship*. Vol 1. ; 2021.
8. Solheim AM. Discovery and Optimization of Anti-Cancer Properties of Traditional Herbal Medicines Using Zebrafish-Human Tumor Xenografts. Published online 2020.
9. Fitri Ningtias A. Manfaat Daun Sirih (*Piper betle L.*) Sebagai Obat Tradisional Penyakit Dalam di Kecamatan Kalianget Kabupaten Sumenep Madura.
10. Rejeki PS, Putri EAC, Prasetya RE. Ovariectomi pada Tikus dan Mencit. Published online 2019.
11. Tolistiawaty I. Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba. Published online 2019.
12. Shubhangi S. Contraceptive Capability of Herbs and Plants: A Review. *Bull Pure Appl Sci*. 2021;(1).
13. Golshan M, Alavi SMH. Androgen signaling in male fishes: Examples of anti-androgenic chemicals that cause reproductive disorders. *Theriogenology*. 2019;139:58-71.
14. Staub C, Johnson L. Spermatogenesis in the bull. *Animal*. 2018;12:s27-s35.
15. Nyanti L, Samsudin A, Tiong IK. Syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion and Leser-Trélat syndrome as uncommon paraneoplastic manifestations of renal malignancy - A geriatric experience: A case report. *J Med Case Rep*. 2019;13(1):1-5. doi:10.1186/s13256-019-2122-8
16. Amilah S, Sukarjati S, Rachmatin DP, Masrur M. Leaf and Petiole Extract of *Centella Asiatica* are Potential for Antifertility and Antimicrobial Material. *Folia Medica Indones*. 2019;55(3):188-197.
17. Recchia K, Jorge AS, Pessôa LV de F, et al. Actions and roles of FSH in germinative cells. *Int J Mol Sci*. 2021;22(18):10110.
18. Arisanti V. Pengaruh Kontrasepsi Hormonal terhadap Disfungsi Seksual pada Wanita. *J Med Hutama*. 2021;2(02 Januari):721-725.
19. Wuryaningsih LE, Taufik A, Karina L, Wenny K. Uji In Vivo Efektivitas Cuka Madu dengan Ultrasound untuk Mengurangi Selulit. *Sci Comm*.:14.

20. Vickram S, Rohini K, Srinivasan S, et al. Role of Zinc (Zn) in Human Reproduction: A Journey from Initial Spermatogenesis to Childbirth. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):2188.
21. Tethool AN, Purwaningsih P. EFEK PEMBERIAN EKSTRAK KAYU AKWAY (*Drymis Sp*) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus L*): The Effect of Akway Wood Extract (*Drymis Sp*) on The Mice (*Mus musculus L*) Spermatozoa Quality. *J Ilmu Peternak Dan Vet Trop (Journal Trop Anim Vet Sci.* 2019;9(1):24-31.
22. Susilo S, Akbar B, Pratinaningsih I. Pengaruh ekstrak etanol daun sambiloto terhadap jumlah dan motilitas spermatozoa mencit jantan. *J Biodjati.* 2018;3(2):166-172.
23. Schenk JL. Principles of maximizing bull semen production at genetic centers. *Animal.* 2018;12(s1):s142-s147.
24. As'ari H, Kurnia TID. PENGARUH PAPARAN TEPUNG MOCAF TERFERMENTASI TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus L.*). *Bioma J Biol dan Pembelajaran Biol.* 2019;4(2):101-110.