

Muslim Akmal, dkk

EFEK PAPARAN DEKOK BIJI PINANG (*Areca catechu*) TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA TIKUS (*Rattus norvegicus*): UPAYA MENEMUKAN KANDIDAT ANTIFERTILITAS PRIA

*The Effect of Betel Nut Extract (*Areca catechu*) on Mice Spermatozoa Motility (*Rattus norvegicus*): Effort to Find Out Man Antifertility Candidate*

Muslim Akmal¹, Aulanni'am², Rasmaidar¹, Dasrul¹, Tongku N. Siregar¹, dan Erdiansyah Rahmi¹

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan mengetahui efek paparan fraksi air biji pinang (*Areca catechu*) dalam menurunkan motilitas spermatozoa tikus. Dalam penelitian ini digunakan 15 ekor tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar jantan dewasa umur 2-3 bulan dengan berat badan (BB) berkisar 200-250 g yang dikelompokkan ke dalam 5 kelompok perlakuan. Kelompok PO (kontrol) hanya diberi aquades, PI, PII, PIII, dan PIV, tikus dipapar dengan fraksi air ekstrak biji pinang dengan dosis berturut-turut 1, 2, 3, dan 4 g/200 g BB tikus selama 7 hari berturut-turut secara oral dengan mencekok langsung ke dalam lambung. Pada akhir perlakuan tikus dikorbankan, testis dinekropsi. Spermatozoa dikoleksi dari cauda epididimis dan diletakkan pada gelas obyek, ditutup dengan gelas penutup lalu diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air biji pinang dengan dosis 2, 3, dan 4 g/200 g berat badan tikus berpengaruh signifikan terhadap kontrol dalam menurunkan motilitas spermatozoa ($P < 0,05$).

Kata kunci: *Areca catechu*, *Rattus norvegicus*, motilitas spermatozoa

ABSTRACT

This research was conducted to prove the ability of betel nut extract (*Areca catechu*) in causing degradation of sperm motility on rats (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. This research used 2-3 months age, 200-250 g body weight of male white rats *Rattus norvegicus* strain Wistar. The rats were divided into 5 groups in equal number, 3 rats each group. They were a control group without treatment and 4 treatment groups which were given different doses of betel nut extract for 7 days, i.e., 1, 2, 3, and 4 g/200 g body weight respectively. The result showed that increasing doses of betel nut extract can result in degradation of sperm motility significantly ($P < 0.05$).

Keywords: *Areca catechu*, *Rattus norvegicus*, sperm motility

PENDAHULUAN

Program Keluarga Berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam program 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 program KB perlu dilakukan melalui penelitian obat antifertilitas yang dapat digunakan oleh kaum pria. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk mengeksplorasi bahan alam yang berasal dari tanaman berkhasiat sebagai antifertilitas pria hendaknya mendapat dukungan dana dari pemerintah (Aulanni'am *et al.*, 2007).

Pemerintah, dalam hal ini BKKBN memang serius dalam meningkatkan peran serta pria dalam program KB. Selain masuk dalam daftar sasaran jangka pendek, dalam visi dan misi pencapaian Keluarga Berkualitas 2015 dikemukakan juga tentang peningkatan upaya mewujudkan kesetaraan dan keadilan jender dalam pelaksanaan program KB nasional. Hal ini berarti dalam waktu ke depan, pasangan suami istri diharapkan memiliki wawasan dan tanggung jawab bersama dalam pemenuhan hak-hak reproduksi, pelayanan KB kesehatan reproduksi dan kesejahteraan keluarga (Aulanni'am *et al.*, 2007).

Syadida *et al.* (2005) menyatakan bahwa perkembangan ilmu pengetahuan terhadap pengolahan bahan-bahan alami mengalami peningkatan yang pesat. Saat ini, banyak peneliti yang melakukan eksplorasi terhadap bahan-bahan alami terutama tanaman untuk mengetahui berbagai macam kandungan zat di dalamnya (misalnya berbagai jenis alkaloid) dan manfaatnya bagi peningkatan kualitas peradaban/kehidupan manusia. Salah satu

bahan yang banyak diteliti adalah pinang (*Areca catechu*).

Pemanfaatan biji pinang (*Areca catechu*), sebagai obat tradisional telah digunakan secara luas sejak ratusan tahun lalu (Anonimus, 2001). Diperkirakan, populasi pengguna biji pinang secara berkala dalam berbagai bentuk sediaan mencapai sekitar 500 juta orang. Terdapat sekitar 200–600 juta orang di dunia mengkonsumsi pinang selama hidup mereka (Giri *et al.*, 2006). Di Taiwan terdapat sekitar 2 juta orang mengkonsumsi pinang secara aktif (Ko *et al.*, 1992). Selain itu, sekitar 10% masyarakat di dunia mengkonsumsi pinang secara kontinu (Sahelian, 2004).

Biji pinang mengandung *arecoline*, yaitu senyawa alkaloid aktif (Agusta, 2001). Selain *arecoline*, pinang juga mengandung, *arecaidine*, *arecaine*, *guvacine*, *arecolidine*, *guvacoline*, *isoguvacoline*, dan *coline* (Anonimus, 2001). Efek yang ditimbulkan oleh pinang terutama disebabkan oleh bahan aktifnya, yaitu *arecoline* yang merupakan alkaloid utama buah pinang (Sundqvist *et al.*, 1989).

Paparan *arecoline* diketahui menyebabkan terjadinya sitotoksitas pada berbagai sel mamalia (Jeng *et al.*, 2001) dan meningkatkan hiperpolarisasi potensial membran mitokondria dan menginduksi fragmentasi DNA (Chang *et al.*, 2001). Pada mencit jantan, paparan *arecoline* merubah morfofungsi gonad, pada domba menyebabkan abnormalitas spermatozoa dan menghambat sintesis DNA sel-sel ke-cambah dan sel-sel lainnya pada manusia (Sinha dan Rao, 1985) serta menghambat proses spermatogenesis pada ayam jantan (Susila, 2003). Selain itu, hasil penelitian Kiong-Er *et al.* (2006) menunjukkan bahwa induksi *arecoline* secara *in vitro* mampu menurunkan motilitas spermatozoa.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek paparan fraksi air ekstrak biji pinang sebagai kandidat antifertilitas pria berdasarkan kajian penurunan motilitas spermatozoa menggunakan tikus jantan sebagai hewan coba.

MATERI DAN METODE

Bahan untuk Fraksi Air Biji Pinang (*Areca catechu*)

Biji pinang yang digunakan berasal dari pinang yang kulitnya sudah kuning semua. Pinang jenis ini diketahui mengandung kadar *arecoline* yang lebih rendah dibanding pinang muda. Biji pinang yang dipilih dalam keadaan baik, segar, tidak busuk ataupun berjamur. Cara pembuatan fraksi air ekstrak biji pinang sebagai berikut: pinang dikupas kulitnya, dihancurkan dan dihaluskan dengan menggunakan martil. Selanjutnya ditimbang sebanyak 100 g dan ditambahkan 200 ml aquades, dipanaskan hingga tersisa 100 ml ekstrak biji pinang, sehingga setiap 1 ml mengandung 2 g ekstrak biji pinang (Aulanni'am *et al.*, 2007).

Hewan Percobaan dan Perlakuan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 200-250 g diadaptasikan selama 7 hari. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi lima kelompok perlakuan yang mendapatkan paparan. Kelompok kontrol (P0) hanya diberi aquades, kelompok P1, P2, P3, dan P4 tikus dipapar dengan fraksi air ekstrak biji pinang dengan dosis bertingkat, yaitu 1, 2, 3, dan 4 g/200 g berat badan (BB) selama satu minggu. Pemberian fraksi air ekstrak biji pinang dilakukan dengan cara mencekoknya langsung ke dalam lambung tikus dengan menggunakan spuit 5 ml yang

sudah dimodifikasi. Semua tikus perlakuan mendapat diet standar yang mengandung protein (16%), karbohidrat (66%), dan lemak (8%). Pada akhir perlakuan, semua tikus percobaan dikorbankan secara *dislocatio cervicalis*, lalu dilakukan pembedahan bagian abdomen dan dilakukan koleksi organ testis (Aulanni'am *et al.*, 2007). Spermatozoa diperoleh dengan cara menyayat bagian cauda epididimis untuk dilakukan pengamatan motilitas spermatozoa.

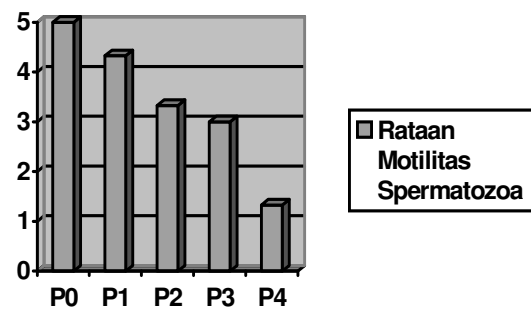
Metode pengamatan motilitas spermatozoa mengikuti metode Kilawati (2004), yaitu satu tetes sperma diletakkan di atas gelas obyek kemudian ditambahkan satu tetes aquades steril, kemudian diaduk rata dan ditutup dengan gelas penutup serta diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Metode penilaian motilitas sperma menurut Hag dalam Toelihere (1985) adalah sebagai berikut:

1. Nilai 0, spermatozoa immotil atau tidak bergerak.
2. Nilai 1, gerakan berputar di tempat.
3. Nilai 2, gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang.
4. Nilai 3, antara 50% sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa.
5. Nilai 4, pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil.
6. Nilai 5, gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat menunjukkan 100% motil aktif.

Data hasil pengamatan motilitas spermatozoa dianalisis dengan uji *One Way Anova*. Data diolah secara komputerisasi dengan menggunakan bantuan program *software SPSS 13.0 for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan motilitas spermatozoa akibat paparan dekok biji pinang dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Gambaran kelompok perlakuan dan rata-rata motilitas spermatozoa akibat paparan fraksi air ekstrak biji pinang selama 7 hari berturut-turut

Tabel 1. Profil motilitas spermatozoa tikus akibat paparan dekok biji pinang selama 7 hari berturut-turut

Dosis (g/200 g bb)	Profil Motilitas Spermatozoa
0 (P0)	5,00 ^a
1 (P1)	4,33 ^{a,b}
2 (P2)	3,33 ^{b,c}
3 (P3)	3,00 ^c
4 (P4)	1,33 ^d

^{a,b,c,d} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Gambar 1 dan Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol (P0) mempunyai rata-rata motilitas spermatozoa tertinggi (5,00), diikuti P1 (4,33), P2 (3,33), P3 (3,00) dan nilai rata-rata motilitas spermatozoa terendah P4 (1,33). Hasil ini mengindikasikan bahwa peningkatan dosis paparan fraksi air ekstrak biji pinang mempengaruhi motilitas spermatozoa. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) variasi dosis terhadap motilitas spermatozoa. Uji lanjutan dengan uji *post Hoc Tukey HSD* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara P0 vs P2, P0 vs

P3 dan P0 vs P4, P1 vs P3, P1 vs P4, dan P3 vs P4.

Sampai saat ini, laporan penelitian tentang efek fraksi air ekstrak biji pinang terhadap reproduksi manusia masih sangat jarang. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek bahan bioaktif biji pinang yang terkandung dalam ekstrak biji pinang terhadap penurunan motilitas spermatozoa dalam upaya mencari kandidat antifertilitas pria dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba.

Penurunan motilitas spermatozoa akibat paparan fraksi air ekstrak biji pinang pada penelitian ini disebabkan aksi bahan bioaktif alkaloid yang terkandung dalam biji pinang. Menurut Nisa (2004) paparan ekstrak tanaman yang mengandung alkaloid dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Ditambahkan Nisa (2004) paparan alkaloid dapat mengganggu aktivitas enzim ATP-ase yang ada dalam membran sel spermatozoa pada bagian tengah ekor. ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan kalium. Jika aktivitas ATP-ase terganggu, maka homeostatis ion natrium dan kalium akan terganggu.

Penurunan motilitas juga disebabkan oleh terganggunya permeabilitas membran spermatozoa, sehingga akan mengganggu transportasi zat-zat nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoa untuk pergerakan maupun daya tahan hidupnya. Selain itu, bahan alkaloid dapat menyebabkan penurunan integritas membran spermatozoa dan mengganggu integritas protein serta lapisan lipid pada membran spermatozoa, sehingga membran sel spermatozoa menjadi rusak dan mengakibatkan integritasnya menurun (Nisa, 2004). Suplai ATP yang diproduksi di mitokondria oleh proses oksidasi fosforilasi (*oxidative phosphorylation*,

OXPPOS) sangat mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Menurut Elzanaty *et al.* (2002) motilitas spermatozoa merupakan indikator yang baik dalam menentukan fertilitas pada pria baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. WHO (1992) menyatakan bahwa fungsi spermatozoa ditentukan oleh kualitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa ditentukan berdasarkan pada konsentrasi, motilitas dan morfologi spermatozoa. Dari parameter kualitas spermatozoa tersebut yang terpenting dan berhubungan dengan fungsi spermatozoa atau infertilitas pria adalah motilitas spermatozoa.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi air ekstrak biji pinang dengan dosis 2, 3, dan 4 g/200 g BB berpotensi menurunkan motilitas spermatozoa tikus.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tulisan ini merupakan bagian dari Laporan Lengkap Riset Kolaborasi BRR NAD-Nias tahun 2007. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Satker BRR-Pendidikan Tinggi NAD yang telah membiayai riset ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aulanni'am, M. Akmal, dan Rosmaidar. 2007. Efek antifertilitas fraksi air biji pinang (*Areca catechu*) sebagai agen apoptosis pada sel-sel jaringan testis *Rattus norvegicus*. **Jurnal Media Kedokteran Hewan**. 23(3):179-183.

Agusta, A. 2001. Awas bahaya tumbuhan obat. Laboratorium Fitokimia, Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor. <http://www.indonesia.com/intisari/2001/Feb/bahaya%20tumb%20obat.htm>.

Anonimus. 2001. Pinang. <http://www.pnm.my/sirihpinang/sp-pinang.htm>.

Elzanaty, S., J. Richthoff, J. Malm, and A. Giwercman. 2002. The impact of epididymal and accessory sex gland function on sperm motility. **Human Reproduction**. 17(11):2904-2911.

Chang, M.C., Y.S. Lee, P.H. Ho, C.P. Chan, J.J. Lee, L.J. Hahn, Y.J. Wang, and J.H. Jeng. 2001. Areca nut extract and arecoline induced the cell cycle arrest but not apoptosis of cultured oral KB cells: association of glutathione, reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential. **Carcinogenesis**. 22:1527-1533.

Giri, S., R.I. Jeffrey, T. Chi Chen, Z. Mark, W.K. Kristopher, and F.J. Gonzalez. 2006. A Metabolomic approach to the metabolism of the areca nut alkaloids arecoline and arecaidine in the mouse. **J. Chem. Res. Toxicol.** 19(6):818-827.

Jeng, J.H., M.C. Chang, and L.J. Hahn. 2001. Role of areca nut in betel quid-associated chemical carcinogenesis: Current awareness and future perspectives. **Oral. Oncol. Pathol. Med.** 28:64-71.

Kilawati, Y. 2004. Kualitas sperma ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada umur yang berbeda. **Tesis**. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya.

Kiong Er, Eing-Mei Tsai, Li-Yu Tsai, Ying-Chin Ko, and Jau-Nan Lee. 2006. *In vitro* effects of arecoline on sperm motility and cyclooxygenase-2 expression. **J. Toxicological Sciences**. 31:75-82.

- Ko, Y.C, T.A. Chiang, S.J. Chang, and S.F. Hsieh. 1992. Prevalence of betel quid chewing habit in Taiwan and related sociodemographic factors. **J. Oral. Pathol. Med.** 24:450-453.
- Nisa, L.S. 2004. Kontrasepsi alami untuk pria. Radar Banjarmasin *online News*. <http://www.radarbanjarmasin.com/berita/index.asp?Berita=Kesehatan&id=46397>.
- Sahelian, R.M.D. 2004. Betel nut: Information on chewing *areca catechu* betel nut. <http://www.raysahelian.com/betelnut.html>.
- Sinha, A. and A.R. Rao. 1985. Induction of shape abnormality and unscheduled DNA syntesis by arecoline in the germ cells of mice. **Mutat. Res.** 158:189-192.
- Susila, Y. 2003. Perubahan histologis testis akibat pemberian serbuk pinang sirih (*Areca catechu*) pada ayam. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh.
- Sundqvist, H., Y. Liu, J. Nair, C.H. Bartsch, H. Arvidson, and R.C. Grafstrom, 1989. Cytotoxic dan genotoxic effect of areca nut-related coumpounds in cultured human buccal epithelial cells. **Cancer Res.** 49:5294-5298.
- Syadida, F., S.S. Karyono, dan H.M. Mahdi. 2005. Penggunaan dekok biji pinang (*Areca catechu*) sebagai miotikum pada mata kelinci (*Lepus sp.*). **Jurnal Kedokteran Brawijaya**. XXI(3):7-13.
- Toelihere, M. 1985. **Inseminasi Buatan pada Ternak**. Penerbit Angkasa, Bandung. Jawa Barat.
- World Health Organization. 1992. **WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction**. 3rd ed. Cambridge University Press.