

Efek Ekstrak dan Fraksi Metanol Buah Kurma Ajwa terhadap Histologi Testis, Jumlah Sperma, dan Viabilitas Spermatozoa pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley

The Effect of Ajwa Dates Extract and Water Methanol Fraction Additions to the Testes Histology, Sperm Amount, and Spermatozoa Viability of Male White Rats Sprague Dawley Strain

Domma Sinaga^{1✉}, Legiran¹, Salni¹

¹Study Program Ilmu Biomedik, Faculty of Medicine Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

[✉]Corresponding: Dommasinaga90@gmail.com

Article Information:

Received Oktober 2020
Revised Desember 2020
Accepted Desember 2020

Keyword:

Colostrum; Acceleration of
Umbilical Cord Release

Kata kunci:

Kolostrum; Percepatan Pelepasan
Tali Pusat

Abstracts

Background: Male's fertility can be affected by several factors such as hypothalamic glands and pituitary, which produces FSH (Follicle Stimulating Hormone) and LH (Luteinizing Hormone) dysfunction and reproductive organs disorder such as testes and epididymis dysfunction due to certain illness. One of the fruits used by people to increase fertility is dates. **Purpose:** to find out the effect of Ajwa dates (*Phoenix dactylifera*) extract and water methanol fraction addition to the testes histology, sperm amount, and spermatozoa viability of male white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley strain. **Methodes:** Complete Randomized Design (CRD) with the research samples divided into five experimental groups. The steps of the methods are making of testes histology preparations, counting the amount of sperm, and counting the spermatozoa viability. **Result:** there is an increase in the spermatozoa viability especially on the water methanol fraction with 300 mg/kgBB/day dosage which is shown in the one way anovatest result where p-value = 0,000 with the alpha 0,05 ($p < \alpha$). The counting of the sperm amount is also shown through one way anovatest result where p-value = 0,000 with alpha 0,05 ($p < \alpha$). Furthermore, seminiferous tubules diameter counting is also shown in the one way anovatest result where p-value = 0,002 with alpha 0,05 ($p < \alpha$). **Conclusion:** there is an effect of Ajwa dates extract and water methanol fraction additions to the seminiferous tubules diameter, sperm amount, and spermatozoa viability.

Abstrak

Latar Belakang: Kesuburan pria dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adanya gangguan fungsi kelenjar hipotalamus dan hipofisis yang memproduksi FSH (Follicle Stimulating Hormone) dan LH (Luteinizing Hormone) dan gangguan dari organ reproduksi misalnya gangguan pada organ testis dan epididimis karena penyakit tertentu. Salah satu buah yang umumnya digunakan masyarakat untuk kesuburan yaitu buah kurma. **Tujuan:** untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap histologi testis, jumlah sperma, dan viabilitas spermatozoa pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley. **Metode:** Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan sampel penelitian dibagi dalam 5 kelompok perlakuan. Tahapan pelaksanaannya yaitu pembuatan sediaan histologi testis, menghitung jumlah sperma, dan menghitung viabilitas spermatozoa. **Hasil:** menunjukkan bahwa terjadi peningkatan viabilitas spermatozoa terutama pada fraksi metanol air dengan dosis 300 mg/kgBB/hari yang ditunjukkan dengan hasil uji one way anova didapatkan nilai $p = 0,000$ dengan nilai alpha 0,05 ($p < \alpha$). Perhitungan jumlah sperma juga meningkatkan peningkatan dengan menggunakan uji one way anova didapatkan nilai $p = 0,000$ dengan nilai alpha 0,05 ($p < \alpha$). Sedangkan perhitungan diameter tubulus seminiferus juga mengalami peningkatan dengan menggunakan uji one way anova didapatkan nilai $p = 0,002$ dengan nilai alpha 0,05 ($p < \alpha$). **Simpulan:** bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa terhadap diameter tubulus, viabilitas spermatozoa, dan jumlah sperma.

Copyright Holder © Sinaga, D., Legiran & Salni. (2020).
First Publication Right: Jurnal Kesehatan Metro Sai Wawai.

How to cite Sinaga, D., Legiran & Salni. (2020). Efek Ekstrak dan Fraksi Metanol Buah Kurma Ajwa terhadap Histologi Testis, Jumlah Sperma, dan Viabilitas Spermatozoa pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley. *Jurnal Kesehatan Metro Sai Wawai*. 13(2). 51-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.26630/jkm.v13i1.2126>
Published by Politeknik Kesehatan Tanjung Karang, Indonesia. Open Access

The Published Article is Licensed Under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Pendahuluan

Angka kejadian infertilitas masih menjadi masalah kesehatan di dunia termasuk Indonesia. Infertilitas adalah kegagalan mencapai kehamilan setelah 12 bulan atau lebih melakukan hubungan seksual (2-3 kali seminggu) tanpa menggunakan kontrasepsi. Angka kejadian infertilitas masih menjadi masalah kesehatan di dunia termasuk Indonesia. Infertilitas adalah kegagalan mencapai kehamilan setelah 12 bulan atau lebih melakukan hubungan seksual (2-3 kali seminggu) tanpa menggunakan kontrasepsi (Kemenkes, 2013).

Prevalensi infertilitas menurut laporan WHO diperkirakan terjadi antara 8-12% pasangan, yaitu sekitar 50 juta hingga 80 juta pasangan. Di Indonesia, 20-30% penduduk mengalami gangguan infertilitas (Hidayah, 2007). Para ahli memastikan angka infertilitas telah meningkat mencapai 15-20% dari sekitar 50 juta pasangan di Indonesia. Berdasarkan hasil survei gagalannya kehamilan sebanyak 40% disebabkan oleh pria, 40% wanita, dan 10% dari pria dan wanita, 10% tidak diketahui penyebabnya. Jadi penyebab infertilitas adalah suami, istri, dan keduanya (Muryanta, 2012). Kesuburan pria dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adanya gangguan fungsi kelenjar hipotalamus dan hipofisis yang memproduksi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) dan gangguan dari organ reproduksi misalnya gangguan pada organ testis dan epididimis karena penyakit tertentu (Soenanto & Kuncoro, 2009). Pentingnya penelitian yang berkontribusi memberikan informasi cara meningkatkan fertilitas dengan berbahan perlakuan terapi komplementer yang bahannya tidak sulit dicari oleh masyarakat.

Seorang pria mengalami fertil atau infertil dapat diketahui melalui analisa rutin dari histologi testis dan ketahanan (viabilitas) spermatogenesis. Kualitas sperma meliputi beberapa aspek, yaitu jumlah sperma, normalitas atau morfologi, motilitas atau daya gerak, dan viabilitas atau daya tahan (Ashafani, dkk., 2010). Testis berfungsi memproduksi spermatozoa dan hormon testosteron. Masalah infertilitas, perkembangan, dan pertumbuhan seksual dapat diketahui dari histologi testis. Testis ditutup oleh kapsul yang dibagi ke dalam lobulus. Lobulus tersebut terdiri dari tubulus seminiferus dan sel leydig. Testis ditutupi oleh 3 lapisan, yaitu tunika vaginalis, tunika albugenia, dan tunika vaskulosa (Sailaja & Vasanthi, 2016).

Beberapa penelitian mengenai kurma telah dilakukan untuk menguji ekstrak buah kurma secara oral yang diduga dapat meningkatkan jumlah sperma, motilitas, morfologi, dan kualitas DNA dengan seiring bertambahnya bobot testis dan epididimis, dan telah terbukti dapat meningkatkan konsentrasi testosteron serta membantu proses spermatogenesis pada marmut (Vyawahare, 2008). Kurma mengandung senyawa fenolik (terutama asam sinamat) dan flavonoid (flavon, flavanon dan glikosida flavonol) yang menyediakan aktivitas antioksidan yang dapat melindungi kerusakan sel-sel (Mansouri, dkk., 2005). Flavonoid yang ada pada buah kurma tidak hanya bermanfaat sebagai antioksidan namun flavonoid juga memiliki peran dalam meningkatkan kadar dehidroepiandrosteron, yang ikut berperan dalam meningkatkan kadar hormon testosteron dan mendorong perilaku seksual pada pria (Silva et al., 2012).

Penelitian ini bertujuan memperoleh efek pemberian ekstrak dan fraksi buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ajwa terhadap histologi testis, jumlah sperma, dan viabilitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* dengan mengeluarkan senyawa yang terdapat di dalam buah kurma ajwa atau dilakukan ekstrak dan fraksi buah kurma.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan hewan percobaan tikus jantan putih. Rancangan penelitian yang digunakan untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan terhadap hewan uji adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelompok perlakuan dalam eksperimen ini adalah kelompok tikus yang diberi ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) secara oral dan kelompok kontrol diberi CMC (*Carboxymethylcellulose*) 1% juga secara oral. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2017 bertempat di Laboratorium bagian Biologi Molekuler Kedokteran dan Animal House Universitas Sriwijaya untuk penempatan tikus penelitian.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan sebanyak 25 ekor yang telah dewasa yaitu berumur 60-74 hari. Hewan ini diperoleh dari Institut Teknologi Bandung (ITB). Tikus jantan putih yang sudah dibuat homogen, yaitu usia 60-74 hari dengan berat badan 200-210 gram. Tikus diberi makan dan minum secara ad libitum, dikondisikan pada lingkungan dan perlakuan yang sama. Sampel minimal hasil perhitungan menggunakan rumus Federer adalah 25 ekor tikus, 5 perlakuan dan 5 kali ulangan, untuk menjaga agar tingkat representatifnya tinggi apabila terjadi drop out, maka ditambahkan 10% dari perhitungan besar sampel, jadi sampel yang disiapkan berjumlah 30 ekor tikus.

Alat dan Bahan

Alat dan yang digunakan adalah kandang tikus, perangkat diseksi untuk mengambil testis, mikroskop (*Olympus CX 21FS*), *haematocytometer neubauer (Improved Neubauer Assitant)*, kaca objek, 1 set alat bedah, Gelas kimia, dan Rotary Evaporator. Sedangkan, bahan yang digunakan, yaitu: ekstrak buah kurma ajwa, pakan hewan uji, *aquabides*, 25 ekor tikus jantan putih *Sprague-Dawley*, NaCl 0,9%, Kloroform, Etanol 70%, Satu set bahan kimia untuk pembuatan irisan mikro anatomi testis dengan metode paraffin dengan pewarna hemotaksilin-eosin terdiri atas: (1) Larutan formalin 10% sebagai fiksatif; (2) Alkohol dengan konsentrasi bertingkat 80%, 90%, 96% untuk dehidrasi; (3) Xylol sebagai larutan penjernih; (4) Parafin murni untuk embedding atau penanaman organ dalam parafin dan campuran paraffin xylol untuk infiltrasi; dan (5) Hemotoksin-Eosin 1% (dalam alkohol 70%) sebagai pewarna inti dan sitoplasma.

Prosedur Kerja

Penentuan dosis dan lama perlakuan

Menurut peneliti sebelumnya diketahui bahwa dosis yang diberikan adalah 250 mg/kgBB/hari selama 35 hari maka dosis yang diberikan milligram yaitu 50 mg/KgBB dan 60 mg/kgBB (Bahmanpour, dkk., 2016). Maksimal volume cairan yang dapat diberikan pada tikus adalah 2 ml dengan dosis 50 mg. Semua perlakuan diberikan menggunakan sonde oral yang dilarutkan dengan CMC NA, melalui mulut tikus setiap 9 jam pagi selama 30 hari dengan terus menerus sesuai dengan siklus spermatozoa (Krinke, 2000).

Pengelompokan hewan percobaan

Hewan percobaan yang berupa tikus jantan sebanyak 25 dibagi secara acak menjadi 5 (lima) kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus jantan. Perlakuan masing-masing kelompok, yaitu pada kelompok kontrol diberikan CMC (*Carboxymethyl cellulose*) 1% 2 ml secara oral 1x/hari. Sedangkan, pada kelompok perlakuan terdiri atas 5 kelompok, yaitu (1) kelompok perlakuan I (P2) diberikan ekstra buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis

250mg/kgBB/hari; (2) kelompok perlakuan II (P3)diberikan fraksi Metanol Air buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 250mg/kgBB/hari; (3) kelompok perlakuan III (P4)diberikan ekstrak buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 300mg/kgBB/hari; dan (4) kelompok perlakuan IV (P5)diberikan fraksi Metanol Air buah kurma ajwa(*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 300mg/kgBB/hari. Semua perlakuan diberikan selama 35 hari setiap pagi.

Tahap Pelaksanaan

Ekstrak kurma diberikan secara oral dengan menggunakan sonde, diberikan dengan dosis 250mg/kgBB/hari dan 300mg/kgBB/hari. Pada hari ke-35tikus dikorbkan dengan cara dislokasi leher, kemudian dilaparotomi dan diambil bagian tubulus seminiferus. Selanjutnya bagian tubulus dipotong-potong dengan menggunakan teknik pipeting. Untuk satupreparat testis diamati 5 tubulus seminiferus yang berbentuk bulat, karena tubulus seminiferus yang berbentuk bulat berarti terpotong melintang. Dari kelima pengamatan tersebut diambil rata-ratanya.

Menghitung Jumlah Sperma

Larutan spermatozoa diambil sebanyak 10 µl dengan menggunakan pipet mikro. Setelah itu dilakukan pengenceran sebanyak 1- kali dengan menambahkan larutan George sebanyak 90 µl dalam tabung mikro. Suspensi kemudian diaduk sampai homogen, kemudian diteteskan di atas hemasitometer *improves Neubauer* yang telah diberi kaca penutupdengan volume 0,1 menggunakan *syringe* 1 ml. Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 200 kali dan dinyatakan dalam satuan juta/ml (WHO, 2010). Spermatozoa yang berada pada 25 kotak kecil yang digunakan untuk penghitungan sel darah merah dijumlahkan, kemudian dibagi dengan faktor koreksi hemositometer yang ditunjukkan pada tabel 1 berikut.

Tabel 1.

Pengenceran yang diperlukan untuk Semen

Spermatozoa per x 400 bidang	Spermatozoa per x 200 bidang	Pengenceran yang diperlukan	Semen (µl)	Fixative (µl)	Ruang	Area yang dinilai
> 101	> 404	1:20 (1+19)	50	950	Neubauer	Grid 5, 4, 6
16-100	64-400	1:5 (1+4)	50	200	Neubauer	Grid 5, 4, 6
2-15	8-60	1:2 (1+1)	50	50	Neubauer	Grid 5, 4, 6
< 2	< 8	1:2 (1+1)	50	50	Neubauer	Semua 9 grid

Keterangan:

N = Jumlah spermatozoa kedua chamber bilik hitung

n = jumlah baris pada bilik hitung

¼ = untuk pengenceran 1:5 (1/4)

Menghitung Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas sperma merupakan pemeriksaan sperma untuk menentukan jumlah sperma yang masih hidup melalui perwarnaan supravital. Untuk mengamati viabilitas sperma digunakan pewarna Eosin-Y yang diteteskan pada ujung gelas objek kemudian ditambahkan 1 tetes semen tikus (10 µl), dihomogenkan dan dibuat preparat apus. Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan pada 200 sel spermatozoa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x, pengamatan dilihat spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai Eosin-Y, tetapi spermatozoa yang telah mati akan berwarna merah keunguan karena rusaknya membran plasma sel spermatozoa. Penentuan viabilitas spermatozoa

dinyatakan dalam persen 100 (WHO, 2010). Adapun perhitungan persentase viabilitas spermatozoa menggunakan rumus :

$$\% \text{ Viabilitas Spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa yang hidup} \times 100\%}{\text{Jumlah Spermatozoa yang hidup dan mati}}$$

Metode statistik yang digunakan adalah Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan zat aktif secara kualitatif, uji homogenitas berat badan tikus dengan menggunakan uji *Levene*, perhitungan viabilitas spermatozoa menggunakan uji *Anova*, uji rerata diameter tubulus menggunakan uji *Anova*, dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk melihat angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang bermakna nyata pada uji lanjut Duncan dan penghitungan jumlah spermatozoa digunakan uji *One Way Anovadan* dilanjutkan uji Duncan. Semua uji menggunakan tingkat kemaknaan $\alpha = 5\%$ atau 0,05.

Hasil

Ekstraksi dan fraksinasi buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*)

Hasil ekstraksi buah kurma ajwa didapatkan ekstrak metanol, kemudian ekstrak tersebut dilakukan fraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair (FCC) dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol air masing-masing sebanyak 1 L secara bertahap, kemudian masing-masing fraksi cair yang didapat diuapkan sehingga didapat masing-masing fraksi dalam bentuk pasta (Tabel 2).

Tabel 2.

Hasil fraksinasi buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) per 1000g

Pelarut	Berat Fraksi (g)	Persen Berat (%)
N-Heksan	0,2	0,4
Etil asetat	0,1	0,2
Metanol Air	53,9	99,4
Total	54,2	100

Tabel 3.

Hasil uji fitokimia ekstrak kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*)

Parameter	Hasil Analisis	Metode
Uji fitokimia ekstrak kurma ajwa		
Alkaloid	Positif	Analisa Kualitatif
Steroid	Negatif	Analisa Kualitatif
Terpenoid	Positif	Analisa Kualitatif
Tanin	Positif	Analisa Kualitatif
Saponin	Positif	Analisa Kualitatif
Flavonoid	Positif	Analisa Kualitatif
Uji fitokimia fraksi metanol air kurma ajwa		
Alkaloid	Positif	Analisa Kualitatif
Steroid	Negatif	Analisa Kualitatif
Terpenoid	Positif	Analisa Kualitatif
Tanin	Positif	Analisa Kualitatif
Saponin	Positif	Analisa Kualitatif
Flavonoid	Positif	Analisa Kualitatif

Penentuan golongan senyawa fraksi buah kurma ajwa dan Uji homogenitas Berat Badan Tikus

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan zat aktif secara kualitatif. Berdasarkan hasil uji fitokimia diperoleh bahwa ekstrak buah kurma ajwa mengandung Alkaloid, Terpenoid, dan

Flavonoid dan fraksinasi fraksi metanol air kurma ajwadapat dilihat pada tabel 3. Adapun hasil penghitungan homogenitas berat badan tikus dengan menggunakan uji *Levene* dengan kemaknaan $\alpha = 5\%$ menunjukkan homogen ($p=0,900 > 0,05$) (Tabel 4).

Tabel 4.

Uji Homogenitas Berat Badan Tikus antara Kelompok Perlakuan

Uji Homogenitas Berat Badan Tikus	Berat Badan Tikus				p value
	n	Minimum	Maksimum	$\bar{x} \pm SD$	
Kelompok Perlakuan					
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	190	210	198,0 \pm 8,36	0,900
Ekstrak Dosis 300 mg/KgBB	5	195	210	201,0 \pm 6,51	
Fraksi Dosis 250 mg/KgBB	5	190	210	201,6 \pm 7,40	
Fraksi Dosis 300 mg/KgBB	5	190	205	197,8 \pm 5,63	
Kontrol	5	185	200	191,2 \pm 6,94	

Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Viabilitas Spermatozoa dan Diameter Tubulus

Viabilitas sperma merupakan pemeriksaan sperma untuk menentukan jumlah sperma yang masih hidup melalui perwarnaan supravital. Adapun hasil perhitungan viabilitas spermatozoa dengan menggunakan uji Anova dengan kemaknaan $\alpha = 5\%$ menunjukkan signifikan ($p < 0,05$). Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang bermakna nyata pada uji lanjut Duncan ($p < 0,05$) (Tabel 5). Adapun hasil uji statistik anova untuk rerata diameter tubulus pada tabel 5 dengan kemaknaan $\alpha = 5\%$ menunjukkan signifikan ($p < 0,05$). Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang bermakna nyata pada uji lanjut Duncan ($p < 0,05$).

Pengaruh Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Jumlah Spermatozoa

Hasil penghitungan jumlah spermatozoa pada tabel 6 dengan Uji *One Way Anova* dengan kemaknaan $\alpha = 5\%$ menunjukkan signifikan ($p < 0,05$). Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang bermakna nyata pada uji lanjut Duncan ($p < 0,05$).

Tabel 5.

Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Viabilitas Spermatozoa dan Diameter Tubulus

Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma	Viabilitas Spermatozoa				p value
	n	Minimum	Maksimum	$\bar{x} \pm SD$	
Viabilitas Spermatozoa					
Kelompok Perlakuan					
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	27	45	33,70 \pm 6,85 b	0,000
Ekstrak Dosis 300 mg/KgBB	5	31,5	55	40,70 \pm 8,99 b	
Fraksi Dosis 250 mg/KgBB	5	31,5	46	36,20 \pm 5,96 b	
Fraksi Dosis 300 mg/KgBB	5	61	80	69,20 \pm 7,04 a	
Kelompok Kontrol	5	13	35	20,00 \pm 8,74 c	
Diameter Tubulus					
Kelompok Perlakuan					
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	370,30	461,52	414,04 \pm 33,51 b	0,000
Ekstrak Dosis 300 mg/KgBB	5	423,51	506,80	477,11 \pm 34,02 ab	
Fraksi Dosis 250 mg/KgBB	5	400,63	492,33	458,33 \pm 34,22 b	
Fraksi Dosis 300 mg/KgBB	5	479,73	530,95	502,34 \pm 20,91 a	
Kelompok Kontrol	5	393,97	463,24	433,12 \pm 28,82 c	

Pengaruh Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Jumlah Spermatozoa

Hasil penghitungan jumlah spermatozoa pada tabel 6 dengan Uji One Way Anova dengan kemaknaan $\alpha = 5\%$ menunjukkan signifikan ($p < 0,05$). Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang bermakna nyata pada uji lanjut Duncan ($p < 0,05$).

Tabel 6.

Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Jumlah Spermatozoa

Kelompok Perlakuan	Jumlah Sperma				p value
	n	Minimum	Maksimum	$\bar{x} \pm SD$ (Juta/ml)	
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	11,23	20,77	14,30 \pm 3,83 b	0,000
Ekstrak Dosis 300 mg/KgBB	5	11,62	26,73	20,02 \pm 5,55 ab	
Fraksi Dosis 250 mg/KgBB	5	8,88	21,63	16,32 \pm 5,26 b	
Fraksi Dosis 300 mg/KgBB	5	22,56	33,10	25,48 \pm 4,33 a	
Kontrol	5	4,88	8,88	7,64 \pm 1,63 c	

Pembahasan

Ekstraksi, Fraksinasi, dan Penentuan Golongan Senyawa

Hasil ekstraksi 1000 g buah kurma (*Phoenix dactylifera*) secara maserasi dengan pelarut metanol air kemudian disaring lalu diuapkan sampai mengental atau berbentuk pasta dihasilkan sebanyak 79,39 g ekstrak buah kurma ajwa atau 7,939%. Hasil ekstraksi buah kurma didapatkan ekstrak etanol, kemudian ekstrak tersebut dilakukan fraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair (FCC) dengan pelarut metanol air, kemudian masing-masing fraksi cair yang didapatkan diuap dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan masing-masing fraksi dalam bentuk pasta. Pada fraksi n-heksan didapat 0,2 g, etil asetat 0,1 g, dan metanol air 53,9 g.

Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Jumlah dan senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi berbeda-beda tergantung pada jenis tumbuhan. Pada prakteknya dalam melakukan fraksinasi digunakan dua metode yaitu dengan menggunakan corong pisah dan kromatografi kolom. Tujuannya memisahkan bahan uji dalam jumlah cukup banyak (Hanani, 2014).

Selanjutnya, tahap fraksi yang di peroleh diujikan aktivitas dengan tikus jantan untuk menentukan fraksi yang aktif yang akan memperoleh perubahan tubulus seminiferus, viabilitas spermatozoa, dan motilitas spermatozoa. Berdasarkan metode fraksinasi cair-cair dapat diketahui bahwa senyawa yang terdapat didalam buah kurma, yaitu alkaloid, terpenoid, dan flavanoid.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa terdapat tiga senyawa aktif dalam buah kurma, yaitu alkaloid, terpenoid, dan flavanoid. Kurma mengandung senyawa fenolik (terutama asam sinamat) dan flavonoid (flavon, flavanon dan glikosida flavonol) yang menyediakan aktivitas antioksidan yang dapat melindungi kerusakan sel-sel (Mansouri dkk., 2005). Penelitian tentang pengujian dengan menggunakan analisis GC-MS, spektroskopi inframerah, dan spektroskopi UV-Vis menunjukkan bahwa dalam buah kurma terdapat senyawa alkaloid, aldehid, alkohol, triterpenoid, dan flavanoid (Abdillah, dkk., 2017).

Efek pemberian ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa terhadap diameter tubulus seminiferus

Setelah mendapatkan gambaran dari organ testis maka diameter tubulus seminiferus diukur dengan menggunakan mikrometer okuler. Diameter tubulus seminiferus yang diamati pada setiap testis adalah sebanyak lima tubulus seminiferus yang dianggap representatif dengan lima kali pengulangan pengukuran. Tabel 8 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata diameter tubulus antar kelompok perlakuan. Disimpulkan bahwa fraksi metanol air dengan dosis 300mg/kgBB/hari lebih efektif dalam meningkatkan diameter tubulus dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Testosteron dan FSH secara bersama-sama mengendalikan pembentukan sperma selanjutnya. Testosteron merupakan hormon yang penting bagi tahap pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk sperma, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Selain itu, testosteron juga mendorong terjadinya spermatogenesis.

Penggunaan buah kurma pada tikus jantan dapat meningkatkan proses spermatogenesis, meningkatkan konsentrasi testosteron, FSH, LH, dan sperma (Saryono, dkk., 2016). Konsumsi buah kurma dapat dijadikan sebagai obat konvensional untuk meningkatkan fertilitas (Abdi, dkk., 2017). Interaksi antara FSH dan reseptornya yang terdapat pada membran plasma sel-sel sertoli mendorong sel-sel ini untuk meningkatkan aktivitas adnilat siklase dan cAMP sehingga mampu memproduksi hormon lainnya, yaitu Androgen Binding Protein (ABP) (Keltenback dan Dunn, 1980). ABP yang dihasilkan sel sertoli berperan untuk (1) mengikat testosteron dalam sel sertoli, (2) mempertahankan tingginya konsentrasi androgen dalam tubulus seminiferus dan epididimis yang diperlukan untuk kelangsungan spermatogenesis serta, (3) transpor testosteron dari testis ke epididimis (Bardin, dkk., 1988). Selain itu, ABP berfungsi juga dalam mengkonversi testosteron menjadi bentuk aktifnya yaitu dihidrotestosteron (DHT).

Efek pemberian ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa terhadap viabilitas spermatozoa

Hasil uji ekstrak dan fraksi metanol air terhadap viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada tabel 5. Ketahanan (viabilitas) merupakan faktor fertilitas juga. Diukur dengan melihat % motil maju/ml setelah jangka waktu tertentu. Makin lama semen tersimpan, maka makin sedikit yang motil (Yatim, 1990). Pengujian viabilitas spermatozoa dapat dilakukan dengan memaparkan spermatozoa pada pewarnaan eosin nigrosin. Spermatozoa yang mati akan menyerap pewarna eosin nigrosin tetapi spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna.

Hasil penelitian pada tabel 5 diketahui bahwa terdapat perbedaan rerata viabilitas spermatozoa antar kelompok perlakuan. Fraksi metanol air dengan dosis 300mg/kgBB/hari lebih efektif dalam meningkatkan viabilitas spermatozoa dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pengujian viabilitas dilakukan untuk menguji kerusakan pada bagian kepala spermatozoa. Pemberian ekstrak 400 mg/kgBB akar saluang dapat meningkatkan kualitas sperma yang diukur dari jumlah dan motilitas sperma, serta viabilitas sperma (Musfirah, 2016). Prinsip pewarnaan dilakukan karena membran plasma sel mati yang rusak dapat dimasuki oleh zat warna. Penggunaan minyak buah Makassar dapat meningkatkan kualitas spermatozoa tikus, konsentrasi spermatozoa, viabilitas spermatozoa, dan kadar hormon testosteron (Indrayani, dkk., 2016).

Efek pemberian fraksi buah kurma terhadap jumlah spermatozoa

Hasil penelitian pada tabel 6 menunjukkan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata jumlah spermatozoa antar kelompok perlakuan atau fraksi metanol air dengan dosis

300mg/kgBB/hari lebih efektif dalam meningkatkan jumlah spermatozoa dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pemberian ekstrak 400 mg/kgBB akar saluang dapat meningkatkan kualitas sperma yang diukur dari jumlah dan motilitas sperma, serta viabilitas sperma (Musfirah, 2016). Pemberian pasak bumi dengan dosis 333 mg/mlBB diketahui dapat meningkatkan jumlah sperma (Luthfi, dkk., 2008).

Jumlah spermatozoa yang diproduksi tergantung pada proses yang terjadi selama spermatogenesis (Hartini, 2011). Beberapa penelitian mengenai kurma telah dilakukan untuk menguji ekstrak buah kurma secara oral yang diduga dapat meningkatkan jumlah sperma, motilitas, morfologi, dan kualitas DNA dengan seiring bertambahnya bobot testis dan epididimis, dan telah terbukti dapat meningkatkan konsentrasi testosteron serta membantu proses spermatogenesis pada marmut (Vyawahare, dkk., 2008).

Penghitungan viabilitas spermatozoa dan jumlah sperma diketahui bahwa terjadi peningkatan terutama pada fraksi metanol air dengan dosis 300mg/kgBB/hari. Hal ini berarti bahwa ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa dapat meningkatkan jumlah spermatozoa, viabilitas spermatozoa, dan diameter tubulus. Kandungan flavonoid pada kurma tidak hanya bermanfaat sebagai antioksidan, tetapi memiliki peran dalam meningkatkan kadar dehydroepiandrosteron, yang dapat meningkatkan kadar testosteron dan mendorong perilaku seksual pria (Sailaja dan Vasanthi, 2016). Peningkatan kadar testosteron dapat diterapi dengan mengkonsumsi kurma ajawa yang cukup, walaupun penelitian ini membutuhkan penelitian lanjut sampai uji klinik ke manusia.

Simpulan

Pemberian ekstrak dan fraksi buah kurma ajwa dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus, viabilitas spermatozoa, dan jumlah spermatozoa pada hewan coba tikus. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi metanol air yaitu senyawa flavanoid, terpenoid, dan alkaloid. Fertilitas merupakan masalah pada pasangan usia subur yang perlu penanganan dengan terapi nonfarmakologi atau komplementer, diantaranya dengan konsumsi buah kurma. Namun, masih perlu penelitian lanjutan dengan uji klinis dengan manusia.

Ucapan terima kasih

Terimakasih kami ucapkan Kepada Laboratorium Klinik Palembang yang telah membantu dalam penyelesaian tesis ini.

Referensi

- Abdi, F., Roozbeh, N., & Mortazavian, A. M. (2017). Effects of date palm pollen on fertility: research proposal for a systematic review. *BMC research notes*, 10(1), 1-4. Retrieved from <https://bmresnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-017-2697-3>
- Abdillah, M., Nazilah, N.R.K., dan Eva, A. (2017). Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Metanol Daging Buah Kurma Jenis Ajwa (*Phoenix dactylifera*). *Prosiding Seminar Nasional III*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Ashfahani, E. D., & Wiratmini, N. I. (2010). Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe.). *Jurnal Biologi Udayana*, 14(1). Retrieved from <https://ocs.unud.ac.id/index.php/BIO/article/view/587>
- Bardin, CW., Cheng, CY., Musto, NE., dan Gonsalves. (1988). The Sertoli Cell. In: Knobil, E., And Neil, J (Eds). *The Physiology of Reproduction*. Raven press, Ltd. New York.

- Hanani, A. (2014). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC
- Hartini. (2011). *Pengaruh Dekok Daun Jambu Biji Merah (Psidium guajava)* terhadap Jumlah Kecepatan dan Morfologi Spermatozoa Tikus Putih Jantan. Tesis. Program Studi Ilmu Biomedik. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.
- Indrayani Y, Muin M, Yoshimura T. (2016). Crude extracts of two different leaf plant species and their responses against subterranean termite *Coptotermes formosanus*. *Nusantara Bioscience*. 8 (2) : 226 – 231. Doi: <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n080215>
- Keltenback, C.C., dan T.G. Dunn. (1980). *Endocrinology of Reproduction in Farm Animal*. Edited by E.S.E. Hafez. 4th Edition. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Kementerian Kesehatan. (2013). *Konsensus Penanganan Infertilitas: Himpunan Endrikonologi, Reproduksi dan Ferliitas Indonesia*. Jakarta
- Luthfi, M., Noor, M.M., dan Latip, J. (2008). Kajian Tumbuhan Obat: Suatu Prospek dalam Pengembangan Agen Afrodisiak dan Kesuburan Laki-Laki. *Jurnal Kaunia*. Vol 4(2)
- Mansouri. A., Embarek, G., Kakalou, E., dan Kefales, P. (2005) Phenolic Profile and Antioxidant Acitivity Of The Algerian Ripe Date Palm Fruit. *Food Chemistry*. Vol 89 (3). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.051>
- Muryanta, A. (2012). *Menyoal Infertilitas pada Pasangan Suami-Istri (Makalah)*. Kulonprogo: Penyuluh Keluarga Berencana (PKB).
- Musfirah, Y. d. (2016). Potensi Ekstrak Etanol 70% Akar Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa blume*) terhadap Kualitas dan Viabilitas Sperma Mencit. *Pharmaciana*. ISSN: 2088 4559; e-ISSN: 2477 0256, 133. Doi: <http://dx.doi.org/10.12928/pharmaciana.v6i2.4037>
- Sailaja, L.L., dan Vasanthi, A. (2016). Histology Of Testes. *Journal of Dental and Medicinal Sciences (IOSR-JDMS)*. 15 (8). e-ISSN: 2279-0853, p-ISSN: 2279-0861
- Saryono, R.E., Haryanto., Hapsari., Hidayat. (2016). Antioxidant enzyme status on rat after date seeds (*Phoenix dactylifera*) steeping treatment. *Journal of Research ini Medical Sciences*. 4(6). Doi: 10.18203/2320-6012.ijrms20161431
- Silva, D.L., David, J., Silva, L., Santos, R., Lima, L., Reis, P., dan Fontane, R. (2012). Bioactive Oleanoat, lupine, and ursane triterpenoid acid derivate. *Molecules*. 17 (10), pp: 12197-12205. doi: 10.3390/molecules171012197
- Soenanto, H. & Kuncoro, S. (2009). *Obat Tradisional*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Vyawahare, M., Pujari, R., Khsirsagar, A., (2008). Phoenix Dactylifera: An update of its indegenous uses, phytochemistry and pharmacology. *The Internet Journal of Pharmacology*. 7 (1), pp.1531-2976.scholar.google
- WHO. (2010). *Laboratory Manual For The Examination and Processing of Human Semen*. 5th ed.
- Yatim, W. (1990). *Reproduksi*. Bandung: Penerbit Erlangga.