



PENGARUH PEMBERIAN JUS PARE (*Momordica charantia* L.) TERHADAP KUALITAS SPERMA DAN HISTOLOGI TESTIS TIKUS WISTAR

THE EFFECT OF GIVING BITTER MELON (*Momordica charantia* L.) JUICE ON SPERM QUALITY AND HISTOLOGY WISTAR RAT TESTES

Haris Setiawan*, Roby Ahmad Subagja

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan,
Jl Ringroad Selatan, Kragilan, Tanaman, Kec. Banguntapan, Bantul, 55191 Yogyakarta

*Corresponding author: haris.setiawan@bio.uad.ac.id

Naskah Diterima: 20 November 2021; Direvisi: 27 Januari 2023; Disetujui: 9 Mei 2023

Abstrak

Buah pare merupakan salah satu kandidat agen kontrasepsi karena memiliki beberapa senyawa seperti flavonoid, triterpenoid, steroid, *charantin*, dan *momordicin* yang memiliki peran sebagai agen antispermatogenik. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jus pare (*Momordica charantia* L.) terhadap kualitas sperma dan histologi testis tikus Wistar (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769). Penelitian menggunakan 20 ekor tikus Wistar jantan, dibagi menjadi 4 perlakuan yang terdiri dari kelompok pemberian akuades (K), kelompok pemberian jus pare konsentrasi 25% (P1), 50% (P2), dan 75% (P3) yang dilakukan selama 49 hari menggunakan sonde lambung 1 mL. Pada hari ke-50 tikus dibedah untuk diambil *cauda epididymis* dan testis. *Cauda epididymis* dilarutkan ke dalam *Phosphate Buffer Saline* (PBS) untuk pengamatan kualitas sperma yang terdiri dari motilitas, jumlah, viabilitas, dan morfologi sperma. Testis dibuat sediaan histologi dengan metode parafin (pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*). Seluruh parameter dianalisis menggunakan uji *One-Way Anova* dan dilanjutkan *Duncan test* ($P < 0,05$). Hasil menunjukkan terdapat penurunan motilitas, viabilitas, dan jumlah sperma pada konsentrasi 50% dibandingkan dengan kontrol ($P < 0,05$), namun tidak terdapat perbedaan pada morfologi sperma ($P > 0,05$). Terdapat penurunan jumlah sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatozoa pada konsentrasi 25% dibandingkan dengan kontrol ($P < 0,05$), namun tidak terlihat penurunan pada sel spermatid dan index spermatogenesis ($P > 0,05$). Jus pare dapat menurunkan sebagian besar parameter kualitas sperma sehingga berpotensi sebagai antispermatogenik.

Kata Kunci: Antispermatogenik; Buah pare; Kualitas sperma; Testis; Tikus Wistar

Abstract

Bitter melon fruit is one of the candidates for contraceptive agents because it contains several compounds such as flavonoids, triterpenoids, steroids, *charantin*, and *momordicin* which have a role as antispermatogenic agents. The research aims to determine the effect of giving bitter melon juice (*Momordica charantia* L.) on sperm quality and testicular histology of Wistar rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769). The study used 20 male Wistar rats, divided into 4 treatments consisting of groups given distilled water (K), groups given bitter melon juice with concentrations of 25% (P1), 50% (P2), and 75% (P3) which were carried out for 49 days, using a 1 mL gastric probe. On the 50th day, mice were dissected to remove the *cauda epididymis* and testes. The *cauda epididymis* is dissolved in *Phosphate Buffer Saline* (PBS) to measure sperm quality consisting of sperm motility, number, viability and morphology. Testes were made into histological preparations using the paraffin method (*Hematoxylin-Eosin* staining). All parameters were analyzed using the *One-Way Anova* test and continued with the *Duncan test* ($P < 0.05$). The results showed that there was a decrease in sperm motility, viability and number at a concentration of 50% compared to the control ($P < 0.05$), but there was no difference in sperm morphology ($P > 0.05$). There was a decrease in the number of spermatogonium cells, spermatocytes and spermatozoa at a concentration of 25% compared to the control ($P < 0.05$), but there was no visible decrease in spermatid cells and spermatogenesis index ($P > 0.05$). Bitter melon juice can reduce most sperm quality parameters so it has the potential to be antispermatogenic.

Keywords: Antispermatogenic; Bitter melon; Sperm quality; Testes; Wistar Rat

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v16i2.1.23216>

PENDAHULUAN

Pertambahan jumlah penduduk di Indonesia setiap tahun terus meningkat, berdasarkan hasil Survei Penduduk Antar Sensus (SUPAS) pada tahun 2015 menunjukkan bahwa jumlah penduduk di Indonesia pada tahun 2020 sebanyak 269,6 juta jiwa (Badan Pusat Statistik (BPS), 2018). Salah satu upaya pemerintah dalam melakukan penekanan jumlah penduduk di Indonesia adalah dengan mengadakan program Keluarga Berencana (KB) (Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional (BKKBN), 2013). Berbagai alat dan metode dalam pelaksanaan KB sudah banyak ditemukan, namun sebagian besar diperuntukan bagi wanita (Hendra, 2014). Berbagai macam kontrasepsi pada pria seperti kondom dan vasektomi menimbulkan rasa ketidaknyamanan, sehingga menjadi salah satu faktor alasan pria enggan menggunakan alat kontrasepsi tersebut (Tumkiratiwong et al., 2014). Dibutuhkan berbagai macam alternatif dan pengembangan pada kontrasepsi pria, salah satunya bentuk kontrasepsi dengan mengkonsumsi beberapa agen antifertilitas/antispermato-genik berbahan dasar herbal. Untuk itu, penelitian pengembangan metode kontrasepsi bagi pria perlu ditingkatkan agar dapat memberi kontribusi dalam menekan pertumbuhan jumlah penduduk di Indonesia (Setiawan et al., 2022).

Salah satu upaya dalam mengembangkan metode kontrasepsi adalah dengan menemukan agen antifertilitas ataupun antispermato-genik alami berbahan dasar herbal yang aman dan nyaman. Indonesia menjadi salah satu negara dengan biodiversitas yang cukup tinggi dengan berbagai macam jenis tanaman yang tumbuh dan berpotensi sebagai agen antifertilitas, seperti biji dan daun pepaya (*Carica papaya*), biji oyong (*Luffa acutangula Roxb*), kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.), daun manggis (*Garcinia mangostana*), kunyit (*Curcuma domestica*), cantel (*Andropogon sorghum*), tapak dara (*Catharanthus roseus*) dan gandarusa (*Justicia gendarussa*). Berbagai macam tanaman tersebut memiliki kandungan senyawa fitokimia yang berperan dalam penghambatan siklus spermatogenesis (proses pembentukan sperma), dan penurunan motilitas (pergerakan) spermatozoa. Pare (*Momordica charantia* L.) merupakan salah satu tanaman yang dibudidayakan dan tumbuh subur di wilayah Indonesia. Pare memiliki beberapa senyawa fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, fenolik, dan steroid atau triterpenoid (Wulandari, 2016; Fifendy & Indriati, 2018), sehingga memiliki potensi sebagai agen antifertilitas alami.

Berbagai penelitian terhadap buah pare telah dilakukan. Hasil penelitian ekstrak buah pare menggunakan pelarut etanol dapat berperan sebagai agen antifertilitas dengan menurunkan kualitas sperma tikus Wistar (Singh & Teotia, 2017). Ekstrak biji pare menggunakan pelarut *petroleum ether*, *benzene*, dan alkohol dapat berperan sebagai antispermato-genik dan menurunkan aktivitas androgenik pada tikus (Sharma et al., 2013). Ekstrak hidrometanol buah pare juga dapat menurunkan indeks fertilitas dan persentasi fertilitas tikus Wistar (Obiandu & Obiandu, 2020). Namun, pemanfaatan buah pare dalam bentuk sediaan jus (tanpa pelarut) masih belum banyak dilakukan. Sediaan dalam bentuk jus lebih mudah diaplikasikan dan dibuat oleh masyarakat dibandingkan dengan proses ekstraksi. Jus buah pare sendiri diketahui memiliki beberapa kandungan fitokimia yang berperan sebagai agen antifertilitas alami seperti flavonoid triterpenoid dan tanin. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi jus buah pare dalam menurunkan kualitas sperma dan histologi testis pada tikus Wistar.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai April 2021 di Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan. Penelitian disesuaikan dengan SOP riset dan telah disetujui oleh Komite Etik Universitas Ahmad Dahlan dengan Surat Kelayakan Etik No. 012102010. Buah Pare diidentifikasi di Laboratorium Biologi, Universitas Ahmad Dahlan (No:259/Lab.Bio/B/XI/2020) dengan nama ilmiah *Momordica charantina* L.

Pembuatan Jus Pare

Buah pare (berwarna hijau segar) dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian pare dipotong kecil dan diambil bagian daging buahnya. Daging buah pare dihaluskan dengan blender sampai halus tanpa penambahan air. Sari pare disaring dan dipisahkan dengan ampasnya

menggunakan saringan. Sari pare kemudian digunakan untuk membuat konsentrasi jus pare pada perlakuan. Perlakuan terdiri dari 4 kelompok, yaitu kontrol (K) yang diberi akuades, P1 (konsentrasi jus pare 25% dan akuades 75%), P2 (konsentrasi jus pare 50% dan akuades 50%), P3 (konsentrasi jus pare 75% dan akuades 25%).

Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Uji

Tikus Wistar sebanyak 24 ekor (jenis kelamin jantan, umur 3 bulan, dan bobot badan ± 200 g) diaklimatisasi selama ± 2 minggu di dalam kandang pemeliharaan berukuran 40 x 40 x 30 cm (suhu 26 °C). Tikus diberi pakan dan air minum secara *ad libitum*, serta sekam dalam kandang diganti setiap 3 hari sekali. Tikus ditimbang seminggu sekali menggunakan timbangan digital *Oxone*. Jus buah pare sesuai perlakuan diberikan setiap hari secara *oral gavage* menggunakan sonde 1 mL. Pemberian jus pare dilakukan selama 49 hari (satu siklus spermatogenesis tikus), kemudian pada hari ke-50 tikus dibedah untuk diambil *cauda epididymis* dan testis.

Pembedahan dan Pengambilan Organ Testis dan Epididimis

Tikus dianestesi menggunakan eter 10% sampai tikus tidak sadarkan diri untuk mengurangi rasa sakit saat proses dislokasi leher. Setelah itu tikus didislokasi leher dan dibedah untuk diambil organ testis dan *cauda epididymis*. Pengambilan organ testis dilakukan dengan cara membedah bagian tubuh dengan posisi terlentang, pembedahan dimulai dengan membuka bagian kulit daerah abdominal, selanjutnya organ testis diambil dan dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak untuk ditimbang (Cholifah et al., 2014).

Pengamatan Kualitas Sperma

Organ *cauda epididymis* diletakan pada cawan petri kecil yang sudah diisi larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebanyak 10 mL (suhu 37 °C). *Cauda epididymis* kemudian dipotong menggunakan gunting bedah agar sperma keluar dan bercampur dengan PBS. Suspensi tersebut kemudian digunakan untuk mengamati parameter kualitas sperma yang terdiri dari motilitas, jumlah, viabilitas, dan morfologi sperma (Setiawan & Yunianto, 2015). Suspensi sperma diambil sebanyak 10 μ L dengan menggunakan mikropipet, kemudian diteteskan pada bilik Hemositometer *Double Improved Neubaur*, setelah itu motilitas sperma diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x lensa objektif dan dihitung pada bagian bilik dengan luas 0,04 mm² pada kedalaman 0,1 mm untuk diamati motilitas dan jumlah sperma. Kategori motilitas sperma sesuai dengan kategori pada Tabel 1 (Parhizkar et al., 2013).

Tabel 1. Kategori motilitas sperma (Parhizkar et al., 2013)

Kategori	Karakteristik
1	Sperma immotil dan tidak dapat bergerak.
2	Motilitas sperma tidak progresif. Sperma tidak dapat berpindah dari tempatnya dan hanya bisa menggerakkan ekornya (<i>vibrating-like-movement</i>).
3	Pergerakan sperma tidak linear (<i>non-linear motility</i>). Sperma bergerak lambat dan hanya bergerak memutar atau tidak lurus.
4	Motilitas sperma progresif, sperma berenang sangat kuat dan cepat serta pergerakannya lurus.

Hasil pengamatan kategori motilitas sperma kemudian dimasukkan ke dalam rumus persentase motilitas sperma. Persentase kriteria motilitas sperma sesuai kategori merupakan jumlah sperma sesuai kategori dibagi total jumlah sperma semua kategori dikali 100%.

Setelah pengamatan motilitas sperma selesai, ditunggu selama 10–15 menit sampai seluruh sperma pada bilik hitung tidak bergerak. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel sperma pada bilik yang sama. Hasil perhitungan jumlah sel sperma dimasukkan ke dalam rumus untuk menghitung jumlah sperma (Parhizkar et al., 2013). Jumlah sperma adalah total jumlah sperma pada 5 kotak x 50.000 x 100 (sel/mL).

Pengamatan viabilitas dan morfologi sperma dilakukan dengan mengambil suspensi sperma sebanyak 10 μ L, kemudian ditetaskan pada kaca preparat dan dicampur dengan pewarna eosin-nigrosin. Hasil campuran dibuat preparat ulasan dan diamati di bawah Mikroskop Olympus CX23. Sel sperma yang hidup (*viable*) tidak akan terwarnai (transparan), sedangkan sperma yang mati (*non-viabel*) akan terwarnai merah. Pengamatan morfologi sperma dilakukan dengan menggunakan sampel yang sama dari pengamatan viabilitas spermatozoa. Pengamatan dilakukan terhadap struktur morfologi sperma pada 100 sel sperma yang telah diwarnai dengan eosin-nigrosin, serta kriteria sperma normal dan abnormal yang merujuk pada Wyrobek dan Bruce (1975).

Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologi Testis

Testis dicuci menggunakan NaCl 0,9% untuk menghilangkan sisa darah dan kotoran, setelah itu difiksasi menggunakan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) untuk dibuat preparat histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Testis dipotong secara melintang menggunakan *rotary microtom* dengan ketebalan 5–6 μ m. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop Olympus CX23 dan Optilab dengan perbesaran 10x dan 40x lensa objektif. Parameter yang diamati terdiri dari sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit, spermatid dan spermatozoa) serta indeks spermatogenesis (Setiawan et al., 2020). Indeks spermatogenesis adalah jumlah spermatosit dan spermatid dibagi jumlah spermatogonia, spermatosit dan spermatid, dikali 100% (Kaspul, 2016).

Analisis Data

Data pada seluruh parameter dilakukan uji homogenitas dan normalitas. Data yang terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dianalisis menggunakan uji *One-Way Anova*. Jika data signifikan atau nilai $P < 0,05$ dilanjutkan dengan *Duncan Test* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

HASIL

Bobot Badan dan Bobot Testis Tikus

Hasil pengamatan penelitian tikus Wistar menunjukkan bahwa pemberian jus pare tidak berpengaruh terhadap bobot badan dan bobot testis (Tabel 2). Bobot badan dan organ tikus Wistar mulai dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8 tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan pada semua perlakuan ($P > 0,05$). Bobot badan dan bobot testis yang tidak mengalami perbedaan nyata menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian jus buah pare terhadap pertumbuhan tikus Wistar selama perlakuan.

Tabel 2. Bobot badan dan organ testis tikus setelah pemberian jus pare selama 49 hari.

Variabel	Umur (minggu)	Perlakuan			
		K	P1	P2	P3
Bobot badan (g)	0	219,25 \pm 51,17 ^a	211,75 \pm 34,32 ^a	216 \pm 87,39 ^a	203,25 \pm 21,82 ^a
	1	221,25 \pm 49,47 ^a	218,75 \pm 34,37 ^a	224 \pm 48,54 ^a	203,75 \pm 20,13 ^a
	2	227 \pm 48,87 ^a	226,75 \pm 33,09 ^a	249 \pm 30,16 ^a	205 \pm 23,49 ^a
	3	235,25 \pm 52,62 ^a	238,75 \pm 31,48 ^a	265,25 \pm 38,38 ^a	206,50 \pm 14,17 ^a
	4	239,25 \pm 52,65 ^a	240,25 \pm 36,00 ^a	273,75 \pm 42,47 ^a	209,50 \pm 12,15 ^a
	5	244,75 \pm 48,94 ^a	251,50 \pm 39,73 ^a	284,75 \pm 47,27 ^a	219,75 \pm 11,55 ^a
	6	248,50 \pm 46,37 ^a	266 \pm 42,08 ^a	290,50 \pm 52,66 ^a	227,25 \pm 11,87 ^a
	7	249,25 \pm 53,64 ^a	266 \pm 66,41 ^a	290,75 \pm 85,44 ^a	234,75 \pm 13,04 ^a
	8	252,25 \pm 53,18 ^a	275,75 \pm 49,80 ^a	297 \pm 56,24 ^a	236,75 \pm 10,87 ^a
Bobot testis (g)		1,35 \pm 0,06 ^a	1,15 \pm 0,39 ^a	1,35 \pm 0,20 ^a	1,10 \pm 0,24 ^a

Keterangan: notasi huruf pada baris yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara signifikan ($P > 0,05$). K (pemberian akuades), P1 (jus buah pare konsentrasi 25%), P2 (jus buah pare konsentrasi 50%), dan P3 (jus buah pare konsentrasi 75%). *Mean* \pm *SD*

Kualitas Sperma Tikus Wistar

Hasil pengamatan kualitas sperma menunjukkan bahwa pemberian jus pare memiliki perbedaan yang signifikan terhadap parameter motilitas, viabilitas, dan jumlah sperma dibandingkan dengan kontrol ($P < 0,05$). Pada parameter morfologi sperma pemberian jus pare tidak memiliki perbedaan secara signifikan antar perlakuan ($P > 0,05$) (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil kualitas sperma tikus Wistar setelah pemberian jus pare selama 49 hari

Parameter sperma	K	P1	P2	P3
Motilitas sperma				
Kategori 4 (%)	34,22 \pm 13,11 ^b	18,02 \pm 4,42 ^a	21 \pm 5,59 ^a	10,42 \pm 5,26 ^a
Kategori 3 (%)	19,90 \pm 6,95 ^a	14,55 \pm 3,36 ^a	11,60 \pm 9,77 ^a	11,42 \pm 1,05 ^a
Kategori 2 (%)	25,05 \pm 8,56 ^a	39,27 \pm 14,37 ^a	35,10 \pm 6,77 ^a	37,85 \pm 22,80 ^a
Kategori 1 (%)	20,70 \pm 14,80 ^a	27,12 \pm 14,10 ^a	32,12 \pm 12,25 ^a	40,12 \pm 26,22 ^a
Jumlah sperma ($\times 10^6$ sel/mL)	547,50 \pm 175,33 ^b	498,75 \pm 76,85 ^b	282,50 \pm 79,84 ^a	271,25 \pm 48,19 ^a
Viabilitas sperma (%)	47,54 \pm 13,02 ^b	21,32 \pm 10,59 ^a	8,05 \pm 4,11 ^a	23,07 \pm 12,60 ^a
Morfologi sperma normal (%)	98,38 \pm 3,22 ^a	99,05 \pm 1,17 ^a	99,66 \pm 0,67 ^a	94,30 \pm 10,13 ^a
Morfologi sperma abnormal (%)	1,61 \pm 3,22 ^a	0,94 \pm 1,17 ^a	0,33 \pm 0,67 ^a	5,69 \pm 10,13 ^a

Keterangan: Notasi pada huruf dan baris yang sama menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan ($P < 0,05$). Kategori 4 (sperma bergerak lurus), kategori 3 (sperma bergerak melingkar), kategori 2 (sperma bergerak ditempat), kategori 1 (sperma tidak bergerak). K (pemberian akuades), P1 (jus buah pare konsentrasi 25%), P2 (jus buah pare konsentrasi 50%), dan P3 (jus buah pare konsentrasi 75%)

Struktur Histologi Testis dan Index Spermatogenesis

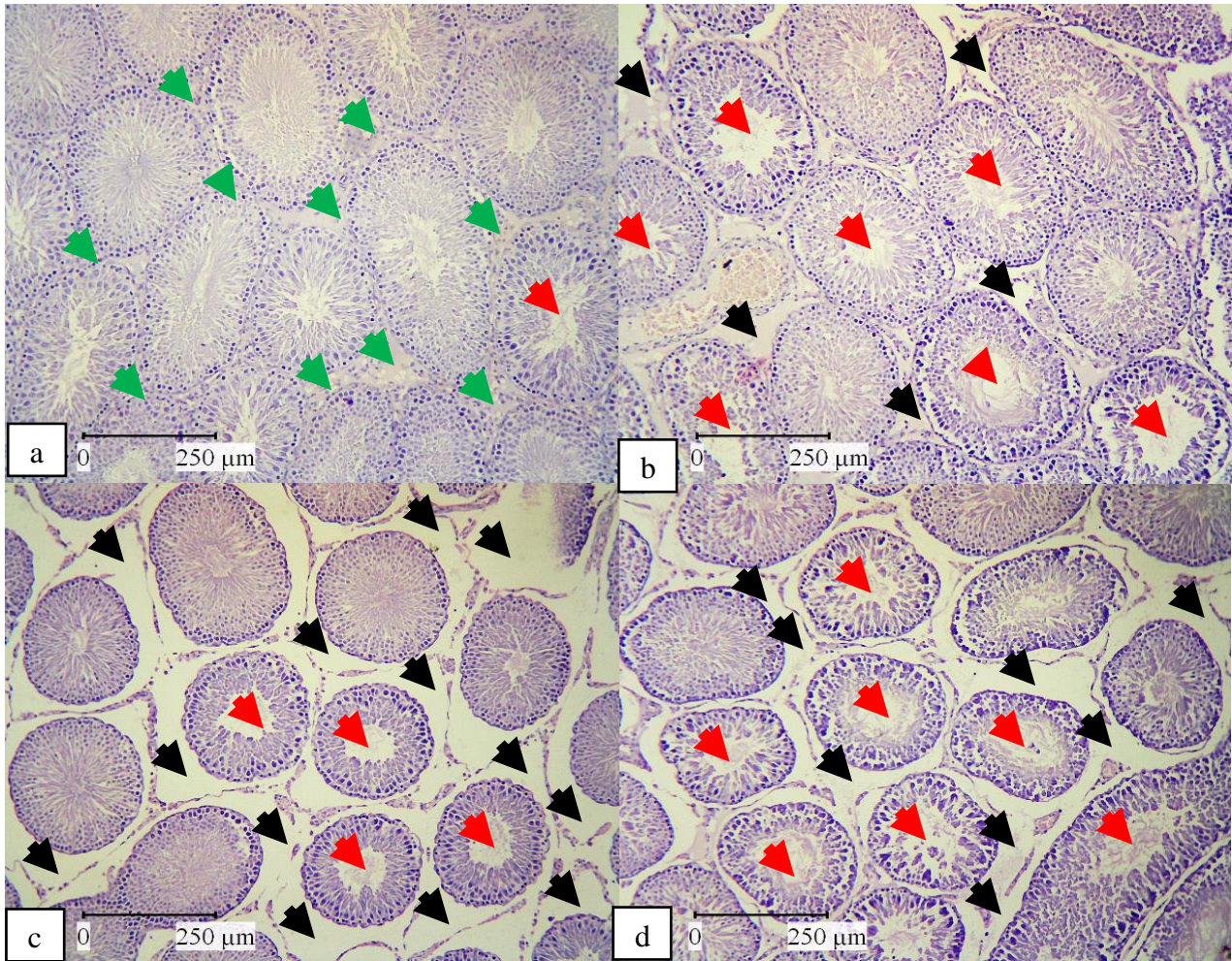
Hasil pengamatan sel spermatogenik menunjukkan bahwa jus pare memiliki perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P < 0,05$) (Tabel 4). Pada pengamatan histologi testis pada area tubulus seminiferus (Gambar 1) terlihat jenis sel spermatogenik pada semua perlakuan seperti spermatogonia, spermatosit, spermatid, dan spermatozoa. Pada index spermatogenesis tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P > 0,05$) (Tabel 4). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada tubulus seminiferus tikus yang diberi jus pare memiliki lumen yang besar dibandingkan dengan kontrol (terlihat sel-sel spermatogenik yang mengisi lumen secara penuh (Gambar 1). Terdapat banyak rongga (lumen) pada jaringan intersitisal testis pada perlakuan jus pare dibandingkan dengan kontrol (Gambar 1). Jaringan interstisial yang tersusun oleh sel leydig dan kapiler darah tidak terlihat padat dan cenderung longgar. Sel-sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus pada perlakuan jus pare terlihat memiliki jumlah sedikit dibandingkan dengan kontrol (Gambar 2).

Tabel 4. Struktur histologi testis tikus Wistar setelah pemberian jus pare selama 49 hari

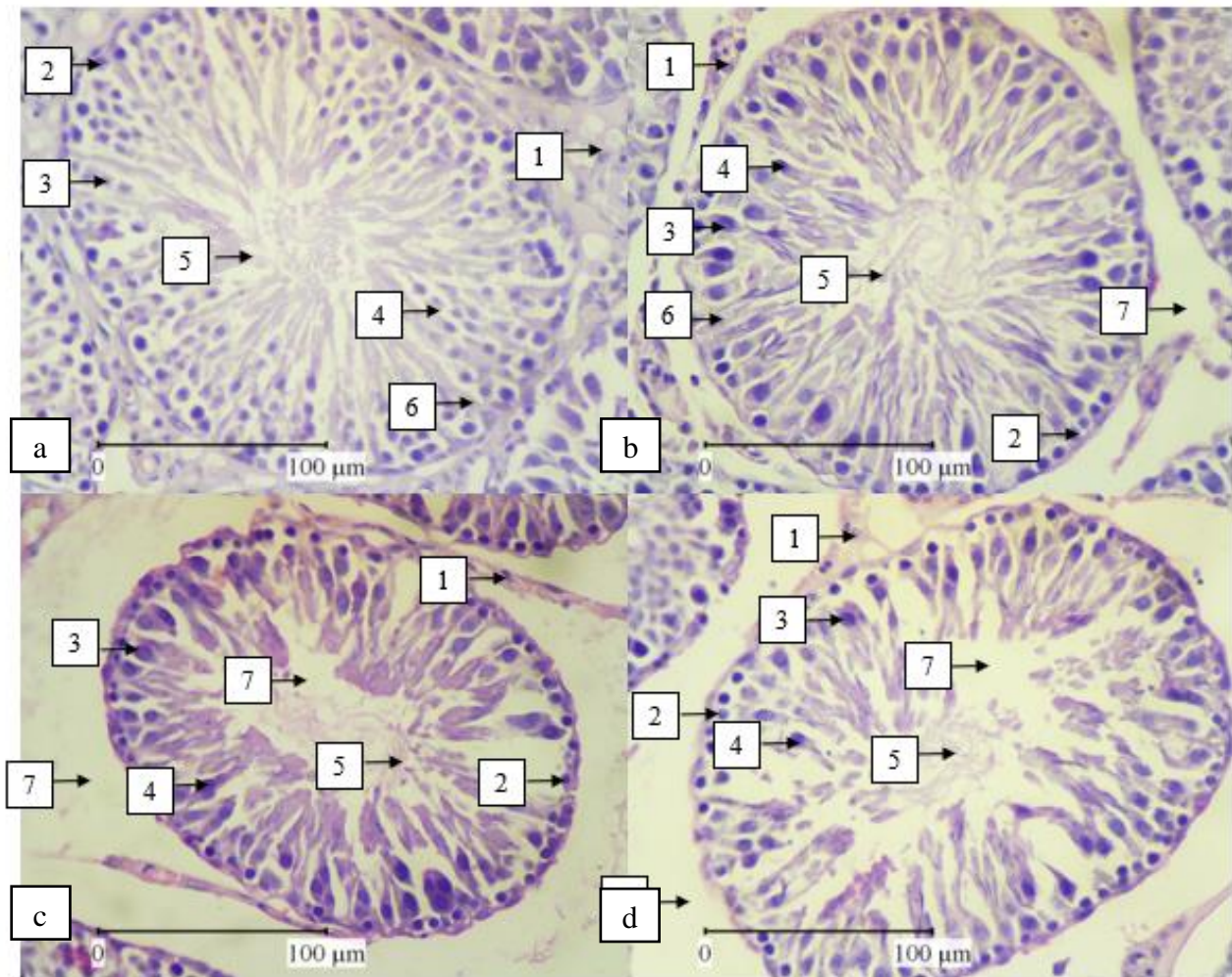
Variabel	Jumlah sel spermatogenik				Indeks spermatogenesis
	Spermatogonia	Spermatosit	Spermatid	Spermatozoa	
K	16,13 \pm 1,70 ^a	8,30 \pm 3,12 ^b	11,13 \pm 2,40 ^a	4,43 \pm 0,35 ^c	32,71 \pm 29,88 ^a
P1	18,80 \pm 0,52 ^b	2,63 \pm 0,55 ^a	17,36 \pm 2,88 ^b	2,73 \pm 0,41 ^b	30,82 \pm 28,28 ^a
P2	18,96 \pm 1,35 ^b	1,30 \pm 0,17 ^a	15,30 \pm 1,57 ^{ab}	1,63 \pm 0,60 ^a	27,97 \pm 25,56 ^a

Variabel	Jumlah sel spermatogenik			Indeks spermatogenesis
	Spermatogonia	Spermatisit	Spermatid	
P3	15,16 ± 0,68 ^a	0,60 ± 0,20 ^a	11,00 ± 2,25 ^a	1,60 ± 0,36 ^a

Keterangan: Notasi huruf pada kolom yang sama menunjukkan terdapat perbedaan secara signifikan ($P < 0,05$). K (kontrol dengan pemberian akuades), P1 (jus buah pare konsentrasi 25%), P2 (jus buah pare konsentrasi 50%), dan P3 (jus buah pare konsentrasi 75%)



Gambar 1. Struktur histologi testis tikus Wistar setelah pemberian jus pare selama 49 hari. Keterangan: K= akuades) (a), P1= jus pare 25% (b), P2= jus pare 50% (c), dan P3= jus pare 75% (d); panah hitam (lumen yang longgar pada jaringan interstisial), panah merah (lumen kosong pada tubulus seminiferus), panah hijau (jaringan interstisial yang padat); pewarnaan hematoxylin eosin. *Scale bar* 250 µm



Gambar 2. Struktur histologi testis tikus Wistar setelah pemberian jus pare selama 49 hari. Keterangan: K= akuades (a), P1= jus pare 25% (b), P2= jus pare 50% (c), P3= jus pare 75% (d); 1= jaringan interstisial dengan sel sertoli, 2= sel spermatogonium, 3= sel spermatosit, 4= sel spermatid, 5= sel spermatozoa), 6= sel sertoli). Pewarnaan hematoxylin eosin. *Scale bar* 100 µm

PEMBAHASAN

Penelitian menunjukkan bahwa jus buah pare dapat menurunkan aktivitas kerja hormon reproduksi pada tikus Wistar jantan. Buah pare memiliki kemampuan dalam menghambat kelenjar pituitari dalam mengeluarkan beberapa hormon reproduksi yang berperan pada proses spermatogenesis dan menekan produksi sperma (Yama et al., 2011). Pelepasan hormon *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) oleh hipotalamus dalam menstimulasi pelepasan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Hormon-hormon tersebut berfungsi sebagai pengatur aktivitas spermatogenesis di dalam testis, seperti LH yang berfungsi merangsang sel Leydig dalam memproduksi testosteron, dan FSH yang berfungsi menstimulasi sel Sertoli dalam proses pembentukan sel spermatogenik (Soliman et al., 2020). Adanya penurunan kadar pada hormon tersebut akibat kandungan senyawa pada pare menyebabkan pembentukan sel spermatogenik terganggu dan berdampak pada kualitas sperma yang dihasilkan. Terdapat berbagai macam jenis senyawa pada jus buah pare seperti alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, *cardiac glikosida*, dan steroid yang berperan dalam menghambat spermatogenesis dan berpotensi sebagai antifertilitas (Mada et al., 2013; Sharma et al., 2013a; Sharma et al., 2013b).

Pemberian jus buah pare pada tikus menunjukkan terdapat penurunan kualitas sperma selama 49 hari. Senyawa triterpenoid dan steroid pada buah pare diduga menurunkan kadar hormon testosteron dengan menghambat mekanisme umpan balik hipofisis dengan hipotalamus, sehingga mengganggu produksi LH dan FSH. Terganggunya fungsi FSH dalam merangsang sel Leydig untuk

menghasilkan testosteron menyebabkan penurunan jumlah sel sperma yang dihasilkan (Nita et al., 2020). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel sperma pada pemberian jus pare lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol, yaitu pada konsentrasi 50% dan 75% jus pare ($P < 0,05$).

Jus pare memiliki berbagai macam jenis flavonoid yang terkandung pada pare seperti *catechin*, *epicatechin*, rutin, quercetin, quercitrin, dan kaempferol. Senyawa tersebut diduga menekan sekresi testosteron yang dihasilkan sel leydig (Oliveira et al., 2018). Sekresi hormon testosteron dapat ditekan dengan cara memicu dan menghambat reaksi umpan balik pada hipotalamus dalam mensekresikan GnRH, sehingga akan berdampak pada penurunan hormon FSH dan LH. Penurunan kadar FSH dan LH di dalam darah menekan jalur *pituitary-testicular axis*, sehingga menghambat siklus spermatogenesis pada tikus (Yama et al., 2011). Buah pare juga mengandung senyawa tanin yang berperan dalam menurunkan motilitas sperma dengan menghambat sintesis protein *dyeinin* (protein yang berperan dalam pergerakan ekor sperma) (Susetyarini, 2012; Oguejiofor et al., 2020). Pemberian jus pare pada tikus juga menyebabkan abnormalitas leher spermatozoa, sehingga mitokondria yang berperan sebagai sumber ATP dalam pergerakan ekor sperma tidak bekerja dengan maksimal (Susilo & Pratinaningsih, 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada motilitas kategori 4, yaitu sperma yang bergerak lurus atau motil mengalami penurunan setelah pemberian jus buah pare pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% ($P < 0,05$).

Penelitian Tumkiratiwon et al., (2014) menunjukkan bahwa kandungan fitokimia pada buah pare dapat menurunkan *germ cell* pada tubulus seminiferus seperti penurunan jumlah sel spermatid. Sel spermatid yang menurun berdampak pada daya hidup sel sperma (viabilitas). Menurut Jerald et al. (2012), buah dan biji pare dapat menurunkan viabilitas sperma secara *in vitro*. Penurunan persentase viabilitas sperma diakibatkan oleh pengaruh kandungan flavonoid pada jus pare, dengan meningkatkan aktifitas *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada membran plasma (Dewanti et al., 2020). Kerusakan membran plasma pada sel spermatozoa dapat menyebabkan terjadinya disfungsi pada pompa natrium sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik (Delfita, 2014). Disfungsi pompa natrium dapat merusak membran sel, sehingga dapat memengaruhi daya hidup sel sperma. Kandungan alkaloid, flavonoid, dan tanin pada buah pare juga memiliki efek sitotoksik pada sel sperma. Senyawa tersebut akan masuk ke dalam aliran darah menuju testis, sehingga dapat membentuk ikatan kompleks antara reseptor androgen yang terdapat pada sel leydig dan sertoli (Januarti et al., 2021). Ikatan kompleks reseptor androgen dengan senyawa fitokimia tersebut memicu perubahan bentuk menjadi reseptor transformasi yang dapat memengaruhi DNA (dengan bantuan enzim polimerase di dalam inti sel) pada sintesis protein. Hal tersebut memicu penurunan viabilitas dan peningkatan abnormalitas sperma yang diakibatkan gangguan sintesis protein pada saat proses spermatogenesis (Harlis et al., 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas sperma mengalami penurunan pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% ($P < 0,05$).

Pemberian jus buah pare juga meningkatkan hormon prolaktin yang dapat menjadi jalur penghambatan spermatogenesis. Hormon prolaktin yang tinggi (*hyperprolactinaemia*) dapat menghambat produksi GnRH dan testosteron (Rinendyaputri & Nikmah, 2020). Penurunan hormon tersebut menyebabkan gangguan pada spermatogenesis, sehingga dapat menurunkan jumlah sperma dengan morfologi abnormal. Sperma dengan morfologi yang abnormal seperti kepala tanpa kait, sperma tanpa kepala dan sperma tanpa ekor dapat menyebabkan motilitas (pergerakan sperma) terganggu. Hasil penelitian belum menunjukkan gangguan pada morfologi sperma yang signifikan ($P > 0,05$). Hal tersebut memperlihatkan bahwa jus buah pare belum mampu menghambat proses pembentukan sperma dengan morfologi yang abnormal secara signifikan ($P > 0,05$), namun berpengaruh dalam menurunkan jumlah, motilitas dan viabilitas sperma pada tikus Wistar selama 49 hari ($P < 0,05$).

Gangguan pada siklus spermatogenesis dapat diamati menggunakan indeks spermatogenesis. Penurunan angka indeks spermatogenesis menunjukkan bahwa sel spermatogenik seperti spermatogonium, spermatisit, dan spermatid yang terbentuk juga semakin menurun (Joshi et al., 2011; Setiawan et al., 2021). Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks spermatogenesis tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P > 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa jus buah pare belum

mampu dalam menurunkan indeks spermatogenesis pada tikus Wistar. Namun pada penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan pada sel spermatosit dan spermatozoa ($P < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa jus pare dapat menurunkan beberapa jumlah dari sel-sel spermatogenik (walaupun tidak seluruh jenis sel). Pada pengamatan histologi, terlihat jumlah sel spermatozoa di dalam tubulus seminiferus mengalami penurunan jumlah yang sama dengan jumlah sel spermatozoa dan motilitas sperma yang dihitung menggunakan bilik hitung pada *cauda epididymis* (Tabel 3). Pada pengamatan histologi testis, terlihat pada perlakuan konsentrasi 50% dan 75% memiliki susunan sel spermatogenik yang tidak teratur dan lumen yang terlihat lebih longgar (Setiawan & Yunianto 2016; Cholifah et al., 2014; Dewanti et al., 2020). Walaupun indeks spermatogenesis belum mengalami penurunan, data tersebut menunjukkan bahwa jus buah pare dapat menurunkan pada parameter kualitas sperma tikus Wistar. Hasil penelitian juga menunjukkan pemberian jus buah pare belum memengaruhi penurunan bobot testis tikus pada perlakuan ($P > 0,05$). Pemberian jus buah pare berdampak pada penurunan jumlah sel spermatogenik pada hewan uji, tanpa memengaruhi bobot testis dan indeks spermatogenesis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jus buah pare dapat menurunkan kualitas sperma yang terdiri dari jumlah, motilitas, dan viabilitas sperma, serta menurunkan jumlah sel spermatogenik pada tikus Wistar jantan selama 49 hari, sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat agen antifertilitas alami.

SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian jus pare pada tikus Wistar selama 49 hari memiliki pengaruh secara signifikan terhadap kualitas sperma tikus seperti motilitas, viabilitas dan jumlah sperma pada konsentrasi 50%, sehingga jus buah pare berpotensi sebagai agen antifertilitas alami. Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktifitas hormonal pada tikus jantan untuk mengetahui efek fisiologis yang ditimbulkan dari jus buah pare. Perlu juga dilakukan penelitian terhadap hasil anakan perkawinan dengan tikus betina.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan dan Laboratorium Biologi, Universitas Ahmad Dahlan serta semua pihak yang telah membantu.

REFERENSI

- Badan Pusat Statistik (BPS). (2018). Inilah proyeksi jumlah penduduk Indonesia 2020. (2020, September 26) Retrieved from <http://databoks.katadata.co.id/datapublish/2020/01/02/inilah-proyeksi-jumlah-penduduk-indonesia-2020>.
- Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional (BKKBN). (2013). *Profil kependudukan dan pembangunan di Indonesia tahun 2013*. Jakarta: BKKBN.
- Cholifah, S., Arsyad., & Salni. (2014). Pengaruh pemberian ekstrak pare (*Momordica charantia*, L.) terhadap struktur histologi testis dan epididimis tikus jantan (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(2), 149-157.
- Delfita, R. (2014). Potensi antifertilitas ekstrak teh hitam pada mencit (*Mus musculus* L.) Jantan. *Jurnal Sainstek*, 6(2), 181-188. doi: 10.31958/js.v6i2.117.
- Dewanti, E., Viviandhari, D., Lonica, N., & Isnarningtyas, S. M. (2020). Efek antifertilitas dari ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*. *Jurnal Jamu Indonesia*, 5(1), 09-15.
- Fifendy, M., & Indriati, G. (2018). Test of fruit extract pare (*Momordica charantia* L.) to quality of ejaculated spermatozoa mice (*Mus musculus* L.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 335, 012136.
- Harlis, W. O., Malik, N., & Nelpiani. (2015). Efek pemberian sari buah paria (*Momordica charantia*, L.) terhadap morfologi spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus*, L.). *Biowallacea*, 2(1), 196-203. doi: 10.33772/biowallacea.v2i1.538.
- Hendra, R. (2014). Pemantapan partisipasi pria dalam program keluarga berencana. *Jurnal Parallela*, (1), 71-78.

- Januarti, I. B., Latifah, F., & Fatmawati, N. F. (2021). Efek ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum* var. Solo) terhadap sel leydig dan sel sertoli tikus. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 7(1), 1-6.
- Jerald, E., Pandey, A., Bigoniya, P., & Singh, S. B. (2012). Antifertility activity of *Momordica charantia* descourt pulp and seed hydroalcoholic extract. *Journal of Applied Pharmacy*, 03(04), 682-696.
- Joshi, S. C., Sharma, A., & Chaturvedi, M. (2011). Antifertility potential of some medicinal plants in males: An overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(5), 204-217.
- Kaspul. (2016). Pengaruh buah terong pipit (*Solanom torvum Sw*) terhadap spermatogenesis tikus putih (*Rattus norvegicus L.*). *Sains dan Terapan Kimia*, 10(1), 99-104. doi: 10.20527/jstk.v10i1.3158.
- Mada, S. B., Garba A., Mohammed, H. A. A., Muhammad, A., & Abbas, O. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of aqueous and ethanol extracts of *Momordica charantia L.* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(10), 579-586, doi: 10.5897/JMPR12.1161.
- Nita, S., Setiawan, A., Inggarsih, R., Tantri, U., & Hardiana, M. (2020). Papaya (*Carica papaya L.*) seed extract as male contraception via decreasing the quality of rat's (*Rattus norvegicus*) sperm. *Bioscientia Medicine : Journal of Biomedicine and Translational Research*, 4(1), 19-28.
- Obiandu, C., & Obiandu, A. C. (2020). Fertility index and percentage fertility of *Momordica charantia* treated male wistar rats. *Saudi Journal of Biomedical Research*, 5(2), 14-16. doi: 10.36348/sjbr.2020.v05i02.001.
- Oguejiofor, C. F., Eke, I. G., & Anya, K. O. (2020). Antifertility effects of *Azadirachta indica* methanol seed extract on canine spermatozoa in vitro. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 9(3), 135-141. doi: 10.4103/2305-0500.284271.
- Oliveira, M. S., Costa, W. A., Bezerra, F. W. W., Araújo, M. E., Ferreira, G. C., & Junior, R. N. C. (2018). Phytochemical profile and biological activities of *Momordica charantia L.* (Cucurbitaceae): A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(27), 829-846. doi: 10.5897/AJB2017.16374.
- Parhizkar, S., Maryam, J. Y., & Mohammad, A. D. (2013). Effect of *Phaleria macrocarpa* on sperm characteristics in adult rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(2), 345-352. doi: 10.5681/apb.2013.056.
- Rinendyaputri, R., & Nikmah, U. A. (2020, October 28). *Potensi growth factor (gf) dari sel punca mesenkim untuk pematangan sel telur secara in vitro*. Paper presented at the Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS V, Madiun, Indonesia. Retrieved from <http://prosiding.unipma.ac.id/index.php/simbiosis/article/viewFile/1768/1509>.
- Setiawan, H., & Yuniyanto, I. (2015). Aktivitas antispermatogenik ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium Occidentale L.*) terhadap mencit (*Mus musculus, L.*) sebagai materi pembelajaran siswa sma kelas xi ipa untuk mencapai kd 3.12 kurikulum 2013. *JUPEMASI-PBIO*, 1(2), 2407-1269.
- Setiawan H., & Yuniyanto, I. (2016, August 27). *Pengaruh ekstrak etanol daun jambu mete (Anacardium Occidentale L.) terhadap perkembangan sel spermatogenik mencit (Mus musculus L.)*. Paper presented at the Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education), Prodi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Ahmad Dahlan, Indonesia. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Haris-Setiawan-6/publication/337388214_PENGARUH_EKSTRAK_ETANOL_DAUN_JAMBU_METE_A_nacardium_occidentale_L_TERHADAP_PERKEMBANGAN_SEL_SPERMATOGENIK_MENCIT_Mus_musculus_L/links/5dd4ef3c458515cd48ac1b82/PENGARUH-EKSTRAK-ETANOL-DAUN-JAMBU-METE-Anacardium-occidentale-L-TERHADAP-PERKEMBANGAN-SEL-SPERMATOGENIK-MENCIT-Mus-musculus-L.pdf.

- Setiawan, H., Maliza, R., Maulana, S. A., & Hisbullah, M. I. (2020). The effect of coffee fruit extract on sperm characteristics and testicular of mice with ethanol-induced. *Jurnal Biodjati*, 5(2), 259-270. doi: 10.15575/biodjati.v5i2.9280.
- Setiawan, H., Wulandari, S. W., & Agustina, E. D. (2021). Antispermato-genic activity of ethanolic leaves extract of calina papaya on seminiferous tubules wistar rats. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 15(1), 21-26. doi: 10.21157/j.ked.hewan.v15i1.18435.
- Setiawan, H., Wulandari, S. W., & Fachmi, M.N. (2022). Efek antispermato-genik ekstrak etanol daun pepaya calina terhadap kualitas sperma dan morfologi epididimis tikus wistar. *Berita biologi*, 20(3), 19-27. doi: 10.14203/beritabiologi.v21i1.4175.
- Sharma, R. K., Goyal, A. K., & Bhat, R. A. (2013a). Antifertility activity of plants extracts on female reproduction: A review. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 3(3), 493-514.
- Sharma, P., Sharma, A., Agarwal, M., & Joshi, M. C. (2013b). A review on antifertility efficacy of plants in males. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 4(4), 413-428. doi: 10.22376/ijpbs.
- Singh A., & Teotia, U. V. S. (2017). Evaluation of effect of *Momordica dioica* extract on reproductive system of male and female rats. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 10(3), 1419-1425. doi: 10.13005/bpj/1248.
- Soliman, G. A., Rahman, R. A., Ogaly, H. A., Althurwi, H. N., Elsalam, R. M. A., Albaqami, F. F., & Kader, M. S. A. (2020). *Momordica charantia* extract protects against diabetes-related spermatogenic dysfunction in male rats: Molecular and biochemical study. *Molecules*, 25(22), 5255. doi: 10.3390/molecules25225255.
- Susetyarini, E. (2012, December 18). *Jumlah spermatogonia tikus putih yang diberi tanin daun beluntas (Pluchea indica) dengan berbagai waktu pengamatan*. Paper presented at the Prosiding Seminar Nasional: Menuju Masyarakat Madani dan Lestari, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia. Retrieved from http://repository.polman-bandung.ac.id/file_publicasi/527650588_siti%20aminah_Pembangunan%20Perangkat%20Lunak%20Kurikulum.pdf.
- Susilo, A. B., & Pratinaningsih, K. (2018). Pengaruh ekstrak etanol daun sambiloto terhadap jumlah dan motilitas spermatozoa mencit jantan. *Jurnal Biodjati*, 3(2), 2541-4208. doi: 10.15575/biodjati.v3i2.3505.
- Tumkiratiwong, P., Ployattarapinyo, R., Pongchairerk, U., & Thong-asa, W. (2014). Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 12(10), 695-704.
- Wulandari. (2016). Uji efektivitas antihiper-glikemia kombinasi jus pare (*Momordica charantia* L) dan jus tomat (*Solanum lycopersicum* L) pada tikus wistar jantan dengan metode toleransi glukosa. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(3), 2407-2354. doi: 10.7454/psr.v3i3.3269.
- Wyrobek, A. J., & Bruce, W. R. (1975). Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(11), 4425-4429. doi: 10.1073/pnas.72.11.4425.
- Yama, O. E., Duru, F. I., Oremosu, A. A., Norohna, C. C., & Okanlawon A. (2011) Suppressive effects of *Momordica charantia* on pituitary-testicular axis and sperm production in male Sprague-Dawley rats. *International Journal of Medicine and Medical Sciences* 3(12), 353-359. doi: 10.5897/IJMMS.9000230.