

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh Ekstrak Dan Fraksi Metanol Buah Kurma (*Phoenix Dactylifera*) Ajwa Terhadap Histologi Testis, Jumlah Sperma, Dan Viabilitas Spermatozoa Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague Dawley*

Domma Sinaga, Legiran, Salni

Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

Korespondensi: Domma Sinaga; alamat e-mail: Dommasinaga90@gmail.com

Abstrak

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 penelitian:** 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.

Kata kunci: Ekstrak dan Fraksi Metanol Air; Histologi Testis; Viabilitas Spermatozoa; Jumlah Sperma; Tikus Jantan Galur *Sprague Dawley*

Abstract

Objective: 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. **Method:** The design of this research is 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:** The result shows that 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 anova* test 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:** It can be concluded from the research results that there is an effect of Ajwa dates extract and water methanol fraction additions to the seminiferous tubules diameter, sperm amount, and spermatozoa viability.

Keywords: *extract and water methanol fraction; testes histologys; spermatozoa viability; sperm amount; male rat Sprague Dawley strain*

PENDAHULUAN

Berdasarkan laporan WHO, diperkirakan infertilitas terjadi antara 8-12% pasangan, yaitu sekitar 50 juta hingga 80 juta pasangan. Di Indonesia, 20-30% penduduk mengalami gangguan infertilitas.¹ 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.² Kesuburan pria dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adanya gangguan fungsi kelenjar hipotalamus dan hipofisis yang memproduksi FSH (*Follicel Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) dan gangguan dari organ reproduksi misalnya gangguan pada organ testis dan epididimis karena penyakit tertentu.³

Cara untuk mengetahui seorang pria mengalami fertil atau infertil yaitu 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.⁴ 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.⁵

Kurma mengandung senyawa fenolik (terutama asam sinamat) dan flavonoid (flavon, flavanon dan glikosida flavonol) yang menyediakan aktivitas antioksidan yang dapat melindungi kerusakan sel-sel.⁶ 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.⁷ Untuk mengeluarkan senyawa yang terdapat di dalam buah kurma ajwa, maka

didalam penelitian dilakukan dengan ekstrak dan fraksi.

METODE

Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu: 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, Akuades, 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 dari: 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

a. 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.⁸ 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 menurus sesuai dengan siklus spermatozoa.⁹

Pengelompokkan 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 adalah sebagai berikut:

Kelompok perlakuan:

- 1) Kelompok kontrol (P1)
diberikan CMC (*Carboxymethyl cellulose*) 1% 2 ml secara oral 1x/hari setiap pagi selama 35 hari
- 2) Perlakuan I (P2)
diberikan ekstra buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 250mg/kgBB/hari selama 35 hari.
- 3) Perlakuan II (P3)
diberikan fraksi Metanol Air buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 250mg/kgBB/hari selama 35 hari.
- 4) Perlakuan III (P4)
diberikan ekstrak buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 300mg/kgBB/hari selama 35 hari.
- 5) Perlakuan IV (P5)
diberikan fraksi Metanol Air buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan dosis 300mg/kgBB/hari selama 35 hari.

Tahap Pelaksanaan

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

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 penutup dengan volume 0,1 menggunakan *syringe* 1 ml. Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 200 kali dan dinyatakan dalam satuan juta/ml.¹⁰ 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.

a. Menghitung Jumlah Sperma

Larutan spermatozoa diambil sebanyak 10 µl dengan menggunakan pipet mikro. Setelah itu dilakukan

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

Contoh penghitungan jumlah spermatozoa berdasarkan pengenceran:

Penghitungan jumlah spermatozoa =

$$\left(\frac{N}{n}\right) \times \left(\frac{1}{4}\right) \text{ juta/ml}$$

Dimana:

N = Jumlah spermatozoa kedua chamber bilik hitung

n = jumlah baris pada bilik hitung

¼ = untuk pengenceran 1:5 (1/4)

b. 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 ditetaskan 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 100.¹⁰ Adapun perhitungan persentase viabilitas spermatozoa sebagai berikut:

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

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. Dari proses fraksinasi didapatkan hasil seperti pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat total berat fraksi 54,2 g, hasil fraksinasi dari ekstrak buah kurma ajwa dengan pelarut metanol air memiliki berat yang lebih besar dibandingkan dengan n-heksan dan etil asetat. Pelarut tersebut mempunyai kemampuan memisahkan senyawa dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya. Metanol merupakan cairan penyari yang mudah masuk ke dalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna.¹¹

Tabel 2. Hasil fraksinasi buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*) per 1000g

No	Pelarut	Berat Fraksi (g)	Persen Berat (%)
1.	N-Heksan	0,2	0,4
2.	Etil asetat	0,1	0,2
3.	Metanol Air	53,9	99,4
Total		54,2	100

Penentuan golongan senyawa fraksi buah kurma ajwa

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 terlihat dari Tabel 3 berikut :

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*)

No	Parameter	Satu-an	Hasil Analisa	Metode
1	Alkaloid	-	POSITIF	Analisa Kualitatif
2	Steroid	-	NEGATIF	Analisa Kualitatif
3	Terpenoid	-	POSITIF	Analisa Kualitatif
4	Tanin	-	POSITIF	Analisa Kualitatif
5	Saponin	-	POSITIF	Analisa Kualitatif
6	Flavonoid	-	POSITIF	Analisa Kualitatif

Adapun hasil dari fraksinasi pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Hasil uji fitokimia fraksi metanol air kurma ajwa fraksi (*Phoenix dactylifera*)

No	Parameter	Satuan	Hasil Analisa	Metode
1	Alkaloid	-	POSITIF	Analisa Kualitatif
2	Steroid	-	NEGATIF	Analisa Kualitatif
3	Terpenoid	-	POSITIF	Analisa Kualitatif

Tabel 5. Uji Homogenitas Berat Badan Tikus antara Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Berat Badan Tikus			p value
	N	Minimum	Maksimum	
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	190	210	198,0 ± 8,36
Ekstrak Dosis 300 mg/KgBB	5	195	210	201,0 ± 6,51
Fraksi Dosis 250 mg/KgBB	5	190	210	201,6 ± 7,40
Fraksi Dosis 300 mg/KgBB	5	190	205	197,8 ± 5,63
Kontrol	5	185	200	191,2 ± 6,94

Uji Homogenitas Levene Test dengan kemaknaan $\alpha = 5\%$ menunjukkan homogen ($p > 0,05$).

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa hasil uji statistik dengan menggunakan *Levene test* didapatkan nilai $p = 0,900$

4	Tanin	-	NEGATIF	Analisa Kualitatif
5	Saponin	-	NEGATIF	Analisa Kualitatif
6	Flavonoid	-	POSITIF	Analisa Kualitatif

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari uji fitokimia bahwa pada buah kurma ajwa terdapat senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, dan terpenoid sedangkan untuk golongansaponin dan steroid tidak terdeteksi.

Uji Homogenitas Berat Badan Tikus

Adapun hasil penghitungan homogenitas berat badan tikus dengan menggunakan uji *Levene* seperti Tabel 5 berikut.

($p > \alpha$), hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata berat badan tikus sebelum perlakuan antar kelompok perlakuan atau dapat disimpulkan berat badan tikus homogen sebelum perlakuan,

sehingga penelitian dapat dilanjutkan persyarat eksperimental terpenuhi.

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

Viabilitas sperma merupakan pemeriksaan sperma untuk menentukan jumlah sperma yang masih hidup melalui perwarnaan supravital. Adapun hasil perhitungan viabilitas spermatozoa dengan menggunakan uji anova pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Viabilitas Spermatozoa

Kelompok Perlakuan	Viabilitas Spermatozoa			p value	
	N	Minimum	Maksimum		$\bar{x} \pm SD$
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	27	45	33,70 ± 6,85 b	0,000
Ekstrak Dosis 300 mg/KgBB	5	31,5	55	40,70 ± 8,99 b	
Fraksi Dosis 250 mg/KgBB	5	31,5	46	36,20 ± 5,96 b	
Fraksi Dosis 300 mg/KgBB	5	61	80	69,20 ± 7,04 a	
Kontrol	5	13	35	20,00 ± 8,74 c	

Keterangan: 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 menunjukkan bahwa hasil uji statistik dengan menggunakan uji *one way anova* didapatkan nilai $p = 0,000$ dengan nilai alpha 0,05 ($p < \alpha$), hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan rerata viabilitas spermatozoa antar kelompok perlakuan. Hasil uji *posthoc tests*

menggunakan Duncan didapatkan bahwa fraksi Metanol Air dengan dosis 300mg/kgBB lebih efektif dalam meningkatkan viabilitas spermatozoa dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

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

Hasil penghitungan jumlah spermatozoa pada Tabel 7 berikut.

Tabel 7. Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Jumlah Spermatozoa

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

Keterangan: 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 7 di atas menunjukkan bahwa hasil uji statistik dengan menggunakan uji *one way anova* didapatkan nilai $p = 0,000$ dengan nilai alpha $0,05$ ($p < \alpha$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata jumlah spermatozoa antar kelompok perlakuan. Hasil uji *posthoc tests*

menggunakan Duncan didapatkan bahwa fraksi dengan dosis 300mg/kgBB lebih efektif dalam meningkatkan jumlah spermatozoa dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

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

Adapun hasil uji statistik anova untuk rerata diameter tubulus pada Tabel 8 berikut.

Tabel 8. Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap Diameter Tubulus

Kelompok Perlakuan	Diameter Tubulus			p value	
	n	Minimum	Maksimum		$\bar{x} \pm SD$
Ekstrak Dosis 250 mg/KgBB	5	370,30	461,52	$414,04 \pm 33,51$ b	0,002
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	47973	530,95	$502,34 \pm 20,91$ a	
Kontrol	5	393,97	463,24	$433,12 \pm 28,82$ c	

Keterangan: 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 8 di atas menunjukkan bahwa hasil uji statistik dengan menggunakan uji *one way anova* didapatkan nilai $p = 0,002$ dengan nilai alpha $0,05$ ($p < \alpha$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata diameter tubulus antar kelompok perlakuan. Hasil uji *posthoc tests* menggunakan Duncan didapatkan bahwa fraksi metanol air dengan dosis

300mg/kgBB/hari lebih efektif dalam meningkatkan diameter tubulus dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

PEMBAHASAN

1. 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.¹²

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.⁶ 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.¹³

2. Pengaruh 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 hasil uji statistik dengan menggunakan uji *one way anova* didapatkan nilai $p = 0,002$ dengan nilai $\alpha 0,05$ ($p < \alpha$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata diameter tubulus antar kelompok perlakuan. Dapat 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 miosis 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.¹⁴ Konsumsi buah kurma dapat dijadikan sebagai obat konvensional untuk meningkatkan fertilitas.¹⁵ 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).¹⁶ 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.¹⁷ Selain itu, ABP berfungsi juga dalam mengkonversi testosteron menjadi bentuk aktifnya yaitu dihidrotestosteron (DHT).

3. Pengaruh pemberian ekstrak dan fraksi metanol air buah kurma ajwa terhadap viabilitas spermatozoa

Langkah selanjutnya yaitu dilakukan uji ekstrak dan fraksi metanol air terhadap viabilitas spermatozoa. 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.¹⁸ 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.

Berdasarkan Tabel 6 diketahui bahwa hasil uji statistik dengan menggunakan uji *one way anova* didapatkan nilai $p = 0,000$ dengan nilai alpha $0,05$ ($p < \alpha$), yang berarti 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.¹⁹ 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.²⁰

4. Pengaruh pemberian fraksi buah kurma terhadap jumlah spermatozoa

Tabel 7 menunjukkan bahwa hasil uji statistik dengan menggunakan uji *one way anova* didapatkan nilai $p = 0,000$ dengan nilai alpha $0,05$ ($p < \alpha$), hal ini menunjukkan

bahwa terdapat perbedaan rerata jumlah spermatozoa antar kelompok perlakuan. Dapat disimpulkan bahwa 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.¹⁹ Pemberian pasak bumi dengan dosis 333 mg/mlBB diketahui dapat meningkatkan jumlah sperma.²¹ Jumlah spermatozoa yang diproduksi tergantung pada proses yang terjadi selama spermatogenesis.²² Beberapa penelitian mengenai kurma telah dilakukan untuk menguji ekstrak buah kurma secara oral yang diduga dapat meningkatkan jumlah sperma, motilitas,

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa terhadap Histologi Testis, Viabilitas Spermatozoa, dan jumlah sperma tikus jantan yang diberikan selama 35 hari secara oral, dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi buah

morfologi, dan kualitas DNA dengan seiring bertambahnya bobot testis dan epididmis, dan telah terbukti dapat meningkatkan konsentrasi testosteron serta membantu proses spermatogenesis pada marmut.⁷ Berdasarkan 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.⁵

kurma ajwa dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus, viabilitas spermatozoa, dan jumlah spermatozoa. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi metanol air yaitu senyawa flavanoid, Terpenoid, dan Alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hidayah, N. Identifikasi dan Pengelolaan Stres Infertilitas. *Humanitas*. 2007; 4 (1). doi: Prefix 10.26555
2. Muryanta, A., *Menyoal Infertilitas pada Pasangan Suami-Istri (Makalah)*. Kulonprogo: Penyuluh Keluarga Berencana (PKB). 2012.
3. Soenanto, H dan Kuncoro, S. Obat Tradisional. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo. 2009.
4. Ashafani, ED., Wiratmini, NI, Sukmaningsih, AASA. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) setelah Pemberian Ekstrak

- Temu Putih (*Cucurma zedoaria*). *Jurnal Biologi*. 2010; XI (1). ISSN: 1410 5292
5. Sailaja, L.L., dan Vasanthi, A. Histology Of Testes. *Journal of Dental and Medicinal Sciences (IOSR-JDMS)*. 2016; 15 (8). e-ISSN: 2279-0853, p-ISSN: 2279-0861
 6. Mansouri. A., Embarek, G., Kakalou, E., dan Kefales, P. Phenolic Profile and Antioxidant Acitivity Of The Algerian Ripe Date Palm Fruit. *Food Chemistry*. 2005; Vol 89 (3). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.051>
 7. Vyawahare, M., Pujari, R., Khsirsagar, A., Phoenix Dactylifera: An update of its indogenous uses, phytochemistry and pharmacology. *The Internet Journal of Pharmacology*. 2008; 7 (1), pp.1531-2976. Doi: 10.5580/164b
 8. Bahmanpour S, Talaei T, Vojdani Z, Panjehshahin MR, Poostpasand LA, Zareei S. Effect of Phoenix dactylifera pollen on sperm parameters and reproductive system of adult male rats. *Iranian Journal Of Medical Science*. 2016; 31(4), pp: 208-212. PMID: 25469129
 9. Krinke, G.J. *The Laboratory Rat*, CA: Academic Press. 2000.
 10. WHO. *Laboratory Manual For The Examination and Processing of Human Semen*. 5th ed. 2010.
 11. Lenny, S. Senyawa Flavanoid, Fenil Propanoida dan Alkaloida (Makalah). Fakultas Matematika dan Ilmu Alam. Universitas Sumatera Utara. 2006.
 12. Hanani, A. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC. 2014.
 13. Abdillah, M., Nazilah, N.R.K., dan Eva, A. Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Metanol Daging Buah Kurma Jenis Ajwa (*Phoenix dactylifera*). Prosiding Seminar Nasional III. Universitas Muhammadiyah Malang. 2017.
 14. Saryono, R.E., Haryanto., Hapsari., Hidayat. Antioxidant enzyme status on rat after date seeds (*Phoenix dactylifera*) steeping treatment. *Journal of Research in Medical Sciences*. 2016; 4(6). Doi: 10.18203/23206012.ijrms20161431
 15. Abdi, F., Nasibeh, R., Amir, M.M. Effects of date palm pollen on fertility: research proposal for a systematic review. *BMC Res Notes*. 2017; 10(363). Doi: 10.1186/s13104-017-2697-3.
 16. Keltenback, C.C., dan T.G. Dunn. *Endocrinology of Reproduction in Reproduction in Farm Animal*. Edited by E.S.E. Hafez. 4th Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. 1980.
 17. Bardin, CW., Cheng, CY., Musto, NE., dan Gunsalus. The Sertoli Cell. In: Knobil, E., And Neil, J (Eds). *The Physiology of Reproduction*. Raven press, Ltd. New York. 1988.
 18. Yatim, W. *Reproduksi*. Bandung: Penerbit Erlangga. 1990.
 19. Musfirah, Y. d. Potensi Ekstrak Etanol 70% Akar Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa blume*) terhadap Kualitas dan Viabilitas Sperma Mencit. *Pharmaciana*. 2016; ISSN: 2088 4559; e-ISSN: 2477 0256, 133. Doi: <http://dx.doi.org/10.12928/pharmaciana.v6i2.4037>

20. Indrayani Y, Muin M, Yoshimura T. Crude extracts of two different leaf plant species and their responses against subterranean termite *Coptotermes formosanus*. *Nusantara Bioscience*. 2016; 8 (2) : 226 – 231. Doi: <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n080215>
21. Luthfi, M., Noor, M.M., dan Latip, J. Kajian Tumbuhan Obat: Suatu Prospek dalam Pengembangan Agen Afrodisiak dan Kesuburan Laki-Laki. *Jurnal Kaunia*. 2008; Vol 4 (2)
22. Hartini. *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. 2011.