

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MENIRAN

TERHADAP KONSENTRASI SPERMA

Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar

yang diberi Formalin per Oral

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Aulia Syukur Hapsari

30101800033

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2022

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MENIRAN TERHADAP KONSENTRASI SPERMA

Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar yang Diberi Formalin per Oral

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Aulia Syukur Hapsari

30101800033

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 21 Januari 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Meidona Nurul Milla, MCE

NIK. 210106104

Penguji I



Dr. H. Israhnanto Isradji, M.Si

NIK. 210189027

Pembimbing II



dr. Anita Soraya Soetoko, M.Sc

NIK. 210111135

Penguji II



dr. Dian Ayu L., Sp.An

NIK. 210115178

Semarang,

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr.dr.H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

NIK. 210199049

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aulia Syukur Hapsari

NIM : 30101800033

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MENIRAN TERHADAP
KONSENTRASI SPERMA (Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar
yang Diberi Formalin per Oral)**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan Tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 10 Januari 2022
Yang menyatakan,



Aulia Syukur Hapsari

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala karunia rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Meniran terhadap Konsentrasi Sperma (Studi Eksperimental pada Tikus Galur Wistar yang diberi Formalin per Oral “. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Selesainya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Meidona Nurul Mila, M.CE dan dr. Anita Soraya Soetoko, M.Sc, selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Pembimbing II yang telah sabar dan meluangkan waktu serta tenaga untuk memberikan bimbingan, saran, arahan, dan dorongan sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai.
3. Dr. Israhanto Isradji, M.Si dan dr. Dian Ayu L.,Sp.An, selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran dalam perbaikan skripsi ini kepada penulis.
4. Ibu Dina Fatmawati S.Si., M.Sc yang telah membimbing dalam proses perlakuan sampel hewan coba.

5. Orang tua saya Bapak Dr. H. Sudar SH. M.Hum. dan Ibu dr. Kurniasih, Saudara saya Aliya Syukur Widyasari yang telah memberikan dukungan material, perhatian dan doa.
6. Teman-teman saya (Eka Puji Liashari, Happy Hapsari, Ghaitsa Hasnadia Anggoro, Alinda Ardelia, Samiranisa Deviki Isdanti, Ariel Gunawan, Mohammad Rayhan, Syafrie Sahrul Gibran, Dida Oktadivan, Rijal Adani) yang telah membantu saya dalam memberikan arahan dan dukungan dalam penulisan skripsi ini.
7. Mas Mardi yang telah membantu penulis dalam perawatan hewan dan terminasi penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan baik.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi civitas akademika sebagai sumbangan dunia ilmiah dan kedokteran serta bagi masyarakat.

Semarang, 18 Januari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Sperma	5
2.1.1. Definisi.....	5
2.1.2. Spermatogenesis.....	6
2.1.3. Faktor yang Mempengaruhi Spermatogenesis.....	7
2.1.4. Analisis Sperma	10
2.2. Formalin.....	12
2.2.1. Karakteristik Formalin	12
2.2.2. Metabolisme Formalin	13
2.2.3. Dampak dari Pemberian Formalin per Oral bagi Tubuh.....	14
2.3. Meniran	17
2.3.1. Secara Umum	17
2.3.2. Morfologi	18
2.3.3. Kandungan yang terdapat pada Meniran.....	19
2.3.4. Meniran sebagai Antioksidan.....	19
2.4. Pengaruh Meniran terhadap Konsentrasi Sperma yang Diberi Formalin per Oral	20

2.5.	Kerangka Teori	22
2.6.	Kerangka Konsep.....	22
2.7.	Hipotesis	22
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		23
3.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	23
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional.....	23
3.3.	Definisi Operasional	23
3.4.	Populasi dan Sampel.....	25
3.5.	Alat dan Bahan Penelitian.....	26
3.6.	Cara Penelitian	27
3.7.	Alur Penelitian	30
3.8.	Waktu dan Tempat Penelitian.....	31
3.9.	Analisis Hasil	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		32
4.1.	Hasil Penelitian	32
4.1.1.	Hasil Konsentrasi Sperma.....	32
4.1.2.	Analisis Bivariat.....	35
4.2.	Pembahasan.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		39
5.1.	Kesimpulan	39
5.2.	Saran	39
DAFTAR PUSTAKA		41
LAMPIRAN.....		45

DAFTAR SINGKATAN

ABP	: <i>Androgen Binding Protein</i>
ACGIH	: <i>American of Governmental Industrial Hygienists</i>
ACTH	: <i>Adrenocorticotropic Stimulating Hormone</i>
BPOM	: <i>Badan Pengawas Obat dan Makanan</i>
CMV	: <i>Cytomegalovirus</i>
CRH	: <i>Corticotropin Releasing Hormone</i>
DHEA	: <i>Dehydroepiandrosterone</i>
DF	: <i>Degree of Freedom</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FDH	: <i>Formaldehida Dehydrogenase</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
IAUI	: <i>Ikatan Ahli Urologi Indonesia</i>
IBL	: <i>Integrated Biomedical Laboratory</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
MMP	: <i>Matrix Metallopeptidase</i>
NOAEL	: <i>No Observed Adverse Effect Level</i>
ROS	: <i>Reactive Oxidation Species</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rerata konsentrasi sperma tiap kelompok penelitian.....	33
Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas	35
Tabel 4.3 Hasil Analisis One Way Anova Konsentrasi Sperma.....	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Spermatogenesis.....	6
Gambar 2.2 Spermiogenesis.....	7
Gambar 2.3. Meniran (<i>Phyllanthus niruri</i>)	19
Gambar 2.4. Kerangka teori	22
Gambar 2.5. Kerangka Konsep	22
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	30
Gambar 4.1. Grafik Diagram rerata konsentrasi sperma antar kelompok.....	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data konsentrasi sperma.....	45
Lampiran 2. Hasil Uji Normalitas dan Uji Homogenitas.....	46
Lampiran 3. Hasil Analisis One Way Anova.....	47
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian	48
Lampiran 5. Ethical Clearance	49
Lampiran 6. Surat Selesai Penelitian	50
Lampiran 7 Surat Pengantar Ujian Hasil Penelitian Skripsi	51



INTISARI

Formalin sering disalahgunakan sebagai bahan pengawet makanan. Paparan formalin terus menerus menyebabkan akumulasi *Reactive Oxidation Species*(ROS). Peningkatan ROS dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif seluler pada sel sperma. Stress oksidatif seluler pada sel sperma ditandai dengan penurunan konsentrasi sperma yang juga menjadi tanda dari kasus infertilitas pria. Kandungan flavonoid pada meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dapat berfungsi sebagai antioksidan yang menangkap ROS. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak meniran terhadap konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral.

Desain penelitian yang digunakan adalah desain penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only control group design* terhadap 24 tikus galur wistar yang terbagi menjadi 4 kelompok penelitian, yaitu kelompok kontrol, kelompok pemberian meniran 100 mg/kgBB dan formalin, kelompok pemberian meniran 200 mg/kgBB dan formalin, kelompok pemberian meniran 300 mg/kgBB dan formalin. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus 2021 di Laboratorium Hewan IBL FK Unissula.

Hasil penelitian pada uji ini menunjukkan rerata konsentrasi sperma pada kelompok kontrol (66.250.000 sel/ml), kelompok meniran dosis 100 mg/kgBB dan formalin (102.916.667 sel/ml), kelompok meniran dosis 200 mg/kgBB dan formalin (76.666.667 sel/ml), dan kelompok meniran dosis 300 mg/kgBB dan formalin (105.166.667 sel/ml). Hasil uji *One Way Anova* pada penelitian ini menunjukkan $p > 0.05$, sehingga hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian ekstrak meniran terhadap konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral.

Kata Kunci: Konsentrasi sperma, Meniran, Formalin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Formalin merupakan senyawa organik dengan pembakaran yang tidak sempurna (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008). Paparan formalin terus menerus pada manusia dapat menyebabkan akumulasi dari *Reactive Oxidation Species (ROS)*. Peningkatan ROS dapat meningkatkan terjadinya stress oksidatif pada sel yang selanjutnya dapat menyebabkan apoptosis pada sel, salah satunya adalah sel sperma. Peningkatan stress oksidatif pada sperma ditandai dengan penurunan konsentrasi sperma (Kose *et al.*, 2011; Wilbur *et al.*, 2002 ; Dhalila, 2017)). Penurunan konsentrasi sperma akibat stress oksidatif dapat dihambat dengan antioksidan baik antioksidan primer yang berasal dari dalam tubuh maupun antioksidan sekunder yang berasal dari bahan-bahan alami maupun buatan (Mandal *et.al.*, 2013). Meniran merupakan salah satu tanaman herbal yang didalamnya terkandung zat flavonoid sebagai antioksidan. Kandungan antioksidan pada meniran dapat digunakan sebagai proteksi terhadap kerusakan seluler yang disebabkan oleh stress oksidatif. Kapasitas antioksidan yang terkandung pada daun meniran dapat berkisar 1,65-1,80 mg/100g atau sebesar 80,3-87,3% (Atmadja dan Yuniarto, 2019; Silalahi, 2020).

Formalin sering disalahgunakan sebagai bahan pengawet makanan (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008). Laporan tahunan BPOM Nasional tahun 2019 menemukan 146 sampel produk pangan takjil berformalin dari 517 sampel yang tidak memenuhi syarat (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2019). Penyalahgunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan secara terus menerus dapat menyebabkan penurunan konsentrasi sperma (Kose *et al.*, 2011). Penurunan konsentrasi sperma merupakan salah satu penanda dari kondisi infertilitas pada pria. Kejadian infertilitas secara umum diperkirakan menyerang 48 juta pasangan dan 186 juta orang di dunia (WHO, 2020).

Peranan meniran sebagai antioksidan adalah dengan menangkap radikal bebas yang beredar. Ekstrak meniran terbukti dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit (Warsito, *et al.*, 2005). Ekstrak meniran dapat meningkatkan sekresi dari hormone testosterone (Sukmanadi, *et al.*, 2007). Ekstrak meniran dapat menurunkan sekresi MMP 9 dan secara tidak langsung dapat menurunkan terjadinya stress oksidatif pada kasus endometriosis (Kumalasari, 2018). Ekstrak meniran juga secara signifikan dapat mencegah terjadinya atrofi testis akibat stress oksidatif (Ardiansyah, 2019). Belum ada penelitian secara khusus tentang pengaruh ekstrak meniran terhadap konsentrasi sperma tikus yang dipapar formalin per oral.

Peneliti merasa perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L*) terhadap konsentrasi sperma pada tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi formalin per oral.

1.2. Rumusan Masalah

“Apakah Pemberian Ekstrak Meniran Berpengaruh terhadap Konsentrasi Sperma yang diberi Formalin per Oral?”

1.3. Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum :

1. Mengetahui pengaruh protektif ekstrak meniran terhadap konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral.

b. Tujuan Khusus :

1. Mengetahui rerata konsentrasi sperma tikus yang hanya diberi formalin per oral.
2. Mengetahui rerata konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral dan meniran dosis 100 mg/kgBB.
3. Mengetahui rerata konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral dan meniran dosis 200 mg/kgBB.
4. Mengetahui rerata konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral dan meniran dosis 300 mg/kgBB.
5. Mengetahui kelompok mana saja yang memiliki konsentrasi sperma yang berbeda pada berbagai kelompok perlakuan.

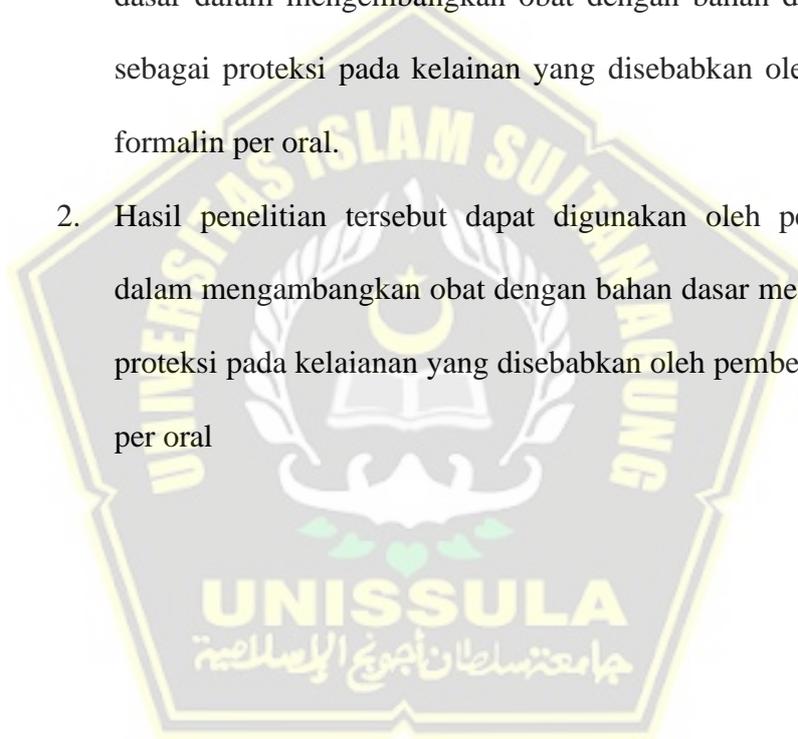
1.4. Manfaat Penelitian

a. Manfaat Teoritis:

Hasil penelitian tersebut dapat digunakan sebagai referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya yang membahas mengenai pengaruh meniran dan formalin pada konsentrasi spermatozoa.

b. Manfaat Praktis :

1. Hasil penelitian tersebut dapat digunakan oleh peneliti sebagai dasar dalam mengembangkan obat dengan bahan dasar meniran sebagai proteksi pada kelainan yang disebabkan oleh pemberian formalin per oral.
2. Hasil penelitian tersebut dapat digunakan oleh penyedia obat dalam mengembangkan obat dengan bahan dasar meniran sebagai proteksi pada kelaianan yang disebabkan oleh pemberian formalin per oral



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

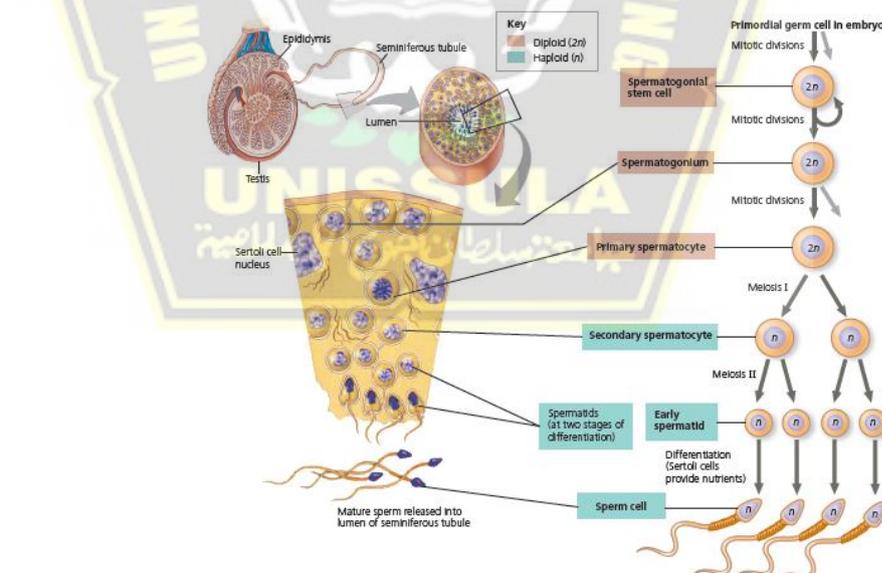
2.1. Sperma

2.1.1. Definisi

Sperma merupakan sel matang yang diproduksi dari testis dan terdiri dari beberapa sel germinal (Dorland, 1981). Sperma merupakan hasil diferensiasi dari spermatid yang terdiri atas kepala, leher dan ekor (*midpiece*). Kepala sperma berisi nukleus yang didalamnya terdapat informasi genetik sperma. Bentuk kepala sperma manusia normal adalah oval dengan panjang kepala sebesar 4-5.5 μm dan lebar 2.5 – 3.5 μm . Pada ujung kepala terdapat suatu modifikasi lisosom yang dibentuk oleh agregasi dari vesikel-vesikel yang dihasilkan badan golgi yang berisi enzim disebut akrosom. Bagian leher (*midpiece*) berisi mitokondria yang akan menghasilkan energi untuk pergerakan dari ekor sperma. Ekor sperma atau yang disebut flagel merupakan bagian yang berfungsi dalam pergerakan sperma (Sherwood, 2015).

2.1.2. Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses pembentukan sperma yang terjadi di tubulus seminiferus. Bermula dari sel induk penghasil sperma yang berasal dari pembelahan dan diferensiasi sel germinal primordial. Sel induk penghasil sperma akan membelah secara mitosis membentuk spermatogonia. Spermatogonia yang menembus sawar sel sertoli akan membelah secara mitosis menjadi spermatosit primer yang selanjutnya akan membelah kembali secara meiosis menjadi 2 spermatosit sekunder. Masing-masing spermatosit sekunder akan membelah menjadi empat spermatid dengan cara meiosis. Pembelahan meiosis juga berperan mengurangi kromosom yang semula diploid ($2n$) menjadi haploid (n).



Gambar 2 1 Spermatogenesis

Sumber : (Urry dan Cain, 2016)

Spermiogenesis merupakan tahapan dimana terjadi perubahan dari spermatid menjadi spermatozoa. Pada spermiogenesis terjadi pembentukan akrosom dan pemanjangan dari inti sperma. Tahapan spermiogenesis akan menghasilkan spermatozoa matang (Junqueira dan Mescher, 2013). Keempat spermatid akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa di lipatan-lipatan sitoplasma yang berada pada sel sertoli. Dari sel Sertoli spermatozoa akan dilepaskan menuju lumen tubulus (Ganong *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Spermiogenesis

Sumber : (Junqueira dan Mescher, 2013)

2.1.3. Faktor yang Mempengaruhi Spermatogenesis

2.1.3.1. Hormon

Hormon dapat memegang peranan penting dalam proses spermatogenesis dan spermiogenesis. Kontrol hormon reproduksi seperti GnRH (FSH dan LH) serta Testosteron dapat mempengaruhi kualitas sperma. FSH akan merangsang sel sertoli untuk menghasilkan *Androgen Binding Protein (ABP)* (Junqueira dan Mescher, 2013). Sedangkan LH akan

merangsang sel leydig untuk menghasilkan hormon testosteron yang nantinya setelah berdifusi di dalam tubulus seminiferus akan menimbulkan efek tropik yang kuat terhadap spermatogenesis (Qotrunnada *et al.*, 2018).

Hormon testosteron yang diproduksi oleh sel leydig akan berperan dalam pembelahan sel-sel germinal testis. Estrogen yang dihasilkan dari hormon testosteron berperan saat tahapan spermatogenesis. Hormon pertumbuhan dapat berperan terhadap metabolisme testis dan juga meningkatkan pembelahan awal dari spermatogonia (Guyton dan Hall, 2015).

2.1.3.2. Faktor Psikis

Kondisi psikis seseorang dapat mempengaruhi respons sistem *Corticotropic Releasing Hormone (CRH)* – *Adrenocorticotrophic Stimulating Hormone (ACTH)* – Kortisol. Stressor akan meningkatkan respon dari system CRH-ACTH – Kortisol. Peningkatan CRH dan ACTH juga dapat meningkatkan produksi *Dehidroepidanrosterone (DHEA)*. Peningkatan produksi DHEA dapat menghambat *Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH)*. Sehingga factor psikis juga dapat mempengaruhi kualitas dari sperma (Sherwood, 2015).

2.1.3.3. Suhu Testis

Suhu berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. Cavum scroti sebagai ruang yang berisi testis akan mempertahankan suhu sekitar 2 °C di bawah suhu tubuh. Suhu testis yang terlalu tinggi dalam cavum skrotum dapat menyebabkan penurunan fungsi dari sel-sel dalam tubulus seminiferus (Guyton dan Hall, 2015). Pengaturan suhu testis melalui mekanisme refleksi otot-otot skrotum. Kantung skrotum akan terangkat dan terjadi kontraksi otot-otot skrotum saat terpapar suhu dingin agar testis lebih dekat dengan abdomen yang hangat (Sherwood, 2015).

2.1.3.4. Obat-obatan

Obat-obatan juga dapat berpengaruh dalam proses spermatogenesis. Salah satu obat untuk infeksi *Cytomegalovirus (CMV)* yaitu *Sidofovir* memiliki efek samping gonadotoksik yang dapat menyerang sel-sel spermatogenik sehingga menghambat proses spermatogenik. Obat-obat antidanrogen dan supresi danrogen yang dapat menurunkan hormon danrogen pria juga dapat menurunkan sel-sel spermatogenik (Katzung *et al.*, 2012).

2.1.3.5. Paparan Zat Kimia

Pajanan polutan udara seperti timbal dan merkuri dapat mengakibatkan penurunan jumlah sperma (Yulinawati *et al.*,

2019). Paparan formalin juga dapat menurunkan fungsi reproduksi pria (Dhalila, 2017). Zat-zat tersebut dipercaya dapat meningkatkan pembentukan *Reactive Oxidation Species (ROS)* dalam organ reproduksi pria sehingga dapat mempengaruhi konsentrasi sperma.

2.1.4. Analisis Sperma

Analisis sperma adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk menilai kualitas dan konsentrasi sperma. Ada 2 macam pemeriksaan yang termasuk dalam analisis sperma yaitu pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis mencakup warna, viskositas, volume dan pH. Pemeriksaan mikroskopis mencakup motilitas sperma, viabilitas sperma, morfologi sperma, dan konsentrasi spermatozoa (WHO, 2010).

2.1.4.1. Konsentrasi Sperma

Konsentrasi sperma merupakan jumlah spermatozoa per unit volume semen. Konsentrasi sperma berbeda dengan jumlah total spermatozoa yang berarti jumlah total spermatozoa di seluruh ejakulasi. Jumlah total spermatozoa didapat dari mengalikan konsentrasi sperma dengan volume semen. Konsentrasi sperma dapat dihitung menggunakan bantuan bilik hitung (*The Improved Neubauer Haemocytometer*) menggunakan reagen larutan *George* dan

membuat preparat basah. Batas bawah pemeriksaan konsentrasi sperma pada manusia adalah 15×10^6 spermatozoa/ ml (WHO, 2010).

2.1.4.2. Motilitas Sperma

Motilitas sperma merupakan penilaian terhadap pergerakan dari sperma. Penilaian pergerakan sperma dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu motilitas progresif (PR), motilitas non progresif (NP) dan immotil (I) (WHO, 2010).

Motilitas progresif (PR) merupakan pergerakan spermatozoa yang aktif, bergerak lurus (linear), atau bergerak berputar dengan membentuk suatu lingkaran besar. Motilitas non progresif (NP) merupakan pergerakan spermatozoa yang kurang aktif atau tanpa terlihat progresivitas, sperma bergerak berputar dalam suatu lingkaran yang kecil dan juga gerakannya tidak menuju kearah kepala namun berjalan mundur. Immotil (I) adalah tidak adanya pergerakan dari sperma. Presentase batas bawah penilaian total motilitas pada manusia (PR+NP) sebesar 40 %, sedangkan presentase batas bawah dari motilitas progresif pada manusia sebesar 32% (WHO, 2010).

2.1.4.3. Viabilitas Sperma

Viabilitas sperma merupakan penilaian terhadap jumlah sperma yang masih hidup. Penurunan dari viabilitas sperma

dapat mengindikasikan adanya abnormalitas fungsi testis. Sperma dikatakan masih hidup apabila integritas membran masih utuh, sehingga saat diberi cat eosin tidak berubah warna menjadi merah. Sebaliknya sperma yang mati apabila di beri warna akan dapat menyerap zat warna tersebut dan dapat berubah warna menjadi merah (WHO, 2010).

2.1.4.4. Morfologi Sperma

Morfologi sperma adalah pemeriksaan untuk menilai keutuhan bentuk dari sperma. Sperma yang normal akan memiliki kepala, leher dan ekor yang berbentuk normal, ukuran proporsional, dan berbentuk lurus. Abnormalitas pada sperma dapat terjadi karena adanya defek pada kepala, ekor, maupun pada leher (WHO, 2010).

2.2. Formalin

Formalin merupakan senyawa kimia organik yang memiliki struktur CH_2O . Senyawa ini dihasilkan dari pembakaran tidak sempurna beberapa zat organik (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008).

2.2.1. Karakteristik Formalin

- a. Formalin merupakan larutan formaldehid 37% dalam air.
- b. Formalin tidak berwarna, sedikit asam dengan bau yang menusuk.
- c. Formalin akan terurai apabila dipanaskan karena akan melepaskan asam format.

- d. Formalin merupakan salah satu senyawa kimia yang menjadi reduktor kuat.
- e. Formalin akan membentuk senyawa bisklorometil eter apabila bereaksi dengan asam klorida.
- f. Titik didih formalin pada suhu 101°C , sedangkan titik beku formalin pada suhu -117°C .
- g. pH formalin berkisar antara 2,8-4,0.
- h. Apabila bereaksi dengan nitrogen oksida, asam performat dan peroksida bisa menyebabkan ledakan.

(Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008)

2.2.2. Metabolisme Formalin

Metabolisme formalin menjadi asam format berlangsung pada hati. Reaksi tersebut dikatalisasi oleh enzim *formaldehida dehydrogenase (FDH)*. Enzim *formaldehida dehydrogenase* membutuhkan *co factor glutathione*. Metabolisme formalin menjadi asam format dapat menurunkan kadar *glutathione* darah. Penurunan kadar *glutathione* yang juga sebagai antioksidan primer ini akan meningkatkan toksisitas formalin. Asam format dimetabolisme secara lambat dan lebih lambat daripada metabolisme formalin. Perbedaan waktu antara metabolisme formalin dan asam format dapat menyebabkan akumulasi asam format di darah dan beredar ke seluruh tubuh menuju ke sel-sel di dalam tubuh. Formalin yang beredar di dalam sel dapat

menghambat respirasi seluler dan dapat memicu hipoksia hitotoksik. Formalin normalnya dapat disekresikan melalui urin dan dioksidasi menjadi karbondioksida dan keluar melalui paru-paru (Toriqoh, 2020).

2.2.3. Dampak dari Pemberian Formalin per Oral bagi Tubuh

Formalin yang digunakan sebagai pengawet makanan menyebabkan kerusakan bagi tubuh. Senyawa formaldehid dapat bersifat karsinogen dan sangat reaktif. Menurut *American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)* formalin dapat menyebabkan kanker pada manusia (Kelas A2) (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008). Formalin dapat memproduksi senyawa radikal bebas dan *senyawa Reactive Oxidation Species (ROS)*. Produksi senyawa radikal bebas dapat meningkatkan terjadinya stress oksidasi pada sel yang nantinya dapat mengganggu proses pembentukan pada sel dan berakibat terjadinya apoptosis pada sel (Mahdi, 2010).

2.2.3.1. Dampak Formalin pada Sistem Pernapasan

Dalam sistem pernapasan paparan dari formalin dapat merusak jaringan pada saluran pernapasan dan dapat menyebabkan penyakit bronkitis, bronkiolitis dan pneumonitis. Selain itu dampak paparan formalin pada sistem pernapasan juga dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas

seperti asma bronkitis dan edema laring (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008).

2.2.3.2. Dampak Formalin pada Sistem Pencernaan

Dalam sistem pencernaan, formalin dapat menyebabkan iritasi saluran pencernaan. Selain itu gejala yang muncul bisa berupa mual, muntah, sakit pada perut, rasa terbakar pada tenggorokan dan penurunan suhu badan (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008).

Formalin dapat menimbulkan jejas pada duodenum. Jejas duodenum akibat formalin dapat menyebabkan perubahan struktur sel berupa hipertrofi, atrofi, displasia dan metaplasia. Perubahan struktur sel duodenum dapat menyebabkan peradangan pada duodenum yang disebut duodenitis (Wahab, *et al.*, 2012).

2.2.3.3. Dampak Formalin pada Hepar

Formalin dapat menurunkan aktivitas enzim superoksida dismutase dan kadar *glutathione* (GSH) pada hepar. Penurunan kadar *glutathione* (GSH) mandanakan adanya penurunan aktivitas antioksidan primer pada hepar. Penurunan aktivitas antioksidan menyebabkan terjadinya kerusakan pada jaringan hepar (Mahdi, 2010).

Formalin yang dimetabolisme di hepar dapat menghasilkan metabolit toksik yang dapat merusak hepar.

Hasil metabolisme formalin pada hepar berupa asam format yang berlebihan akan menghambat enzim sitokrom oksidase yang terdapat pada terminal mitokondria. Terganggunya enzim sitokrom oksidase dapat mengganggu proses transport elektron pada mitokondria (Pramono, *et al.*, 2012).

2.2.3.4. Dampak Formalin pada Ginjal

Formalin dapat menyebabkan perubahan pada gambaran histopatologis ginjal. Perubahan histopatologis ginjal didukung dengan perubahan fisiologis ginjal, serta penurunan berat badan dan organ ginjal. Toksisitas formalin dapat menyebabkan cedera pada tubulus proksimal yang nantinya dapat menyebabkan nekrosis dari tubulus ginjal (Wibowo, *et al.*, 2012).

2.2.3.5. Dampak Formalin pada Psikologis

Paparan formalin per oral bersifat neurotoksik dan dapat menyebabkan kerusakan pada sel piramidal hipokampus. Paparan formalin secara terus menerus dapat memberikan gangguan neurobehavioral hingga dapat menyebabkan gangguan mental dan memori (Wilson, *et al.*, 2019).

2.2.3.6. Dampak Formalin terhadap Sistem Reproduksi

Peningkatan ROS dan kadar radikal bebas berpengaruh pada sel leydig. Fungsi sel leydig sebagai penghasil hormon testosteron juga terganggu. Adanya formalin ini dapat

menurunkan jumlah sel leydig, menghambat stroidegenik dan menurunkan berat testis (Dhalila, 2017).

Peningkatan radikal bebas dalam tubuh dan penurunan enzim antioksidan dalam tubuh yang disebabkan oleh paparan formalin mengakibatkan kerusakan sel spermatogenik baik secara langsung maupun tidak langsung. Peningkatan *Reactive Oxidation Species (ROS)* akan merusak sel termasuk protein DNA yang dapat menyebabkan reaksi silang (*crosslink*) protein DNA. Reaksi silang protein DNA dapat mengganggu kemampuan pembelahan dari sel spermatogenik. Ketidakmampuan sel spermatogenik untuk membelah akan memicu aktivasi apoptosis sel sehingga terjadi penurunan jumlah sel spermatogenik (Dhalila, 2017).

Formalin juga berpengaruh terhadap sistem reproduksi wanita. Formalin dapat mempengaruhi pengeluaran hormone progesteron dan hormon estrogen, sehingga menghambat terjadinya konsepsi (Restuati dan Hardiyanti, 2017).

2.3. Meniran

2.3.1. Secara Umum

Meniran yang dalam bahasa latin disebut *Phyllanthus niruri L* merupakan salah satu tanaman obat tradisional. Meniran memiliki banyak khasiat, salah satunya sebagai antioksidan (Atmadja dan Yunianto, 2019).

Habitat tumbuhan ini pada tanah yang lembab dan berbatu. Budidaya tanaman meniran ini di Indonesia belum terlalu banyak, karena iklim tropisnya yang menyebabkan Indonesia disinari matahari sepanjang tahun (Kemenkes RI, 2012).

2.3.2. Morfologi

Meniran merupakan tanaman obat tradisional yang memiliki taksonomi tumbuhan sebagai berikut.

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Phyllanthus
Spesies	: Niruri L. (BPOM RI, 2008).

Meniran juga memiliki banyak nama lain pada beberapa daerah, yaitu memeniran (Sunda), Uru Hdanalai (Dayak Ngaju), Meniran Hijau (Indonesia), *Small gooseberry* (Inggris), dan *Stonebreaker* (Inggris) (Kemenkes RI, 2012; Ervina dan Mulyono, 2019).

Meniran merupakan tanaman yang tumbuhnya tegak dengan tinggi bisa mencapai 0,8 m. Warna tanaman hijau pucat serta cabang yang letaknya tersebar. Daun tunggal dengan helaian daun yang berbentuk lonjong sampai elip pendek, pangkal daunnya

membulat serta ujung daunnya bisa berupa tumpul, runcing atau membulat (Kemenkes RI, 2012).



Gambar 2. 3. Meniran (*Phyllanthus niruri*)

Sumber : (Kemenkes RI, 2012)

2.3.3. Kandungan yang terdapat pada Meniran

Seluruh bagian tumbuhan meniran bisa dimanfaatkan sebagai obat. Minyak dari biji meniran mengandung asam lemak. Daun dan akar mengandung senyawa flavonoid dan lignan. Kandungan senyawa lain yang juga terdapat pada meniran yaitu kalium, damar, tannin, nirantin, nirurin, filantenol, filtninurin, filtetrin, nirtetralin, norsekurinin, dan filanteol (Kemenkes RI, 2012). Kandungan meniran lainnya yaitu alkaloid, steroid, fenolik, saponin, tanin dan flavonoid (Ervina dan Mulyono, 2019).

2.3.4. Meniran sebagai Antioksidan

Flavonoid pada meniran dapat berfungsi sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan kandungan utama dari meniran yang dapat

menghambat kinerja dari enzim superoksidase (Kemenkes RI, 2012). Salah satu golongan flavonoid yaitu quercetin berfungsi sebagai antiradikal yang dapat menangkap radikal bebas sehingga dapat menghentikan akibat dari penumpukan radikal bebas yaitu merusak sel, meningkatkan mutase sel, apoptosis sel dan memutase DNA pada sel. Quercetin juga dapat melawan proses oksidasi yang terjadi akibat metabolisme tubuh seiring pertambahan usia (Ervina dan Mulyono, 2019).

Pemberian ekstrak meniran dapat menghambat reduksi *glutathione* pada mukosa lambung akibat pemberian ethanol. Aktivitas penghambatan reduksi *glutathione* dapat berlangsung hingga 42% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol pada jam ke-3 dan terus meningkat hingga jam ke 8 (Silalahi, 2020).

2.4. Pengaruh Meniran terhadap Konsentrasi Sperma yang Diberi Formalin per Oral

Meniran memiliki kandungan flavonoid yang dapat bermanfaat sebagai antioksidan. Kandungan flavonoid pada meniran dipercaya dapat menghambat enzim superoksidase sehingga dapat menurunkan penumpukan dari *Reactive Oxidation Species* (ROS) (Kemenkes RI, 2012).

Paparan formalin per oral akan dimetabolisme dihepar dan akan menghasilkan asam format. Proses metabolisme tersebut akan dikatalisis oleh enzim *formaldehida dehydrogenase* (FDH). Enzim

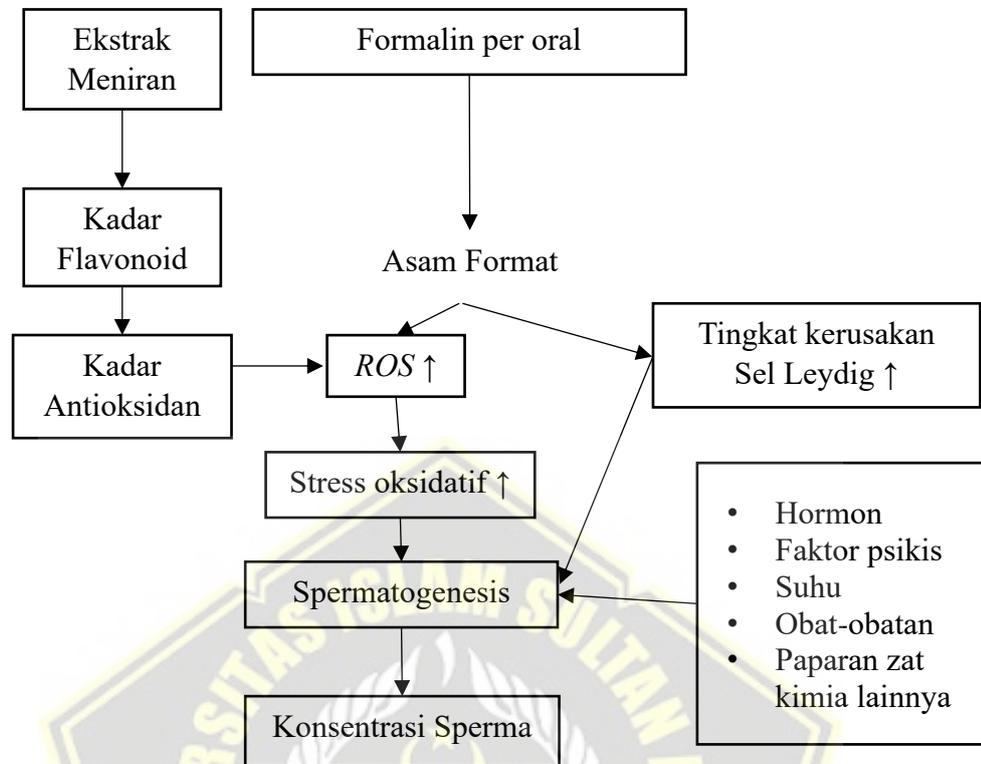
formaldehida dehydrogenase (FDH) ini membutuhkan *co factor glutathione*. *Glutathione* dapat menjadi salah satu komponen yang berfungsi sebagai antioksidan. Karena peningkatan enzim FDH ini dapat menyebabkan penurunan kadar *glutathione*. Hal tersebutlah yang menyebabkan fungsi antioksidan dalam tubuh berkurang. Selain itu formalin yang berlebihan dapat menghasilkan *Reactive Oxidation Species* (ROS) dan kadar radikal bebas (Pramono *et al.*, 2012).

Asam format hasil metabolisme formalin dapat beredar ke seluruh tubuh melalui darah. Salah satunya dapat menuju ke sistem reproduksi manusia. Pada pria hasil metabolisme formalin tersebut dapat menyerang testis dan organ reproduksi pria lainnya. Di testis asam format dapat menyebabkan jejas pada sel leydig dan diduga dapat juga menyerang sel spermatogenik baik secara langsung maupun tidak langsung (Dhalila, 2017).

Untuk menilai kerusakan dari sel spermatogenik, dilakukan pemeriksaan sperma. Salah satu indikator dari pemeriksaan sperma adalah konsentrasi sperma (WHO, 2010).

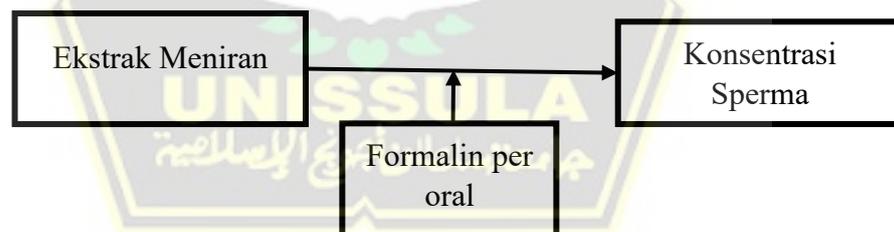
Pemberian ekstrak meniran sebagai antioksidan dapat menjadi proteksi bagi sel sperma dari kerusakan yang dapat disebabkan oleh formalin sehingga tidak terdapat penurunan konsentrasi sperma yang berarti.

2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.4. Kerangka teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Terdapat pengaruh protektif ekstrak meniran terhadap konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan desain penelitian eksperimental dan menggunakan rancangan penelitian *post test only control group design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak meniran.

3.2.2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah konsentrasi sperma.

3.2.3. Variabel prakondisi dalam penelitian ini adalah formalin per oral.

3.3. Definisi Operasional

3.3.1. Ekstrak Meniran

Ekstrak meniran merupakan hasil ekstraksi daun meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang terbagi menjadi 3 dosis ekstrak meniran yaitu 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Ekstrak meniran diberikan pada kelompok perlakuan dengan menggunakan sonde oral 3 jam sebelum diberi formalin per oral. Ekstrak meniran secara signifikan dapat menghambat penurunan glutathione pada jam ke 3 perlakuan (Raphael dan Kuttan, 2003; Silalahi, 2020).

Aktivitas antioksidan pada ekstrak meniran paling efektif pada dosis 200 mg/kgBB (Da'i *et al.*, 2016). Dosis efektif meniran mendasari pembagian kelompok perlakuan. Terdapat 4 kelompok perlakuan yang berbeda, yaitu :

1. Tanpa ekstrak meniran
2. Ekstrak meniran 100 mg/kgBB
3. Ekstrak meniran 200 mg/kgBB
4. Ekstrak meniran 300 mg/kgBB

Skala data yang digunakan dalam ekstrak meniran ini berupa skala data kategorik (ordinal) dengan satuan mg/kgBB.

3.3.2. Konsentrasi sperma

Konsentrasi sperma adalah jumlah spermatozoa per ml semen yang diambil dari epididymis. Data konsentrasi sperma diperoleh dari menghitung jumlah sel spermatozoa pada bilik hitung *Neubauer Improved* kemudian dikalikan dengan factor pengenceran (WHO, 2010).

Skala data yang digunakan pada variabel ini adalah skala data rasio (numerik) yang dinyatakan dalam satuan sel/ml

3.3.3. Formalin per oral

Pemberian formalin peroral dengan dosis 100 mg/kgBB pada seluruh kelompok penelitian. *LD-50* formalin pada tikus sebesar 100 mg/kg BB dan *No Observed Adverse Effect Level (NOAEL)* formalin pada sistem reproduksi tikus sebesar 100 mg/kgBB

(Wilbur et al., 2002; Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2008). Pemberian formalin per oral menggunakan sonde. Jumlah pemberian sebesar 1 cc/ekor.

Skala data yang digunakan pada variabel ini adalah skala data numerik yang dinyatakan dalam satuan mg/kgBB.

3.4. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tikus galur wistar yang terdapat di laboratorium hewan FK Unissula.

Kriteria inklusi penelitian ini adalah sebagai berikut

- Tikus galur wistar jantan.
- Umur 7-8 minggu.
- Bergerak aktif dan berat badan 200-300 gram.

Kriteria eksklusi penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Tikus sakit selama masa adaptasi
- Tikus mati selama masa adaptasi

Kriteria Dropout penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Tikus sakit selama penelitian
- Tikus mati selama penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Besar sampel ditentukan dengan pendekatan Resource Equation. Rentang besaran sampel menggunakan rentang Degrees of Freedom (DF) yaitu sebesar 10-20 (Ardiansyah, 2019).

$$DF = N - k = kn - k = k(n - 1)$$

$$n = \frac{DF}{k} + 1 = \frac{10}{4} + 1 = 2,5 + 1 = 3,5 \sim 4$$

Jumlah subjek penelitian setiap kelompok minimum 4 sampel.

$$DF = N - k = kn - k = k(n - 1)$$

$$n = \frac{DF}{k} + 1 = \frac{20}{4} + 1 = 5 + 1 = 6$$

Jumlah subjek penelitian setiap kelompok maksimum 6 sampel.

Dari hasil penghitungan di atas dibutuhkan 4-6 ekor untuk setiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini banyaknya sampel yang diambil peneliti adalah 6 ekor per kelompok penelitian. Total jumlah sampel penelitian sebanyak 24 ekor tikus.

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah simple random sampling dan diambil untuk masing-masing kelompok sebanyak 6 ekor tikus.

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat

- i. Kandang tikus
- ii. Sonde oral
- iii. Spuit 1 cc
- iv. Timbangan digital
- v. Alat bedah
- vi. Object glass
- vii. Deck glass
- viii. Neubauer Improved Haemocytometer

- ix. Mikroskop cahaya
- x. Rotary Evaporator
- xi. Blender
- xii. Kertas saring
- xiii. Piknometer
- xiv. Beaker glass
- xv. Hdanscoen
- xvi. Minor set untuk pembedahan
- xvii. Jarum pentul
- xviii. Cawan petri untuk tempat sperma setelah diambil

3.5.2. Bahan

- i. Ekstrak daun meniran
- ii. Makanan dan minuman tikus
- iii. Larutan *George*
- iv. *Akuades*
- v. *Etanol*

3.6. Cara Penelitian

Sampel penelitian menjalani adaptasi di Gedung *Integrated Biomedical Laboratory* FK Unissula selama 1 minggu. Pada masa adaptasi masing-masing ekor diberikan makan 1 kali sehari pada pagi hari dan disediakan air minum berupa akuades dalam botol agar tikus dapat menghisap air minum.

Metode ekstraksi yang digunakan ialah metode maserasi dalam etanol 96%. Proses maserasi dalam ekstraksi daun meniran ini selama 3x 24 jam. Ekstraksi meniran didapatkan dengan mengeringkan daun meniran yang segar pada suhu 40°C . Daun yang sudah dikeringkan direndam ke dalam erlenmeyer bersama dengan ethanol 96% selama 3x 24 jam. Hasil ekstraksi didapatkan setelah menguapkan filtrat daun meniran dengan menggunakan rotary evaporator (Fitri, 2017). Hasil ekstrak daun meniran yang digunakan adalah ekstrak kental. Pembuatan konsentrasi ekstrak meniran dengan cara mensuspensikan ekstrak meniran ke dalam larutan aquades sesuai dengan dosis perlakuan. Dosis perlakuan ditentukan dengan penghitungan massa jenis ekstrak meniran dan membandingkan dengan bobot tikus. Massa jenis ekstrak didapatkan dari hasil pengukuran dengan piknometer (Martinus dan Rivai, 2015).

Peneliti membagi 24 ekor tikus galur wistar menjadi empat kelompok perlakuan. Pada masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. Kelompok I (P₀) merupakan kelompok kontrol yaitu hanya diberi perlakuan sonde oral formalin dengan dosis 100 mg/kgBB. Pada kelompok II diberi perlakuan sonde oral meniran dengan dosis 100 mg/kgBB dan juga formalin dengan dosis 100 mg/kgBB. Pada kelompok III diberi perlakuan sonde oral meniran 200 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB. Pada kelompok IV diberi perlakuan sonde oral meniran 300 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB. Durasi waktu

perlakuan berjalan selama 15 hari. Siklus spermatogenesis pada tikus galur wistar terjadi setiap 12 hari (Johnson dan Everitt, 2000; Solihati *et al.*, 2013)

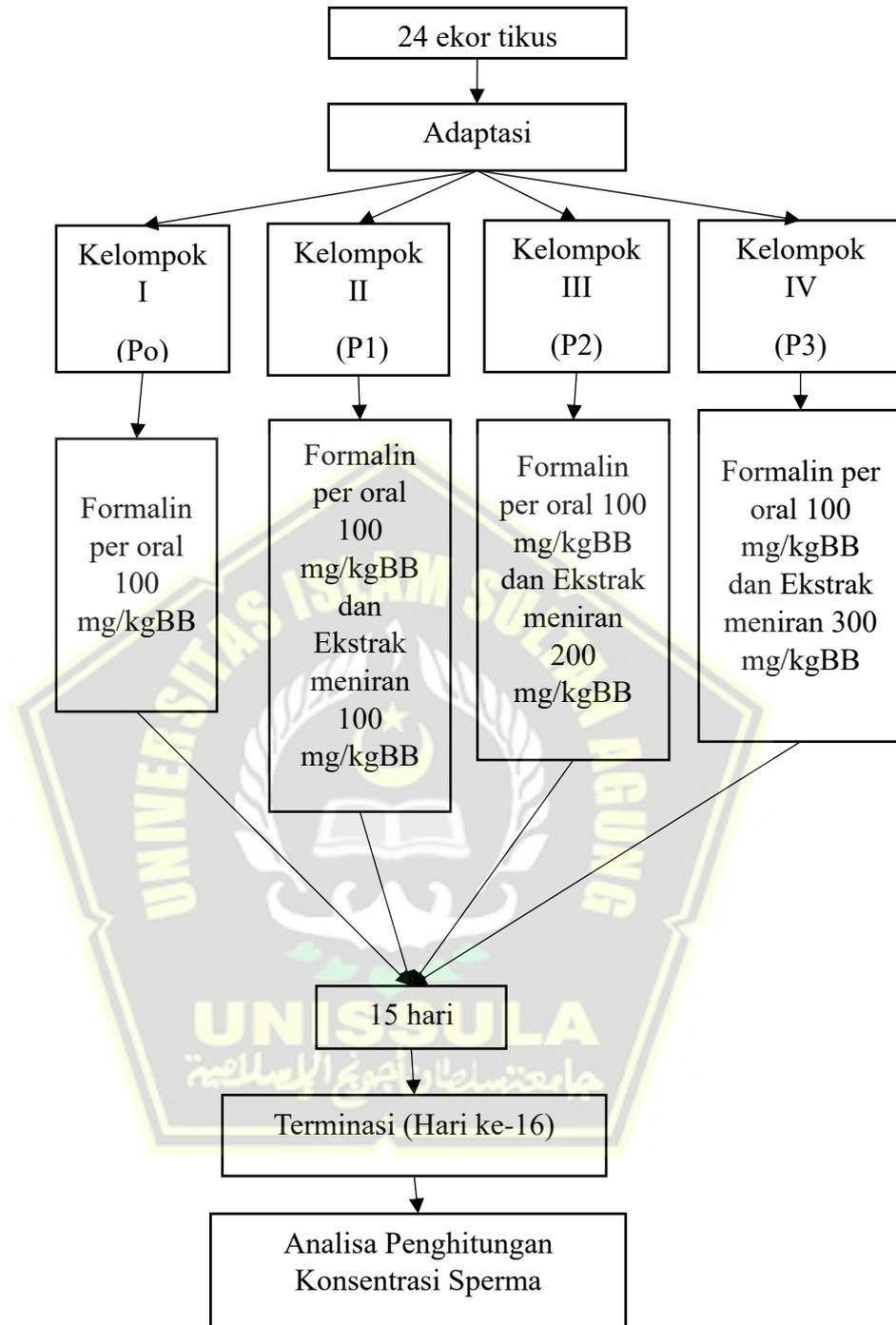
Pada hari ke-16 peneliti melakukan terminasi dengan menggunakan dislokasi leher dan mengambil data konsentrasi sperma pada ke empat kelompok. Pengambilan data dengan menggunakan bantuan mikroskop cahaya dan bilik hitung untuk mengukur konsentrasi sperma. Preparat konsentrasi sperma dapat diambil dengan menggunakan sperma pada epididymis tikus yang diencerkan dengan pengenceran 10 :100. Hasil pengenceran dicampur dengan larutan George. Penghitungan konsentrasi sperma dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Spermatozoa} = \frac{n \times p}{V}$$

Keterangan :

1. n = jumlah sperma
2. p = faktor pengenceran
3. V = volume

3.7. Alur Penelitian



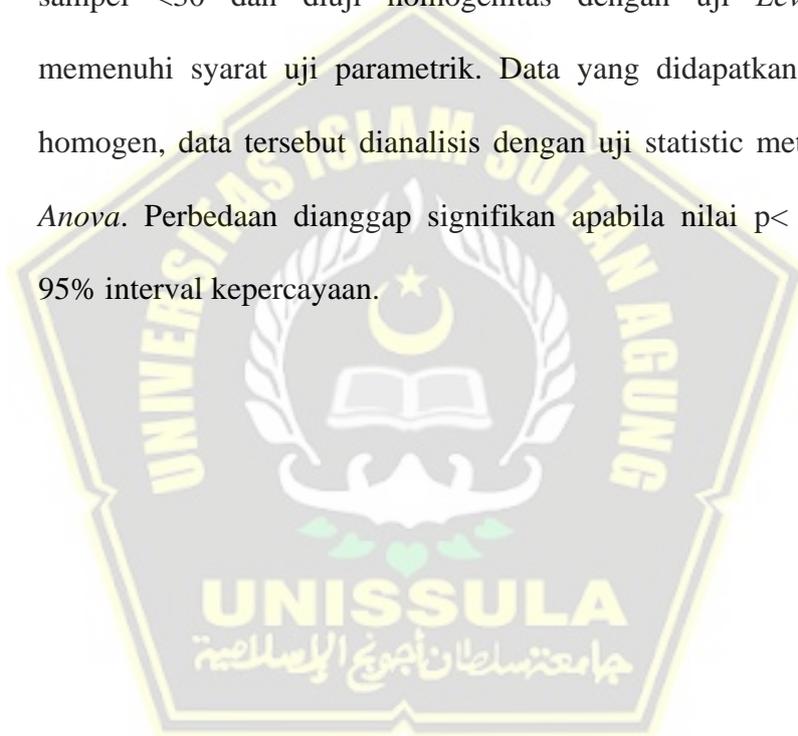
Gambar 3..1. Alur Penelitian

3.8. Waktu dan Tempat Penelitian

Tempat dilaksanakan penelitian ini adalah Laboratorium Hewan Gedung *Integrated Biomedical Laboratory* FK Unissula. Waktu penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Juli-Agustus 2021.

3.9. Analisis Hasil

Hasil yang didapatkan dianalisa menggunakan *software* SPSS versi 25. Data akan diuji normalitas dengan uji Saphiro-Wilks karena sampel <30 dan diuji homogenitas dengan uji *Levene's* untuk memenuhi syarat uji parametrik. Data yang didapatkan normal dan homogen, data tersebut dianalisis dengan uji statistic metode *Oneway Anova*. Perbedaan dianggap signifikan apabila nilai $p < 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

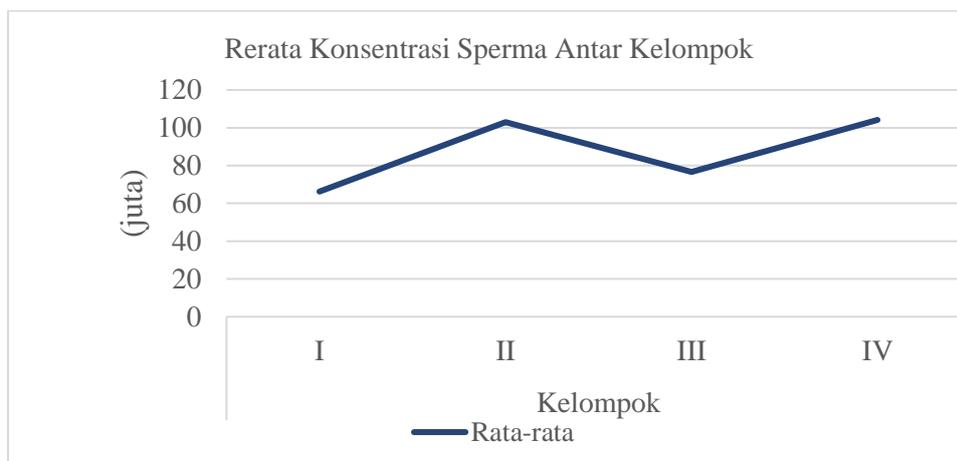
4.1.1. Hasil Konsentrasi Sperma

Penelitian “Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran terhadap Konsentrasi Sperma” telah dilakukan di Laboratorium Hewan *Integrated Biomedical Laboratory* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung pada bulan Juli sampai dengan bulan Agustus 2021. Penelitian dilakukan terhadap 24 tikus galur wistar jantan yang telah dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Perlakuan dilakukan selama 15 hari. Pada kelompok 1 diberikan formalin peroral dengan dosis 100 mg/kgBB, kelompok 2 diberikan formalin per oral dengan dosis 100 mg/kgBB dan ekstrak meniran dengan dosis 100 mg/kgBB, kelompok 3 diberikan formalin per oral dengan dosis 100 mg/kgBB dan ekstrak meniran dengan dosis 200 mg/kgBB dan kelompok 4 diberikan formalin per oral dengan dosis 100 mg/kgBB dan ekstrak meniran dengan dosis 300 mg/kgBB. Waktu pemberian meniran pada pukul 09.00 WIB dan waktu pemberian formalin pada pukul 12.00 WIB. Pada hari ke-16 dilakukan terminasi dengan teknik dislokasi leher untuk mengambil sperma pada masing-masing tikus. Sperma yang telah diambil dimasukkan ke dalam cawan petri, dicampur dengan larutan *George* dan dihitung konsentrasi sperma menggunakan rumus konsentrasi sperma. Hasil konsentrasi sperma dapat dilihat pada tabel 4.1 sebagai berikut.

Tabel 4.1 Rerata konsentrasi sperma dan standar deviasi tiap kelompok penelitian

	Kelompok			
	I	II	III	IV
Rata-rata	66.250.000	102.916.667	76.666.667	104.166.667
(sel/ml)	$\pm 25.335.252$	$\pm 47.418.790$	$\pm 41.523.085$	$\pm 52.765.203$

Rerata konsentrasi sperma kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Rerata konsentrasi sperma kelompok I yang diberi formalin 100 mg/kgBB berjumlah 66.250.000 sel/ml. Rerata konsentrasi sperma kelompok II yang diberi meniran 100 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB sebesar 102.916.667 sel/ml. Pemberian kadar meniran 200 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB memiliki rerata konsentrasi sperma sejumlah 76.666.667 sel/ml. Rerata konsentrasi sperma pada pemberian meniran 300 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB sebesar 104.166.667 sel/ml. Perbandingan rerata konsentrasi sperma antar kelompok dapat terlihat pada gambar 4.1 sebagai berikut.



Gambar 4.1 Diagram rerata konsentrasi sperma antar kelompok

Diagram diatas dapat memperlihatkan perbedaan rerata konsentrasi sperma antar kelompok. Kelompok I yaitu kelompok kontrol yang hanya diberi formalin memiliki rerata konsentrasi sperma terendah dibandingkan kelompok perlakuan. Kelompok II yaitu kelompok perlakuan ekstrak meniran 100 mg/kgBB dan formalin memiliki rerata konsentrasi sperma yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok III. Kelompok III yaitu kelompok perlakuan ekstrak meniran 200 mg/kgBB dan formalin memiliki rerata konsentrasi sperma yang lebih tinggi sedikit jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Kelompok IV yaitu kelompok perlakuan ekstrak meniran 300 mg/kgBB dan formalin memiliki rerata konsentrasi sperma yang paling tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya.

4.1.2. Analisis Bivariat

Uji Normalitas dan Homogenitas

Data yang telah didapatkan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS versi 25. Data konsentrasi sperma dilakukan uji normalitas dengan uji *Saphiro-Wilks* dan uji homogenitas dengan *Levene's Test*. Data konsentrasi sperma berdistribusi normal dengan nilai p pada semua kelompok lebih dari 0,05. Hasil uji normalitas Saphiro-Wilks dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Kelompok	Uji Normalitas Saphiro-Wilks Nilai p	Uji Homogenitas Levene Nilai p
K1 (Kontrol)	0,212	0,665
K2 (Meniran 100 mg/kgBB)	0,744	
K3 (Meniran 200 mg/kgBB)	0,151	
K4 (Meniran 300 mg/kgBB)	0,125	

Data konsentrasi sperma selanjutnya diuji homogenitas melalui *Levene's Test*. Hasil *Levene's Test* didapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti homogen. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 4.2.

One Way Anova

Pada penelitian ini analisis dilakukan dengan *One Way Anova*. Hasil analisis *One Way Anova* didapatkan $p = 0,345$, sebagaimana yang tergambar pada tabel 4.3 berikut.

Tabel 4.3 Hasil Analisis *One Way Anova* Konsentrasi Sperma

	<i>P value</i>
<i>One Way Anova</i>	0,345*

Keterangan : * perbedaan tidak bermakna

Tabel diatas menunjukkan nilai P dari uji Anova sebesar 0,345 ($p > 0,05$) sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna konsentrasi sperma pada berbagai kelompok perlakuan dan data tersebut tidak dapat dilakukan uji Beda *PostHoc*.

4.2.Pembahasan

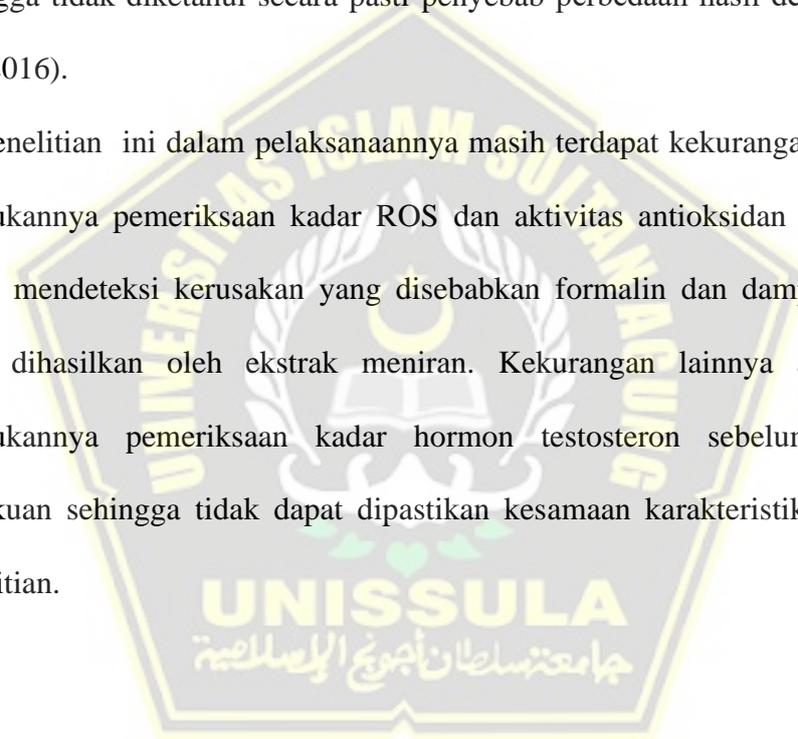
Konsentrasi sperma merupakan salah satu parameter dalam analisis sperma. Hasil analisis sperma dapat dijadikan sebagai parameter infertilitas dengan syarat ditemukan kelainan pada sekurang-kurangnya 2x pemeriksaan dan jarak antar pemeriksaan minimal 7 hari. Pasien infertilitas dapat dikatakan oligozoospermia apabila hasil konsentrasi sperma < 15 juta spermatozoa/ml. (Guzick *et al.*, 2001 ; IAUI (Ikatan Ahli Urologi Indonesia), 2015) Konsentrasi sperma didapatkan melalui perhitungan jumlah spermatozoa per satu unit volume (WHO, 2010). Sperma merupakan hasil dari proses spermatogenesis (Sherwood, 2015). Proses spermatogenesis dapat terganggu apabila terdapat paparan formalin berulang yang dapat menyebabkan akumulasi dari *Reactive Oxidation Species (ROS)*. Akumulasi ROS pada tingkat seluler dapat menyebabkan stress oksidatif sel, sehingga mempercepat apoptosis sel (Dhalila, 2017).

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan rerata konsentrasi sperma pada kelompok II dengan pemberian meniran dosis 100 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB, kelompok III dengan pemberian meniran dosis 200 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB serta kelompok IV dengan pemberian meniran dosis 300 mg/kgBB dan formalin 100 mg/kgBB jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal tersebut dapat dilihat dari rata-rata konsentrasi sperma pada kelompok II sebanyak 102.916.666,7 sel/ml, kelompok III sebanyak 76.666.667 sel/ml, kelompok IV sebanyak 104.166.667 sel/ml, sedangkan kelompok I sebesar 66.250.000 sel/ml. Hasil rerata konsentrasi pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak meniran dapat melindungi sel sperma dari kerusakan formalin namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Alasan perbedaan yang tidak bermakna pada penelitian ini tidak dapat didefinisikan secara detail karena peneliti tidak memeriksa kadar hormon testosteron pada masing-masing tikus sehingga tidak terlihat pengaruh hormone testosterone pada penelitian ini. Hormon testosteron dapat memberikan efek tropic yang kuat terhadap spermatogenesis (Qotrunnada *et al.*, 2018) Hal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian ini selain hormon testosterone, penelitian ini tidak terdapat pemeriksaan kadar ROS pada sperma tikus sehingga tidak terlihat dengan jelas dampak kerusakan yang dihasilkan formalin dan perbaikan yang dilakukan oleh ekstrak meniran.

Pada kelompok III pemberian ekstrak meniran 200 mg/kgBB rata-rata hasil konsentrasi sperma cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok II dan IV, namun lebih tinggi dibandingkan kelompok 1 (kontrol). Hasil ini tidak sejalan

dengan penelitian Da'i, *et. al.* (2016) yang menyebutkan bahwa dosis paling efektif meniran sebagai antioksidan sebanyak 200 mg/kgBB (Da'i *et al.*, 2016). Antioksidan meniran pada penelitian ini berfungsi untuk menangkap radikal bebas sehingga dapat menghentikan akibat penumpukan radikal bebas akibat induksi formalin per oral. (Ervina and Mulyono, 2019; Silalahi, 2020; Dhalila, 2017) Perbedaan hasil pada penelitian ini terdapat pada variabel terikat yang diteliti. Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan aktivitas antioksidan, sehingga tidak diketahui secara pasti penyebab perbedaan hasil dengan Da'I *et al.*, (2016).

Penelitian ini dalam pelaksanaannya masih terdapat kekurangan yaitu tidak dilakukannya pemeriksaan kadar ROS dan aktivitas antioksidan pada sperma untuk mendeteksi kerusakan yang disebabkan formalin dan dampak protektif yang dihasilkan oleh ekstrak meniran. Kekurangan lainnya adalah tidak dilakukannya pemeriksaan kadar hormon testosteron sebelum dilakukan perlakuan sehingga tidak dapat dipastikan kesamaan karakteristik dari subjek penelitian.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Tidak terdapat pengaruh protektif yang signifikan pada pemberian ekstrak meniran terhadap konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral.
- 5.1.2. Rerata konsentrasi sperma tikus yang hanya diberi formalin per oral sebanyak 66.250.000 sel/ml.
- 5.1.3. Rerata konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral dan meniran dosis 100 mg/kgBB sebanyak 102.916.666,7 sel/ml,
- 5.1.4. Rerata konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral dan meniran dosis 200 mg/kgBB sebanyak 76.666.667 sel/ml,
- 5.1.5. Rerata konsentrasi sperma tikus yang diberi formalin per oral dan meniran dosis 300 mg/kgBB sebanyak 104.166.667 sel/ml,
- 5.1.6. Tidak terdapat perbedaan konsentrasi sperma pada masing-masing kelompok perlakuan.

5.2. Saran

- 5.2.1. Penelitian selanjutnya sebaiknya ditambahkan dengan pengukuran kadar ROS dan aktivitas antioksidan agar terlihat jelas dampak kerusakan yang disebabkan oleh formalin dan dampak protektif oleh ekstrak meniran.

5.2.2. Penelitian selanjutnya sebaiknya ditambahkan uji pada kadar hormon testosteron agar dapat mengamati kesamaan karakteristik subjek penelitian.



DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, G. (2019) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap Atrofi Testis Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus strain wistar*) yang Diinduksi Timbal Per-Oral'. University of Muhammadiyah Malang.
- Atmadja, T. F. A. and Yuniyanto, A. E. (2019) 'Formulasi Minuman Fungsional Teh Meniran (*Phyllanthus niruri*) Tinggi Antioksidan', *Jurnal Action : Aceh Nutrition Journal*, 4(4), pp. 142–148.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (2019) Laporan Tahunan BPOM 2019.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI (2008) 'Buku Saku Informasi Pengamanan Bahan Berbahaya Formalin (Larutan *Formaldehid*)', *Public Health*, pp. 314–318. doi: 10.1016/S0033-3506(05)81012-1.
- BPOM RI (2008) 'Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citereup', Edited by R. Napitupulu et al. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Da'i, M., Arifah Sri Wahyuni, Ika Trisharyanti, Tanti Azizah, Andi Suhendi, and Azis Saifudin (2016) 'Antioxidant activity of *Phyllanthus niruri L. herbs: In vitro and in Vivo Models and Isolation of Active Compound*', *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 6(1), pp. 32–37. doi: 10.5455/njppp.2015.5.0510201575.
- Dhalila, H. (2017) 'Efek Formalin terhadap Jumlah Sel Spermatogenik', *Kes Mas: Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Ahmad Daulan*, 11(1), pp. 72–77. doi: 10.12928/kesmas.v11i1.5587.
- Dorland, W. A. (1981) *Dorland's Illustrated medical dictionary*. Saunders.
- Ervina, M. N. and Mulyono, Y. (2019) 'Etnobotani Meniran Hijau (*Phyllanthus niruri L.*) Sebagai Potensi Obat Kayap Ular (*Herpes Zoster*) dalam Tradisi Suku Dayak Ngaju', *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*, 1(1), pp. 30–38. doi: 10.36873/jjms.v1i1.134.
- Fitri, I. (2017) 'Efektivitas Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella sp.* dan *Propionibacterium acnes*', *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 6(2), p. 300. doi: 10.23887/jst-undiksha.v6i2.11815.
- Ganong, W. F., Kim Barret., Susan M.B., Scott B., and L.Brooks (2014) Ganong Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 24, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Giribabu, N., Pasupuleti V., Korla Praveen K., Sekaran Muniandy, Somesula, and Naguib Salleh (2014) 'Aqueous extract of *Phyllanthus niruri* Leaves Displays in Vitro Antioxidant Activity and Prevents the Elevation of Oxidative Stress in the Kidney of Streptozotocin-induced Diabetic Male Rats', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. doi:

10.1155/2014/834815.

- Guyton, A. C. and Hall, J. E. (2006) *'Medical physiology'*, Gökhan N, Çavuşoğlu H (Çeviren), 3.
- Guzick, D. S., James W.O., Pam F.L., Charlene K.B., Steven R.N., Christos C., Sandra A.C., Pauline C., Michael P.S., Joseph A.H., Dong Xu., M.Phil, and Donna L. (2001) *'Sperm Morphology, Motility, and Concentration in Fertile and Infertile Men'*, *The England Journal of Medicine*, 345(19), pp. 1388–1393. Available at: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa003005?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub_0www.ncbi.nlm.nih.gov.
- IAUI (Ikatan Ahli Urologi Indonesia) (2015) *Panduan Penanganan Infertilitas Pria*. 2nd Edition. Jakarta.
- Johnson, M. H. and Everitt, B. J. (2000) *Essential Reproduction*.
- Junqueira, L. C. and Mescher, A. L. (2013) *'Junqueira's basic histology: text & atlas/Anthony L. Mescher.'* New York [etc.]: McGraw-Hill Medical,.
- Katzung, B. G., Masters, S. B. and Trevor, A. J. (2012) *'Basic & Clinical Pharmacology Edisi 12'*, Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 43, pp. 892–936.
- Kemenkes RI (2012) *Vademekum Tanaman Obat Untuk Saintifikasi Jamu Jilid 1*, Kemenkes RI. Jakarta.
- Kose, E., M.Sarsilmaz, S.Meyden, M.Sonmez, I.Kus, and A.Kavakli (2011) *'The effect of lavender oil on serum testosterone levels and epididymal sperm characteristics of formaldehyde treated male rats.'*, *European review for medical and pharmacological sciences*, 15(5), pp. 538–542.
- Kumalasari, S. A. (2018) *'Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran Terhadap Ekspresi MMP 9 Dan Luas Lesi Endometriosis Pada Mencit Model Endometriosis'*, *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 20(1), p. 56. doi: 10.20473/jbp.v20i1.2018.56-65.
- Mahdi, C. (2010) *'The Effect of Formaldehyde Exposure and Yogurt Supplementation on Profile and Character of Hepar Tissue Protein of Rats (Rattus norvegicus)'*, *Indo. J. Chem*, 10(1), pp. 132–137. Available at: <https://journal.ugm.ac.id/ijc/article/viewFile/21493/14198>.
- Mandal, S. S., Mandal, B. and Kundu, J. K. (2013) *'The Role of Antioxidants on Cellular Aging'*, *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*, 4(3), pp. 115–117. Available at: <https://e-journal.sospublication.co.in/index.php/jalrb/article/view/170%0Ainternal-pdf://0.0.6.239/170.html>.
- Martinus, B. A. and Rivai, H. (2015) *'Pengaruh Perbandingan Etanol:Air sebagai Pelarut Ekstraksi terhadap Perolehan Kadar Fenolat dan Daya Antioksidan Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.)'*, *Scientia : Jurnal Farmasi dan*

Kesehatan, 1(1), p. 59. doi: 10.36434/scientia.v1i1.18.

Pramono, S., Soeharto, G. and Margawati, A. (2012) 'Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Tikus Wistar', *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 1(1), p. 115499.

Qotrunnada, S., Ariani, M. D. and Hermawati, D. (2018) 'Pengaruh Jus Bit (*Beta vulgaris*) Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Tikus Wistar yang dipapar Asap Rokok'. Faculty of Medicine.

Raphael, K. R. and Kuttan, R. (2003) 'Inhibition of Experimental Gastric Lesion and Inflammation by *Phyllanthus amarus* Extract', *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), pp. 193-197. doi: 10.1016/S0378-8741(03)00120-X.

Restuati, M. and Hardiyanti, Y. (2017) 'Pengaruh Toksik Formaldehid terhadap Berat Badan dan Berat Ovarium Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*) yang diberi Ekstrak Etanol dan Daun Buas-Buas (*Premna pubescens blume*)', *Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah*, 18(1), pp. 6443-6447. Available at: <http://digilib.unimed.ac.id/id/eprint/25967>.

Sarkar, M. K. and Sil, P. C. (2010) 'Prevention of Tertiary butyl hydroperoxide Induced Oxidative Impairment and Cell Death by a Novel Antioxidant Protein Molecule Isolated from the Herb, *Phyllanthus niruri*', *Toxicology in Vitro*, 24(6), pp. 1711-1719. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.05.014>.

Sherwood, L. (2015) *Human physiology: from cells to systems*. Cengage learning.

Silalahi, M. (2020) 'Phyllanthus amarus Schum dan Bioaktivitasnya', *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 12(1), p. 44. doi: 10.25134/quagga.v12i1.2147.

Solihati, Purwantara, Supriatna, and Winarto (2013) 'Development of Spermatogenic Cells and Sperm Quality After Administration of Pegagan (*Centella asiatica*) Extract', *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 18(3), pp. 1-21. doi: 10.14334/jitv.v18i3.321.

Sukmanadi, M., Warsito, S. H. and Maslachah, L. (2007) 'Pengaruh Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap Kadar Testosteron Mencit Jantan (*Mus musculus*)'. Available at: <http://repository.unair.ac.id/id/eprint/43280>.

Toriqoh, L. (2020) 'Pengaruh Pemberian Boraks dan Formalin terhadap Gambaran Histopatologis Renal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley', 2507.

Urry, L. A. and Cain, M. L. (2016) *Campbell Biology, Global Edition*. Pearson Education Limited.

Wahab, R. A., Suharto, G. and Margawati, A. (2012) 'Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Duodenum Tikus Wistar', *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 1(1), p. 115499.

- Warsito, S. H., Sukmanadi, M. and Maslachah, L. (2005) 'Potensi Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus Niruri L*) terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit', *Universitas Airlangga*. Available at: <http://repository.unair.ac.id/43000/>.
- WHO (2010) *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th edition)*, WHO.
- WHO (2020) 'Infertility', WHO, (September), pp. 1–5. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
- Wibowo, M., Soeharto, G. and Margawati, A. (2012) 'Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Wistar', *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 1(1), p. 115499.
- Wilbur, S., M.Olivia H., Peter R. M., and Wayne S. (2002) 'Toxicological Profile for Formaldehyde', *ATSDR's Toxicological Profiles*, (July). doi: 10.1201/9781420061888_ch87.
- Wilson, K., Ilmiawan, M. I. and Raharjo, W. (2019) 'Pengaruh Paparan Akut Formaldehid Per Oral terhadap Gambaran Histologis Sel Piramidal hipokampus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Dewasa Galur Wistar', *Jurnal Mahasiswa PSPD Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*, 5(1), pp. 4–19. Available at: <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/view/31602>.
- Yulinawati, H., Zulaiha, Pristianty, and L. Siami (2019) 'Kontribusi Metropolitan terhadap Polutan Udara Berbahaya Timbal dan Merkuri dari Pembangkit Listrik Tenaga Uap (Batu Bara)', in *Seminar Nasional Pembangunan Wilayah dan Kota Berkelanjutan*.