

Aktivitas Ekstrak Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L) Terhadap Kualitas Sperma Pada Mencit Jantan (*Mus Musculus*)

Adinda Nurul Fatimah*, Taufikurrahman, Naili Uswatun H
Program Studi D3 Farmasi, Universitas Islam Madura, Indonesia

*Corresponding author: diindanf27@gmail.com

Abstract

Introduction: Sperm quality is an important indicator of male fertility. A decrease in sperm motility and normal morphology may impair reproductive function. Areca nut seeds (*Areca catechu* L.) contain various bioactive compounds, particularly flavonoids and alkaloids, which are presumed to have the potential to affect male reproductive function. **Objective:** This study aimed to evaluate the effect of ethanolic extract of areca nut seeds on sperm quality in male mice (*Mus musculus*), including sperm motility and morphology. **Method:** This experimental laboratory study employed a post-test-only control group design. The experimental animals were divided into five groups: a negative control group administered 0.5% Na CMC, a positive control group administered sildenafil, and three treatment groups administered ethanolic extract of areca nut seeds at doses of 50 mg/kg body weight (BW) of mice, 75 mg/kg BW of mice, and 100 mg/kg BW of mice. All treatments were administered orally for 14 consecutive days. Following the treatment period, sperm motility and morphology were evaluated as parameters of sperm quality. The data were analyzed using One-Way ANOVA at a 95% confidence level ($\alpha = 0.05$). **Results** The sildenafil group showed the highest mean sperm motility of 46.66% and normal sperm morphology of 55.33%, while the group receiving the 75 mg/kg BW of mice extract dose showed sperm motility of 43.33% and normal sperm morphology of 52.00%. Statistical analysis showed significant differences in sperm motility ($p = 0.003$) and sperm morphology ($p = 0.002$). **Conclusion:** Administration of ethanolic extract of areca nut seeds (*Areca catechu* L.) had a significant effect on sperm quality in male mice.

Keywords: areca nut (*Areca catechu* L); sperm motility; Sperm morphology; Male mice.

Abstrak

Pendahuluan: Kualitas spermatozoa merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan fertilitas jantan. Penurunan motilitas dan morfologi normal spermatozoa dapat menyebabkan gangguan terhadap kemampuan reproduksi. Biji pinang (*Areca catechu* L.) mengandung berbagai senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan alkaloid, yang diduga berpotensi memengaruhi fungsi reproduksi jantan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menilai efek pemberian ekstrak etanol biji pinang terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*), meliputi motilitas dan morfologi spermatozoa. **Metode:** Penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium menggunakan rancangan *post-test only control group*. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kontrol negatif yang diberikan Na CMC 0,5%, kontrol positif yang diberikan sildenafil, serta tiga kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji pinang dengan dosis 50 mg/kgBB mencit, 75 mg/kgBB mencit, dan 100 mg/kgBB mencit. Seluruh perlakuan diberikan secara oral selama 14 hari berturut-turut. Setelah masa perlakuan berakhir, dilakukan evaluasi terhadap motilitas dan morfologi spermatozoa sebagai parameter kualitas spermatozoa. Data dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil: **Hasil:** Kelompok sildenafil memiliki rata-rata motilitas spermatozoa tertinggi sebesar 46,66% dan morfologi normal sebesar 55,33%, sedangkan kelompok ekstrak dosis 75 mg/kgBB mencit menunjukkan motilitas sebesar 43,33% dan morfologi normal sebesar 52,00%. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada motilitas spermatozoa ($p =$

0,003) dan morfologi spermatozoa ($p = 0,002$). **Kesimpulan:** Pemberian ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) berpengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan.

Kata kunci: Biji pinang; *Areca catechu* L.; Motilitas spermatozoa; Morfologi spermatozoa; Mencit jantan

PENDAHULUAN

Gairah seksual merupakan aspek fisiologis dan psikologis yang berperan penting dalam menciptakan kehidupan seksual yang sehat dan harmonis. Penurunan hasrat seksual dapat menyebabkan ketidakharmonisan dalam hubungan pasangan serta menurunkan kualitas kehidupan rumah tangga. Kondisi tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, di antaranya gangguan kesehatan, kebiasaan merokok, stres, depresi, dan kecemasan (Hassan et al., 2023).

Salah satu pendekatan yang digunakan untuk mengatasi gangguan fungsi seksual adalah penggunaan afrodisiaka. Afrodisiaka merupakan senyawa atau bahan yang dapat merangsang dan meningkatkan gairah seksual, baik yang berasal dari bahan alami maupun sintesis (Indriyani et al., 2021).

Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman yang telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional sebagai peningkat stamina dan vitalitas pria di berbagai negara. Termasuk Indonesia dan India. Efek afrodisiak biji pinang diduga berkaitan dengan kandungan alkaloid arekolin yang memiliki aktivitas kolinergik, sehingga dapat meningkatkan aktivitas saraf parasimpatis yang berperan dalam respons seksual (Huang & Jiann, 2017).

Selain itu, biji pinang mengandung beragam senyawa bioaktif, antara lain alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan saponin. Di antara senyawa tersebut, flavonoid dan polifenol memiliki sifat antioksidan yang berperan dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Guo et al., 2024).

Stres oksidatif berperan sebagai salah satu faktor utama yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa melalui kerusakan membran sel, gangguan motilitas, dan perubahan morfologi spermatozoa. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut berpotensi menjaga integritas spermatozoa dan mendukung proses spermatogenesis.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol biji buah pinang (*Areca catechu* L.) terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*), khususnya motilitas dan morfologi spermatozoa.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Biji pinang muda (*Areca catechu* L.), etanol 70%, natrium karboksimetil selulosa (Na CMC) 0,5%, sildenafil sitrat, dan aquadest.

Alat

Alat yang digunakan meliputi Soxhlet, pemanas mantel, labu alas bulat 500 mL, rotary evaporator, oven, timbangan analitik, blender, thimble Soxhlet, kandang mencit, spuit oral 1 mL, pipet tetes, tabung reaksi, kaca objek, kaca penutup, dan mikroskop cahaya.

Preparasi Sampel

Biji pinang muda diperoleh dari Desa Konang, Kecamatan Pademawu, Kabupaten Pamekasan dan Determinasi dilakukan di UPT Materia Medica Batu, Malang, Jawa Timur. Biji pinang dipisahkan dari kulitnya, dicuci, diiris tipis, kemudian bahan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C hingga diperoleh bobot konstan. Setelah itu, proses pengeringan selesai, simplisia kering dihaluskan menggunakan grinder hingga diperoleh serbuk halus.

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode sokhletasi menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 100 g serbuk simplisia diekstraksi dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 hingga pelarut menjadi jernih. Ekstrak hasil sokhletasi kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga menghasilkan ekstrak kental.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur BALB/c yang sehat dan aktif. Mencit diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan dan dipelihara dalam kandang standar dengan kondisi lingkungan yang terkontrol, serta diberikan pakan pelet dan air minum secara *ad libitum*.

Pembagian Kelompok Dan Pemberian Perlakuan

Mencit dibagi ke dalam lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (Na-CMC 0,5%), kontrol positif (sildenafil 0,13 mg/kgBB mencit), serta tiga kelompok yang menerima ekstrak etanol biji pinang dengan dosis 50, 75, dan 100 mg/kgBB mencit. Seluruh kelompok memperoleh perlakuan secara oral selama 14 hari.

Pengambilan dan Analisis Spermatozoa

Pengamatan dilakukan terhadap motilitas dan morfologi spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 $\times$. Motilitas spermatozoa ditentukan berdasarkan persentase spermatozoa yang menunjukkan pergerakan progresif dibandingkan dengan jumlah total spermatozoa yang diamati.

Analisis Data

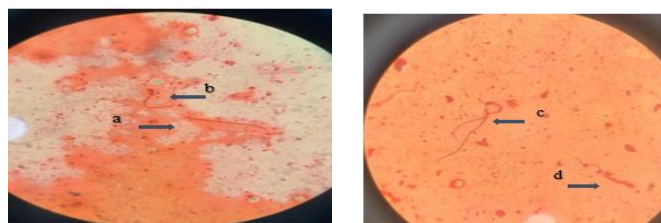
Data motilitas dan morfologi spermatozoa dianalisis menggunakan SPSS versi 24. Data yang memenuhi uji normalitas dan homogenitas dianalisis menggunakan One-Way ANOVA pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). (Ghozali, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi serbuk simplisia biji pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan dengan metode sokhletasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak kental berwarna cokelat kehitaman dengan rendemen sebesar 10.1%.

Hasil Pengamatan Motilitas Spermatozoa



Gambar 1. Morfologi spermatozoa mencit jantan hasil pengamatan mikroskopis pembesaran 400 $\times$. (a) spermatozoa normal, (b) spermatozoa dengan kelainan kepala (kepala gepeng), (c) Spermatozoa dengan sisa sitoplasma, dan (d) spermatozoa dengan bentuk abnormal (spermatozoa raksasa).

Hasil pengamatan menunjukkan adanya variasi motilitas spermatozoa pada masing-masing kelompok perlakuan. Perbedaan nilai motilitas yang diperoleh mengindikasikan adanya pengaruh perlakuan yang diberikan terhadap kualitas spermatozoa. Data lengkap hasil pengamatan motilitas spermatozoa pada setiap kelompok disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Motilitas Spermatozoa Mencit

Kelompok Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (%)
Na CMC 0,5%	38,33 $\pm$ 3,05
Sildenafil 0,13 mg/kgBB mencit	46,66 $\pm$ 4,51
Pinang 50 mg/kgBB mencit	34,66 $\pm$ 2,51
Pinang 75 mg/kgBB mencit	43,33 $\pm$ 2,08

Pinang 100 mg/kgBB mencit $33,00 \pm 4,36$

Berdasarkan Tabel 1, nilai motilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada kelompok Sildenafil 0,13 mg/kgBB mencit, sedangkan pada kelompok Pinang 75 mg/kgBB diperoleh nilai motilitas sebesar 43,33%. Berdasarkan hasil analisis One Way ANOVA, terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p = 0,003$; $p < 0,05$).

Hasil Pengamatan Morfologi Spermatozoa

Evaluasi morfologi spermatozoa dilakukan untuk menentukan persentase spermatozoa yang memiliki bentuk normal maupun abnormal pada setiap kelompok perlakuan. Data hasil pengamatan morfologi spermatozoa dari masing-masing kelompok kemudian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Morfologi Spermatozoa Mencit

Kelompok Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD (%)
Na CMC 0,5%	48.66 ± 3.21
Sildenafil 0,13 mg/kgBB mencit	55.33 ± 3.51
Pinang 50 mg/kgBB mencit	47.00 ± 2.00
Pinang 75 mg/kgBB mencit	52.00 ± 8.89
Pinang 100 mg/kgBB mencit	33.33 ± 2.89

Berdasarkan Tabel 2, kelompok Sildenafil 0,13 mg/kgBB mencit menunjukkan persentase morfologi normal tertinggi sebesar 55,33%. Pada kelompok Pinang, dosis 75 mg/kgBB mencit memberikan hasil morfologi normal sebesar 52,00%, lebih tinggi dibandingkan dosis 50 mg/kgBB mencit dan 100 mg/kgBB mencit. Berdasarkan hasil uji One Way ANOVA, terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p = 0,002$; $p < 0,05$).

Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Pinang terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa menjadi parameter penting dalam penentuan kualitas spermatozoa mengingat perannya pada proses fertilisasi. Spermatozoa dengan motilitas progresif ditandai dengan gerakan aktif, cepat, dan terarah sehingga mampu mencapai ovum untuk proses pembuahan (Rahman, 2022). Motilitas spermatozoa juga sangat dipengaruhi oleh integritas membran sel serta pembentukan ATP oleh mitokondria yang berada pada bagian midpiece sebagai sumber energi.

Berdasarkan hasil penelitian, kelompok Pinang 75 mg/kgBB mencit menunjukkan nilai motilitas tertinggi di antara kelompok perlakuan lainnya. Analisis statistik juga menghasilkan perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p < 0,05$), sehingga dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol biji pinang berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa mencit jantan.

Dalam penelitian ini, peningkatan motilitas spermatozoa diduga berhubungan dengan adanya senyawa bioaktif. dalam biji pinang, terutama alkaloid dan polifenol. Kandungan biji pinang meliputi alkaloid seperti arekolin, arekaidin, guvakolin, dan guvasin yang memiliki aktivitas biologis terhadap sistem reproduksi (Sun et al., 2024). Arekolin diketahui memiliki efek kolinergik yang dapat meningkatkan aktivitas saraf parasimpatis, sehingga mendukung peningkatan aliran darah ke organ reproduksi dan menunjang aktivitas metabolik spermatozoa.

Selain itu, polifenol dan katekin dalam biji pinang memiliki kemampuan antioksidan untuk mengurangi dampak radikal bebas. Stres oksidatif diketahui dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran spermatozoa serta mengganggu fungsi mitokondria, sehingga produksi ATP menurun dan menyebabkan penurunan motilitas (Agarwal). Dengan adanya aktivitas antioksidan tersebut, kerusakan sel dapat ditekan sehingga fungsi mitokondria lebih stabil dan produksi energi untuk pergerakan spermatozoa tetap optimal (Takahashi 2021).

Hasil penelitian juga mengindikasikan bahwa dosis 75 mg/kgBB mencit memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dosis 50 mg/kgBB mencit dan 100 mg/kgBB mencit. Hal ini menunjukkan bahwa efek ekstrak tidak selalu meningkat seiring peningkatan dosis, tetapi terdapat titik optimum dalam respon biologis.

Penurunan motilitas pada dosis 100 mg/kgBB mencit diduga disebabkan oleh tingginya konsentrasi senyawa aktif yang dapat mengganggu keseimbangan fisiologis spermatozoa, sehingga justru menurunkan fungsi metabolik dan motilitas sel. Oleh karena itu, dosis 75 mg/kgBB mencit dapat dianggap sebagai dosis yang paling efektif dalam meningkatkan motilitas spermatozoa.

Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Pinang terhadap Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa menjadi salah satu parameter penting dalam menilai kualitas dan integritas struktur sel spermatozoa atas kepala, bagian tengah (midpiece), dan ekor. Spermatozoa dengan morfologi normal memiliki struktur yang utuh, sedangkan kelainan pada salah satu bagian tersebut dapat menurunkan kemampuan fertilisasi (Indriyani, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan persentase morfologi normal antar kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (Na CMC 0,5%) menunjukkan nilai sebesar 48,66%, sedangkan kontrol positif (sildenafil) menunjukkan nilai tertinggi yaitu 55,33%. Pada kelompok perlakuan ekstrak, dosis 50 mg/kgBB mencit sebesar 47,00%, dosis 75 mg/kgBB mencit sebesar 52,00%, dan dosis 100 mg/kgBB mencit sebesar 33,33%. Berdasarkan hasil tersebut, dosis 75 mg/kgBB mencit menunjukkan nilai paling optimal di antara kelompok ekstrak dan mendekati kontrol positif, sehingga dianggap sebagai dosis paling efektif dalam mempertahankan morfologi spermatozoa.

Perubahan morfologi spermatozoa sangat dipengaruhi oleh integritas membran sel serta proses spermatogenesis di dalam testis yang sensitif terhadap stres oksidatif. Peningkatan ROS (reactive oxygen species) berpotensi menyebabkan kerusakan pada DNA, gangguan pembentukan akrosom pada kepala spermatozoa, serta kelainan bentuk ekor yang berdampak pada penurunan kualitas fertilisasi (Agarwal, 2014).

Efek protektif ekstrak biji pinang diduga berasal dari kandungan Senyawa polifenol dan flavonoid diketahui memiliki sifat antioksidan. Senyawa ini mampu menetralkan radikal bebas sehingga menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada membran spermatozoa. Dengan demikian, integritas struktur sel dapat dipertahankan dan pembentukan spermatozoa berlangsung lebih optimal (Sriwijaya, 2018).

Selain itu, katekin sebagai salah satu komponen flavonoid juga berperan dalam meningkatkan kapasitas antioksidan endogen sehingga perlindungan terhadap sel reproduksi menjadi lebih efektif (Takahashi, 2021).

Namun, pada dosis 100 mg/kgBB mencit terjadi penurunan persentase morfologi normal. Hal ini diduga karena tingginya konsentrasi senyawa aktif dapat mengganggu keseimbangan fisiologis testis, sehingga proses spermatogenesis tidak berlangsung optimal dan menghasilkan peningkatan abnormalitas spermatozoa.

Secara keseluruhan, dosis 75 mg/kgBB mencit menunjukkan efek paling optimal terhadap morfologi spermatozoa, yang mengindikasikan adanya konsep dosis optimum dalam respons biologis, di mana peningkatan dosis tidak selalu menghasilkan peningkatan efek.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terbukti memengaruhi kualitas spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus*), yang ditunjukkan melalui perubahan pada parameter motilitas dan morfologi spermatozoa. Di antara dosis yang diuji, pemberian ekstrak dengan dosis 75 mg/kgBB mencit menghasilkan kualitas spermatozoa yang lebih efektif dibandingkan dosis lainnya. Hasil analisis statistik menggunakan Uji One Way ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada orang tua, dosen pembimbing, serta pihak instansi yang telah memberikan bimbingan, dukungan, dan bantuan selama proses penelitian. Tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan penelitian ini. Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih memiliki kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi penyempurnaan di masa mendatang. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., et al. (2014). Role of reactive oxygen species in male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 1–10.
- Guo, X., et al. (2024). Antioxidant activity of flavonoids in medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 310, 1–12.
- Hassan, R., et al. (2023). Factors affecting male sexual function and fertility. *International Journal of Sexual Health*, 35(2), 120–128.
- Huang, S., & Jiann, B. (2017). Pharmacological effects of Areca catechu on reproductive system. *Asian Journal of Andrology*, 19(3), 250–256.
- Indriyani, S., et al. (2021). Morphological assessment of spermatozoa in fertility evaluation. *Journal of Reproductive Biology*, 21(2), 100–108.
- Rahman, M. A. (2022). Sperm motility as an indicator of male fertility status. *Andrology Research Journal*, 14(1), 45–52.
- Sriwijaya, A. (2018). Antioxidant potential of plant polyphenols in reproductive protection. *Journal of Natural Products*, 9(4), 200–206.
- Sun, Y., et al. (2024). *Comprehensive insights into areca nut: active components and biological effects*. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1407212.
- Takahashi, Y., et al. (2021). Catechin as antioxidant in reproductive cell protection. *Food and Chemical Toxicology*, 150, 112–118.
- Totong, R., & Nita, S. (2019). Alkaloid compounds in Areca catechu and biological activity. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 85–92.
- Utami, D. (2011). Effect of Areca catechu extract on male reproductive parameters in experimental animals. *Journal of Tropical Medicine*, 6(1), 33–39.