

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. HASIL

Dalam penelitian ini sampel diambil dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM untuk mendapatkan perawatan hewan percobaan yang sesuai dengan standar. Penelitian dilakukan di LPPT UGM Yogyakarta pada bulan April 2006. Jumlah seluruh sampel adalah 30 ekor tikus jantan galur wistar, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 10 ekor tikus jantan galur wistar umur 5 bulan. Ada 3 kelompok perlakuan dalam penelitian ini, yaitu kelompok I merupakan kelompok kontrol dimana 10 ekor tikus jantan galur wistar diberi aquades sebanyak 1,5 ml, kelompok II merupakan kelompok perlakuan dimana 10 ekor tikus jantan galur wistar dengan pemberian belimbing wuluh 20 gram/kg BB sebanyak 1,5 ml dan kelompok III adalah kelompok dimana 10 ekor tikus jantan galur wistar dengan pemberian 40 gram/kg BB ekstrak belimbing wuluh sebanyak 1,5 ml.

5.1.1. Testosteron Bebas

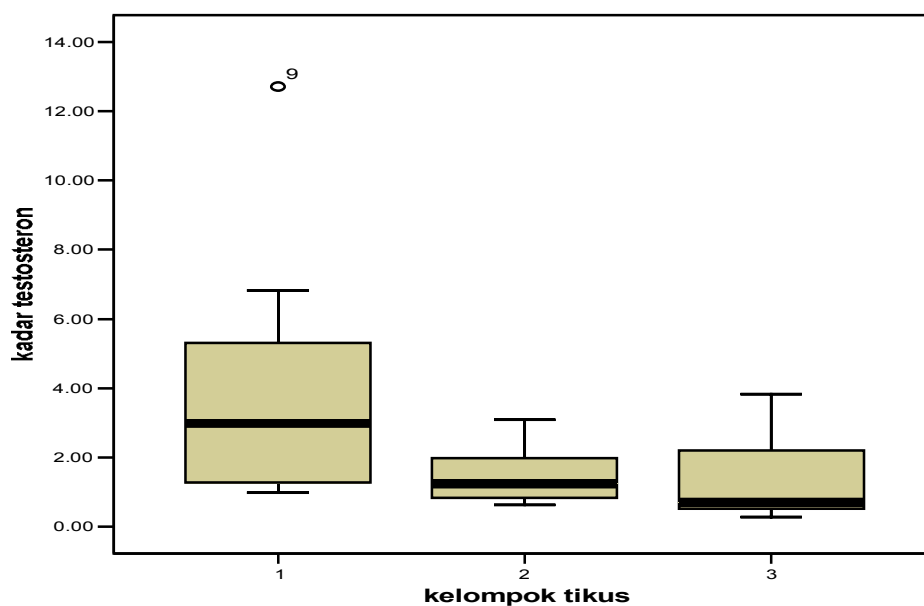
Kadar testosteron bebas terhadap tiga kelompok perlakuan diukur dengan metode *Enzyme Linked Fluorescent Immuno-Assay* (ELFA). Hasil pengukuran kadar testosteron bebas dalam darah tikus setelah pemberian ekstrak belimbing wuluh selama 10 hari perlakuan, didapatkan median kadar testosteron bebas pada kelompok I (2,98ng/ml) lebih tinggi daripada kelompok II (1,24 ng/ml) maupun kelompok III (0,71 ng/ml). Dari hasil uji normalitas data kadar testosteron bebas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk dan *box plot* menunjukkan bahwa data kadar

testosteron bebas dalam darah terdistribusi tidak normal (metode analitik uji Shapiro-Wilk, $p < 0,05$). Kadar testosteron bebas tiap kelompok terlihat dalam tabel 5.1. dan gambar 5.1.

Tabel 5.1. Kadar testosteron bebas (ng/ml) setelah 10 hari perlakuan

Kelompok	Kadar testosteron bebas (ng/ml) setelah 10 hari perlakuan					
	Rerata	Simpang Baku	Nilai Tengah	Maksimum	Minimum	p
I (n=10)	3,97	3,62	2,98	12,70	0,98	0,016*
II (n=10)	1,52	0,79	1,24	3,09	0,63	0,282
III (n=10)	1,28	1,16	0,71	3,83	0,28	0,029*

*Shapiro-Wilk, $p < 0,05$, signifikan berbeda dibandingkan dengan kurva normal



Gambar 5.1. Kadar testosteron bebas tiap kelompok perlakuan setelah 10 hari perlakuan

Setelah data diketahui tidak terdistribusi dengan normal, kemudian dilakukan transformasi data dengan menggunakan bentuk transformasi logaritma dan hasilnya terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan tes *homogeneity of variances* untuk

mengetahui varians dari ketiga kelompok data dengan menggunakan *Levene's tests*. Dari hasil uji *Levene's test* diketahui bahwa tidak ada perbedaan varians antara ketiga kelompok data yang dibandingkan (*Levene's test*, $p=0,092$), sehingga untuk menguji hipotesis komparatif digunakan uji statistik parametrik Anova dan kemudian dilanjutkan dengan analisis *post hoc test* untuk menguji hipotesis komparatif antara dua kelompok yang berbeda⁴⁷.

Dari hasil uji parametrik Anova, diketahui bahwa pemberian ekstrak belimbing wuluh menyebabkan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p = 0,008$ ($p<0,05$). Dari *Post Hoc test* diketahui terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok I dan kelompok II dengan nilai $p=0,04$ ($p<0,05$). Antara kelompok I dengan kelompok III juga memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai $p = 0,002$ ($p<0,005$), sedangkan antara kelompok II dan kelompok III tidak terdapat perbedaan yang bermakna, yaitu nilai $p = 0,240$ ($p>0,05$), dan interval kepercayaan 95% tercakup nilai 0. Hasil analisis statistik Anova dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Perbedaan antar kelompok; kadar testosteron bebas setelah 10 hari perlakuan(Anova)

Kelompok	p	Interval Kepercayaan 95%
I dan II	0,040*	0,0162 s/d 0,6297
I dan III	0,002*	0,1959 s/d 0,8094
II dan III	0,240	-0,1271 s/d 0,4864

*Anova, $p<0,05$, signifikan

5.1.2. Libido

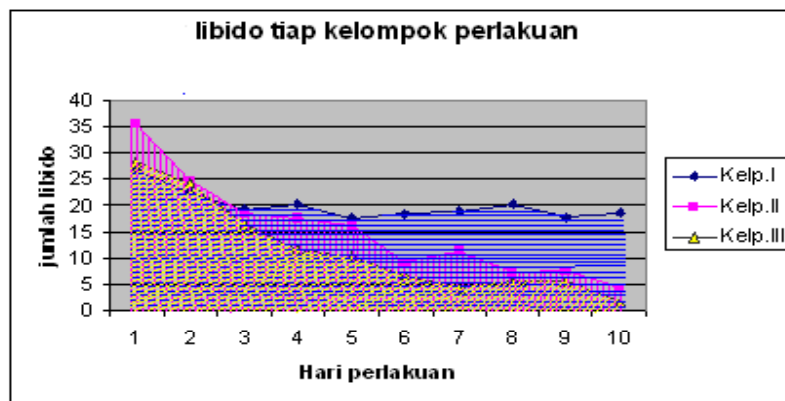
Libido tikus jantan galur wistar diukur dari aktivitas pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) selama 10 hari. Dalam penelitian ini pengukuran libido didapatkan dengan cara memasukkan tikus betina galur wistar umur 3-4 bulan dalam periode oestrus ke dalam kandang tikus jantan galur wistar kelompok perlakuan. Data jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) pada tiap kelompok perlakuan kemudian dihitung luas *The Area Under The Curve* (AUC) dan dilanjutkan dengan uji normalitas untuk mengetahui sebaran data selama 10 hari perlakuan^{48,50}.

Hasil penghitungan *the area under the curve* (AUC) dengan NCSS, libido selama 10 hari didapatkan median jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) pada kelompok I (17,00) lebih tinggi daripada kelompok II(11,00) maupun kelompok III 40 gram/kg BB (5,00). Dari hasil uji normalitas data-data jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa data jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) terdistribusi tidak normal (metode analitik uji Shapiro-Wilk, $p < 0,05$). Data jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) dapat dilihat pada tabel 5.3. dan gambar 5.2.

Tabel 5.3. Jumlah Pendekatan (*introduksi*) dan Penunggang (*climbing*) Tiap Kelompok Perlakuan selama 10 hari (*The Area Under The Curve*)

Kelompok	Jumlah Pendekatan dan Penunggang selama 10 hari					
	Luas AUC	Rerata	Nilai Tengah	Maksimum	Minimum	p
I (n=10)	177,45	20,01	17	32,30	10,30	0,671
II (n=10)	131,7	15,15	11	27,80	2,30	0,486
III (n=10)	99,7	11,48	5	28,10	2,00	0,042*

*Shapiro-Wilk, $p < 0,05$, signifikan berbeda dibandingkan dengan kurva normal



Gambar 5.2. Libido tiap kelompok perlakuan selama 10 hari perlakuan (AUC)

Data yang terdistribusi tidak normal kemudian dilakukan transformasi data dengan menggunakan bentuk transformasi *square root* dan hasilnya tetap tidak terdistribusi secara normal. Karena data tidak terdistribusi dengan normal, maka untuk menguji hipotesis komparatif antar kelompok digunakan uji statistik non-parametrik Kruskal-Wallis dan kemudian dilanjutkan dengan *Bonferroni test* untuk menguji hipotesis komparatif antara dua kelompok yang berbeda dengan menggunakan *Z-value*⁴⁷.

Dari *Bonferroni test* diketahui terdapat perbedaan yang bermakna jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) antara kelompok I dengan kelompok II dengan nilai $z = 3,6433$ ($z > 2,3940$), jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) antara kelompok I dengan kelompok III juga terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $z = 6,2084$ ($z > 2,3940$), demikian juga jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) antara kelompok II dengan kelompok III terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $z = 2,5651$ ($z > 2,3940$). Hasil analisis statistik Kruskal-Wallis dengan *Bonferroni test* dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4. Perbedaan antar kelompok; libido selama 10 hari perlakuan (Kruskal-Wallis)

Kelompok	z
I dan II	3,6433*
I dan III	6,2084*
II dan III	2,5651*

*Kruskall-Wallis, Bonferroni test, nilai median signifikan berbeda jika nilai $z > 2,3940$

5.2. PEMBAHASAN

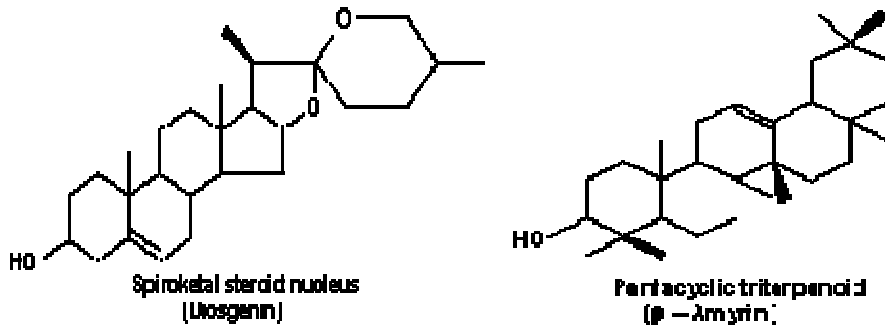
Penelitian ini merupakan pengembangan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Panghiyangan tentang manfaat belimbing wuluh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa pada tikus galur BALB/C dan juga penelitian Herera dan kawan-kawan yang mendapatkan hasil adanya senyawa anti fertilitas yang terdapat pada belimbing wuluh^{5,6}. Penelitian-penelitian terdahulu tentang efek tanaman terhadap libido pada hewan coba tikus juga pernah dilakukan oleh Fuad dan Kartawinata^{30,51}.

5.2.1. Testosteron Bebas

Kadar testosteron bebas pada kelompok II dan III lebih rendah dibandingkan dengan kelompok I. Hal ini sesuai dengan yang diharapkan, bahwa belimbing wuluh dapat menurunkan kadar testosteron bebas. Penurunan kadar testosteron bebas kemungkinan disebabkan mekanisme penghambatan melalui zat-zat yang terkandung di dalam buah belimbing wuluh antara lain:

a. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Saponin termasuk golongan senyawa dari triterpenoid dan terdapat sebagai glikosida. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena. Glikosida saponin terbentuk dari gula sebagai *glycone* dan sapogenin sebagai *aglycone*. Berdasarkan pada struktur kimia dari aglikonnya, glikosida saponin dibagi menjadi 2 jenis yaitu saponin netral dan saponin asam. Saponin netral merupakan turunan dari steroid dengan rantai samping spiroketal, sedangkan saponin asam memiliki struktur triterpenoid. Kedua jenis saponin mempunyai struktur kimia sebagai berikut^{52,53} :



Gambar 5.3. Struktur kimia saponin

Saponin yang terdapat dalam belimbing wuluh diduga merupakan jenis saponin asam. Kemiripan struktur antara saponin netral yang merupakan turunan steroid dan saponin asam yang memiliki struktur triterpenoid membuat adanya kompetisi pengikatan reseptor antara keduanya. Adanya kemiripan struktur kimia antara saponin yang termasuk golongan triterpena yang terkandung didalam buah belimbing wuluh dengan testosteron (steroid) memungkinkan terjadinya kompetisi pengikatan reseptor antara testosteron dengan saponin triterpena⁵⁴.

Melalui mekanisme hormonal, jika yang terikat pada reseptor sel hipofisis adalah saponin triterpena, maka kemungkinan terjadi gangguan pengaturan gen pada inti sel yang pada gilirannya akan menghambat produksi hormon gonadotropin yaitu LH dan FSH. Hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig memerlukan *Luteinizing Hormone* (LH) untuk merangsang produksinya. Adanya hambatan pada sekresi LH menyebabkan sel Leydig dalam testis tidak dapat memproduksi hormon testosteron secara optimal, sehingga kadar testosteron bebas dalam darah menurun^{25,27,29,55}.

b. Senyawa pektin

Senyawa pektin dapat berkhasiat sebagai zat aktif, karena pektin merupakan salah satu senyawa penyusun kompleks polimer dari karbohidrat yang disebut juga serat-serat nabati. Struktur serat nabati ini terdiri dari rantai-rantai hemi-selulosa dan berupa bunga karang yang dapat menyerap dan mengikat molekul-molekul air, sehingga dapat mengembang. Serat yang telah mengembang dapat menyerap asam empedu dan mineral-mineral untuk kemudian dikeluarkan bersama feses⁵⁶. Tanpa asam empedu ini, resorpsi kolesterol menjadi sangat berkurang, sehingga kadarnya dalam plasma menjadi menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Herlih¹⁸. Penurunan kadar kolesterol plasma akan mengakibatkan penurunan kadar testosteron bebas karena testosteron merupakan hasil sintesis dari kolesterol. Jalur sintesis kolesterol adalah melalui pregnenolon, kemudian berubah menjadi 17-OH-pregnenolon, selanjutnya menjadi androstenediol dan terakhir menjadi testosteron²².

c. Asam Oksalat

Kandungan lain buah belimbing wuluh yang dapat menyebabkan penurunan kadar testosteron bebas pada tikus jantan galur wistar adalah asam oksalat. Asam oksalat diketahui mempunyai kemampuan sebagai *adstringensia* yaitu mengerutkan jaringan dan mengecilkan pori-pori⁵⁶. Pengerutan ini yang kemungkinan besar menyebabkan terjadinya atropi sel Leydig. Kolesterol sebagai bahan dasar untuk biosintesis testosteron disintesis di dalam sel Leydig dan testosteron dibentuk oleh sel interstitial Leydig yang terletak pada interstitial antara tubulus seminiferus dan membentuk sekitar 20% massa testis dewasa sehingga keadaan sel Leydig yang

mengalami atrofi akan menyebabkan penurunan produksi testosteron dan pada akhirnya juga menurunkan kadar testosteron bebas^{20,21,22}.

Pengukuran kadar testosteron bebas lebih spesifik bila dibandingkan dengan pengukuran kadar testosteron total, karena testosteron bebas lebih kecil jumlahnya tetapi lebih aktif dalam melakukan aktifitas biologis dengan memasuki sel target dan berikatan dengan reseptor. Secara normal testosteron bebas akan berikatan langsung dengan androgen reseptor atau berubah menjadi bentuk aktif yang lain yaitu *5 α -dihydrotestosterone* (DHT). Setelah melepaskan *heat shock protein* (hsp) reseptor memasuki inti sel berikatan dengan nukleotida yang spesifik pada kromosom DNA dan mempengaruhi aktifitas transkripsi pada gen yang sesuai serta menghasilkan efek androgen^{14,25,57,58}.

5.2.2. Libido

Uji libido tikus jantan ini dilakukan dengan cara menghitung jumlah pendekatan dan penunggang. Cara tersebut dipilih karena dianggap dapat lebih langsung melihat secara nyata tingkah laku seksual pada tikus. Penelitian-penelitian terdahulu tentang efek tanaman terhadap libido pada hewan coba tikus juga pernah dilakukan oleh Fuad dan Kartawinata^{30,51}. Akan tetapi penelitian-penelitian tersebut tidak mengikutsertakan faktor-faktor yang mempengaruhi libido tikus jantan yang muncul dari tikus betina. Munculnya libido tikus dipengaruhi oleh beberapa faktor yang menentukan seperti faktor hormonal, kondisi tubuh, dan umur, faktor luar seperti faktor non hormonal, suhu ruangan, keadaan cahaya dalam ruangan, luas kandang, serta faktor tikus betina seperti faktor hormonal dan aroma tubuh^{38,39}.

Dalam penelitian ini faktor-faktor yang menentukan seperti tersebut diatas dikendalikan oleh peneliti.

Pemberian aquadest pada kelompok I dan ekstrak belimbing wuluh pada kelompok II dan kelompok III dilakukan secara oral sebanyak 1,5 ml setiap hari sebanyak 1X pada sore hari 1 jam sebelum pengumpulan data libido pada tikus selama 10 hari. Jumlah pendekatan (*introduksi*) dan penunggang (*climbing*) mengalami penurunan bermakna pada kelompok II dibandingkan dengan kelompok I, antara kelompok III dibandingkan dengan kelompok I, demikian juga antara kelompok III dibandingkan dengan kelompok II mengalami penurunan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak belimbing wuluh pada dosis 20 gr/kg BB dan dosis 40 gr/kgBB dapat menurunkan aktivitas libido secara bermakna pada dosis yang berbeda, sehingga pemanfaatan belimbing wuluh untuk mengatasi masalah hiperseksual dapat menggunakan dosis kecil yaitu 20 gr/kgBB.

Libido yang dipengaruhi faktor hormonal berkaitan erat dengan hormon androgen, terutama testosteron. Testosteron bebas merupakan hormon yang mampu melakukan aktifitas biologis dan menghasilkan efek androgen yang dalam penelitian ini adalah efek terhadap libido. Penurunan libido dalam penelitian ini bisa disebabkan karena adanya penurunan kadar testosteron bebas pada kelompok perlakuan pemberian belimbing wuluh dengan dosis 20 gr/kgBB dan 40 gr/kgBB. Hal tersebut dikarenakan penurunan testosteron bebas menyebabkan juga sedikitnya jumlah testosteron yang diikat oleh hipotalamus dan mengakibatkan penurunan efek androgen berupa penurunan libido. Kemungkinan lain yang bisa mengakibatkan

penurunan libido adalah kompetisi pengikatan reseptor androgen di hipotalamus, antara testosteron dan saponin triterpen yang terdapat pada belimbing wuluh. Mengingat bahwa hipotalamus dan korteks serebri merupakan bagian yang penting dalam pengaturan fungsi seksual, maka jika yang terikat pada reseptor androgen pada sel hipotalamus adalah saponin triterpena, maka kemungkinan terjadi gangguan pengaturan gen pada inti sel yang pada gilirannya akan mengurangi respon androgen pada hipotalamus berupa penurunan libido^{25,27,57,58}.

Pada penelitian ini, reseptor androgen yang terdapat pada sel target memainkan peran penting, sehingga seandainya memungkinkan perlu dilakukan pemeriksaan jumlah reseptor androgen pada masing-masing sel target, tetapi karena keterbatasan penelitian, maka pemeriksaan reseptor androgen tidak dilakukan.