

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.)
TERHADAP JUMLAH, VIABILITAS, MOTILITAS, DAN MORFOLOGI
SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*)**

(Skripsi)

Oleh

**Mutiara Anggita
2017061025**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) TERHADAP JUMLAH, VIABILITAS, MOTILITAS, DAN MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*)

Oleh

MUTIARA ANGGITA

Program Keluarga Berencana merupakan salah satu upaya yang masih dilakukan pemerintah untuk menekan angka kepadatan penduduk di Indonesia. Kurangnya partisipasi pria dalam program tersebut disebabkan oleh terbatasnya pilihan alat dan obat kontrasepsi pria, tanaman obat merupakan alternatif yang tepat karena efek samping yang ditimbulkannya tidak merugikan. Buah leunca (*Solanum nigrum* L.) berpotensi sebagai tanaman obat yang dapat menyebabkan infertilitas pada pria karena mengandung senyawa flavonoid, alkaloid steroid, saponin, dan tanin yang diketahui dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah leunca terhadap jumlah, viabilitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa mencit. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan teknik Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 kelompok perlakuan dan 5 ulangan. Pemberian perlakuan ekstrak etanol buah leunca pada mencit (*Mus musculus*) jantan terdiri dari K: kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol), P1: mencit yang diberi ekstrak buah leunca dengan dosis 3 mg/30 gr BB, P2: mencit yang diberi ekstrak buah leunca dengan dosis 6 mg/30 gr BB, P3: mencit yang diberi ekstrak buah leunca dengan dosis 12 mg/30 gr BB. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah, daya hidup, motilitas, dan abnormalitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*). Data dianalisis keragamannya menggunakan *Oneway* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf 5%. Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) dapat menurunkan persentase jumlah, viabilitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*). Senyawa solasodin, saponin, dan tanin menghambat produksi FSH dan LH sehingga mengganggu proses spermatogenesis yang berakibat pada penurunan kualitas spermatozoa.

Kata Kunci: Spermatozoa, Viabilitas, Motilitas, Morfologi, Buah Leunca.

ABSTRACT

THE EFFECT OF LEUNCA FRUIT EXTRACT (*Solanum nigrum* L.) ON CONCENTRATION, VIABILITY, MOTILITY, AND MORPHOLOGY OF MICE (*Mus musculus*) SPERMATOZOA

By

MUTIARA ANGGITA

The family planning program is one of the government's ongoing efforts to reduce population density in Indonesia. The lack of male participation in the program is due to the limited choice of male contraceptive tools and drugs, medicinal plants are the right alternative because the side effects they cause are not detrimental. Leunca fruit (*Solanum nigrum* L.) has the potential as a medicinal plant that can cause infertility in men because it contains flavonoid compounds, steroidal alkaloids, saponins, and tannins which are known to reduce the quality of spermatozoa. This study aims to determine the effect of leunca fruit extract on the number, viability, motility, and morphology of mice spermatozoa. This study is an experimental study using the Complete Randomized Design (CRD) technique with 4 treatment groups and 5 replicates. The treatment of ethanol extract of leunca fruit in male mice (*Mus musculus*) consisted of K: untreated group (control), P1: mice treated with leunca fruit extract at a dose of 3 mg/30 g BW, P2: mice treated with leunca fruit extract at a dose of 6 mg/30 g BW, P3: mice treated with leunca fruit extract at a dose of 12 mg/30 gr BW. The parameters observed in this study were the number, viability, motility, and abnormality of mice spermatozoa (*Mus musculus*). Data were analyzed for diversity using Oneway ANOVA and continued with BNT test at 5% level. The results of the analysis showed that the administration of ethanol extract of leunca fruit (*Solanum nigrum* L.) can reduce the percentage of number, viability, motility, and morphology of mice spermatozoa (*Mus musculus*). Solasodin, saponin, and tannin compounds inhibit the production of FSH and LH, thus disrupting the process of spermatogenesis which results in a decrease in spermatozoa quality.

Keywords: Spermatozoa, Viability, Motility, Morphology, Leunca Fruit.

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.)
TERHADAP JUMLAH, VIABILITAS, MOTILITAS, DAN MORFOLOGI
SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*)**

Oleh

MUTIARA ANGGITA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar

SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2024

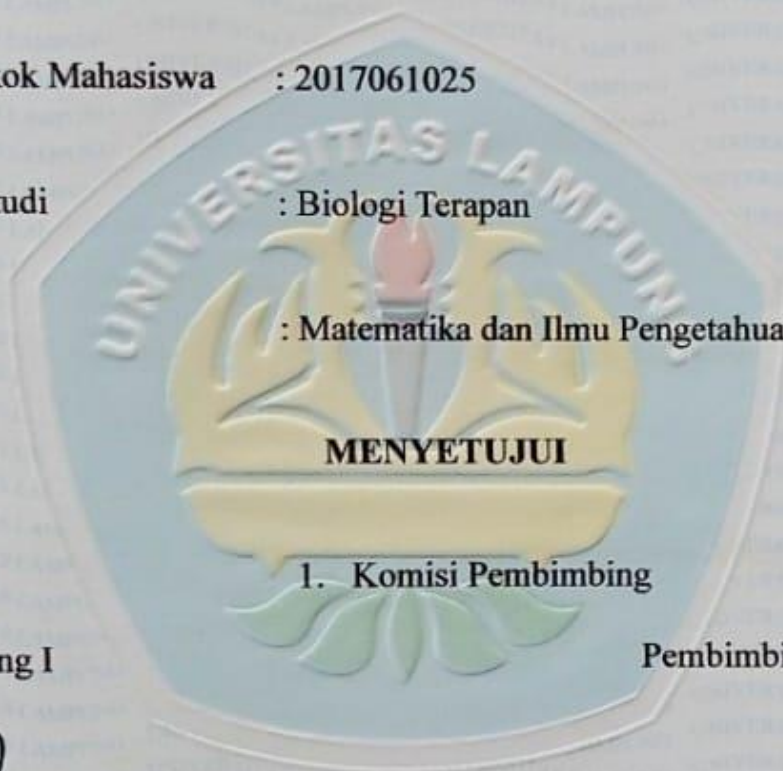
Judul Skripsi : PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH
LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) TERHADAP
JUMLAH, VIABILITAS, MOTILITAS, DAN
MORFOLOGI SPERMATOZOA MENCIT (*Mus
musculus*).

Nama Mahasiswa : *Mutiara Anggita*

Nomor Pokok Mahasiswa : 2017061025

Program Studi : Biologi Terapan

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001

Pembimbing II

Drs. M. Kanedi, M. Si.
NIP. 196101121991031002

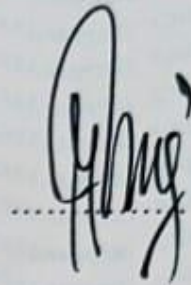
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

Dr. Jani Mastér, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua

: Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc.



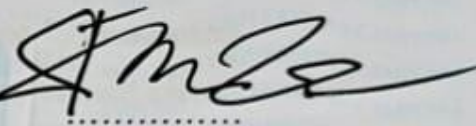
Anggota

: Drs. M. Kanedi, M. Si.



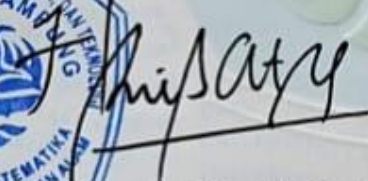
Penguji Utama

: Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M. Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 24 April 2024

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mutiara Anggita

NPM : 2017061025

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujur-jujurjurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Jumlah, Viabilitas, Motilitas, dan Morfologi Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*)”

Adalah benar merupakan karya saya sendiri, baik gagasan, data, maupun pembahasannya. Karya ilmiah ini adalah hasil dari pengetahuan dan informasi yang saya dapatkan, karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya seseorang.

Dengan demikian karya ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini. Saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 01 April 2024



Mutiara Anggita
NPM. 2017061025

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 03 Mei 2001, anak tunggal dari pasangan Bapak Andi Tiya Warman, S.E. dan Ibu Dewi Sukmawati. Penulis saat ini beralamat di Tanjung Agung, Kecamatan Tanjung Karang Timur, Kota Bandar Lampung.

Penulis memulai pendidikan Sekolah Dasarnya di SD Negeri 1 Sawah Brebes Bandar Lampung pada tahun 2008. Namun karena beberapa hal penulis terpaksa pindah dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasarnya pada tahun 2014 di SD Negeri 2 Sawah Lama Bandar Lampung, dilanjutkan dengan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 5 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2017, kemudian penulis melanjutkan pendidikannya di SMA Negeri 9 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2020. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi Terapan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Teknik Biologi Molekuler, Biosistematika, dan Rekayasa Genetika. Penulis juga aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada tahun 2020, penulis menjabat sebagai Sekretaris Bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada tahun 2021. Penulis juga aktif dalam Badan Eksekutif Mahasiswa pada tahun 2021

sebagai staff ahli Administrasi dan Kesejahteraan Mahasiswa, serta aktif berkontribusi sebagai panitia Karya Wisata Ilmiah (KWI) tahun 2021 dan 2022.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan pada bulan Januari – Februari tahun 2023 di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Veteriner Lampung, dan telah menyelesaikan Laporan Praktik Kerja Lapangannya dengan judul “Uji Cemarkan *Salmonella* sp. Pada Daging Ayam Broiler dari Rumah Potong Unggas Kabupaten Lampung Selatan di Balai Veteriner Lampung”. Kemudian melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Juni-Agustus 2023 di Desa Munca, Teluk Pandan, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung.

MOTTO

”Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), maka tepleh bekerja keras (untuk urusan yang lain)”

-Q.S. Al-Insyirah, 94: 6-7-

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

-Q.S. Al-Baqarah, 2: 286-

“I gave my blood, sweat, and tears for this”

“Long Short story, I survived”

-Taylor Swift-

“ Work until you don’t have to introduce yourself”

“Motivasi tanpa aksi hanyalah halusinasi”

“Bekerja keraslah hingga bisa menertawakan kesulitan di hari ini”

-Mutiara Anggita-

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

*Dengan mengucap rasa syukur atas rahmat dan ridho Allah SWT.
kupersembahkan karya kecilku ini kepada:*

PAPA tercinta yang senantiasa berdoa dan memotivasi putri kecilnya hingga kuat melewati semuanya dan sampai di jenjang ini, dengan keikhlasan dan segala daya upaya yang beliau lakukan tanpa kenal lelah.

Bapak dan Ibu dosen yang telah memberikan ilmunya yang bermanfaat dan membimbingku dengan penuh kesabaran dan keikhlasannya.

Untuk Febrian Aditia Mulawarman yang selalu memberikan dukungan dan menemani dalam suka maupun dukaku.

Para sahabat, teman-teman, kakak-kakak, dan adik-adik tercinta yang ikut mengisi kehidupanku di dunia perkuliahan ini.

Serta Almamaterku tercinta, Unila.

SANWACANA

Alhamdulillahilalalamiin,

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, tak lupa sholawat beriring salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya. Semoga kita tergolong umatnya yang mendapat pertolongan di hari akhir kelak.

Skripsi dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum*) terhadap Jumlah, Viabilitas, Motilitas, dan Morfologi Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si) di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan karya ini, penulis mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M. Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Univeritas Lampung.
4. Ibu Gina Dania Pratami, S. Si., M. Si. selaku Ketua Program Studi Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung.

5. Bapak Ir. Salman Farizi, M.Si. selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing dari awal penulis memulai perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.
6. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku pembimbing utama atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran, dan kritik selama proses pembuatan karya ini.
7. Bapak Drs. M. Kanedi, M. Si. selaku pembimbing kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran, dan kritik selama proses pembuatan karya ini.
8. Bapak Prof. Dr. Sutjarso, M. Biomed. selaku dosen penguji utama pada ujian skripsi yang telah memberikan kritik dan saran yang bersifat membangun, serta membimbing selama penyelesaian karya ini.
9. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang juga berjasa selama penulis menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.
10. Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada papa tercinta bapak Andi Tiya Warman, S.E. yang telah memberikan banyak dukungan baik moral maupun materi serta doa dan kasih sayang yang selalu menyertai penulis. Tak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada ketiga orang tua, yaitu Ibu Dewi Sukmawati dan Bapak Budi Setiawan, serta Ibu Sri Haryanti.
11. Adik-adikku tercinta Nazwa Khumaira Nirmala, Azzam, Nur Aini Febriani, Nur Azizah Ramadhani, dan M. Faishal Imamul Hakim yang telah memberikan semangat, doa, serta tempat berbagi canda tawa.
12. Febrian Aditia Mulawarman yang telah memberikan waktunya untuk membantu penulis menyelesaikan karya ini, juga mendampingi, memberi dukungan dan motivasi, serta menjadi tempat untuk berkeluh kesah.
13. Putri Lestari teman seperjuangan penulis sejak melaksanakan Praktik Kerja Lapangan hingga menyelesaikan skripsi.
14. Nabila Farahdhia dan Andriyani Wijaya Kusuma teman berbagi cerita kehidupan kampus yang selalu memberi dukungan dan semangat.

15. Sahabat tercinta Diyu Pakerti Osami, Mila Oktaviani, dan Rini Wijaningsih yang setia mendampingi penulis sejak SMP hingga dapat menyelesaikan karya ini.
16. Anggota grup CAPEK Hudani Nadila, Resya Tamara Agustin, Nurshella apharta, Wulan Meri Susanti, Raden Fadly Bayu Dwiyoga, dan Muhammad Febriansyah yang juga mengisi dunia kehidupan kampus penulis, memberi dukungan, dan berkembang bersama penulis sejak mulai memasuki dunia kampus hingga dapat menyelesaikan perkuliahaan di Universitas Lampung.
17. Kepada kakak-kakak dan adik-adik tersayang yang telah memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.
18. Terimakasih juga kepada Taylor Swift, Bruno Mars, dan Hindia yang telah menemani penulis menyelesaikan skripsi ini melalui lagu-lagu indahny.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, dengan segala keterbatasan pengetahuan dan pengalaman yang masih harus ditingkatkan agar lebih baik lagi kedepannya. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima segala kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang membacanya, secara khusus untuk berbagai pihak yang berkaitan dalam bidang *Science*.

Bandar Lampung, 01 April 2024

Penulis,

Mutiara Anggita

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
PERSETUJUAN.....	iii
PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	v
RIWAYAT HIDUP.....	vi
MOTTO	viii
PERSEMBAHAN.....	ix
SANWACANA.....	x
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan.....	4
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
1.4. Kerangka Pemikiran	4
1.5. Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tanaman Leunca (<i>Solanum nigrum</i> L.).....	7
2.1.1. Klasifikasi	7
2.1.2. Morfologi	7
2.1.3. Kandungan Bioaktif.....	9
2.1.4. Manfaat	11

2.1.5. Ekstrak Etanol Buah Leunca.....	12
2.2. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	13
2.2.1. Klasifikasi	13
2.2.2. Anatomi dan Fisiologi.....	14
2.2.3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan.....	15
2.2.4. Hormon Reproduksi Mencit Jantan	18
2.3. Spermatozoa	19
2.3.1. Viabilitas Spermatozoa	20
2.3.2. Motilitas Spermatozoa	21
2.3.3. Morfologi Spermatozoa	23
III. METODE PENELITIAN.....	26
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2. Alat dan Bahan	26
3.2.1. Alat	26
3.2.2. Bahan	27
3.3. Prosedur Penelitian	28
3.3.1. Rancangan Penelitian.....	28
3.3.2. Persiapan Hewan Uji.....	28
3.3.3. Pembuatan Ekstrak Buah Leunca	29
3.3.4. Pemberian Perlakuan	30
3.3.5. Parameter Penelitian	31
3.3.6. Pengambilan Data	31
a. Perhitungan Jumlah Spermatozoa.....	32
b. Viabilitas Spermatozoa	32
c. Motilitas Spermatozoa	33
d. Morfologi Spermatozoa.....	34
3.3.7. Analisis Data	34
3.3.8. Diagram Alir Metode Penelitian	36
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1. Hasil dan Analisis Data	38
4.2. Pembahasan	46
V. PENUTUP.....	56
5.1. Kesimpulan.....	56
5.2. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jumlah Spermatozoa Mencit yang diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca	37
2. Persentase Viabilitas Spermatozoa Mencit yang diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca	38
3. Persentase Motilitas Spermatozoa Mencit yang diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca	41
4. Persentase Morfologi Spermatozoa Mencit yang diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca	42
5. Data Kelompok Perlakuan pada Jumlah, Viabilitas, Motilitas, dan Morfologi spermatozoa Mencit (<i>Mus musculus</i>)	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. (a) Daun Leunca, (b) Bunga Leunca (Go Botany, 2023)	8
2. Buah <i>Solanum nigrum</i> L. (India Biodiversity, 2020)	8
3. Rumus Molekul Solasodin	9
4. Rumus Molekul Testosteron.....	10
5. Morfologi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	15
6. Organ Reproduksi Mencit Jantan (Akbar, 2018)	16
7. Sistem Reproduksi Mencit Jantan (Nugroho, 2018)	18
8. A. Spermatozoa Mati, B. Spermatozoa Hidup (Nugroho, 2018)	21
9. Morfologi Spermatozoa Mencit (Kwitny, 2010).....	23
10. Morfologi Spermatozoa Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	24
11. <i>Haemocytometer Improved Neubauer</i> (Elwinda, 2011)	32
12. Diagram Alir Penelitian.....	36
13. Viabilitas Spermatozoa Mencit Kontrol (Diberi <i>Aquabidest</i>)	39
14. Viabilitas Spermatozoa yang Diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca 3 mg/30grBB	39
15. Viabilitas Spermatozoa yang Diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca 6 mg/30grBB	40
16. Viabilitas Spermatozoa yang Diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca 12 mg/30grBB	40
17. Morfologi Spermatozoa Mencit Kontrol (Diberi <i>Aquabidest</i>).....	43
18. Morfologi Spermatozoa Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca Dosis 3 mg/30grBB.....	44
19. Morfologi Spermatozoa Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca Dosis 6 mg/30grBB.....	44

20. Morfologi Spermatozoa Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Buah Leunca Dosis 12 mg/30grBB 6.....	45
--	----

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia masih memiliki beragam masalah sosial, seperti tingginya tingkat kriminalitas, tingginya angka *stunting*, dan masih tingginya tingkat kemiskinan. Salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya hal tersebut adalah kepadatan penduduk yang cukup tinggi. Indonesia menempati urutan ke-4 di dunia sebagai negara dengan kepadatan penduduk tertinggi (Worldometer, 2023). Berdasarkan hasil Sensus Penduduk (SP) yang dilakukan pada bulan September 2020, Badan Pusat Statistik (2020) mencatat sebanyak 270,20 juta jumlah penduduk Indonesia, bertambah sebanyak 32,56 juta jiwa dibandingkan SP 2010. Persentase laju pertumbuhan penduduk selama periode tahun 2010-2020 sebesar 1,25%, lebih kecil jika dibandingkan dengan periode tahun 2000-2010 yaitu sebesar 1,49%. Hal tersebut sejalan dengan data meningkatnya penggunaan kontrasepsi terhitung sejak tahun 2010, pemerintah menggalangkan program Keluarga Berencana (KB) sebagai salah satu bagian dari program pembangunan nasional (Riskesdes, 2010).

Program keluarga berencana yang digalangkan oleh pemerintah terbagi menjadi 2, yaitu keluarga berencana *modern* dan tradisional. Program keluarga berencana modern meliputi penggunaan obat-obatan sintesis seperti pil, suntikan, IUD, implant, kondom, sterilisasi wanita (tubektomi), sterilisasi pria (vasektomi), aborsi, dan intra-vagina. Sedangkan program keluarga berencana tradisional diantaranya menggunakan pantang berkala,

senggama terputus, pijat atau urut, dan konsumsi jamu-jamuan (Supriati, 2009). Namun penggunaan KB modern memiliki banyak efek samping yang merugikan dan menyakitkan karena menggunakan obat-obatan sintesis yang berhubungan langsung dengan hormonal, seperti menyebabkan kenaikan ataupun penurunan berat badan secara drastis, pendarahan, hipertensi, sakit kepala, haid tidak lancar, dan mual. Selain itu partisipasi pria dalam program KB juga masih sangat rendah, hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor seperti budaya yang menganggap KB pada pria merupakan hal yang tidak lumrah untuk dilakukan, serta masih terbatasnya pelayanan kontrasepsi pria seperti pil KB atau vasektomi yang membutuhkan biaya lebih mahal dibandingkan dengan alat kontrasepsi wanita (Santoso, 2009). Oleh karena itu penggunaan bahan herbal sebagai obat kontrasepsi pria merupakan pilihan tepat karena efek samping yang rendah, toksisitas rendah, murah dan mudah diperoleh (Zahrina, 2015).

Masyarakat kembali memanfaatkan bahan-bahan herbal alami atas kesadarannya untuk kembali ke alam sebagai bagian dari pola hidup sehat. Tidak hanya di Indonesia, KB tradisional yang menggunakan tumbuhan herbal telah dimanfaatkan oleh hampir seluruh negara di dunia. Di negara berkembang persentase masyarakat yang menggunakan obat herbal sebesar 80%, sedangkan negara maju sebesar 65% (Aminah dkk, 2016). Salah satu tumbuhan yang diduga merupakan agen antifertilitas adalah buah *Solanum nigrum* L. atau lebih dikenal dengan nama lokal buah leunca.

Leunca (*Solanum nigrum* L.) tanaman yang biasa dikonsumsi masyarakat Indonesia sebagai lalapan ternyata memiliki efek antifertilitas bagi pria. Buah *Solanum nigrum* L. mengandung tanin, saponin, solasodin, dan flavonoid. Diketahui solasodin merupakan golongan alkaloida yang dapat mempengaruhi spermatogenesis karena sifatnya dapat menekan sekresi hormon reproduksi yang diperlukan untuk spermatogenesis. Solasodin termasuk ke dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis dan mempengaruhi kualitas sperma. Pemberian solasodin yang diperoleh dari ekstrak buah leunca dapat berperan sebagai agen

antifertilitas mencit jantan ditandai dengan penurunan jumlah spermatozoa, penurunan daya hidup spermatozoa, penurunan motilitas, dan meningkatnya spermatozoa dengan morfologi abnormal. Senyawa solasodin juga diduga dapat menekan fungsi hipofisis anterior untuk mensekresikan *Luteinizing Hormon* (LH) dan *Folikel Stimulating Hormon* (FSH). Penurunan LH menyebabkan penurunan produksi testosteron pada sel Leydig (Nugroho, 2019). Kandungan dalam buah leunca ikut masuk ke dalam jalur biosintesis steroid terutama testosteron sehingga akan dihasilkan bahan yang strukturnya mirip testosteron. Bahan antiandrogen bekerja secara kompetitif pada lokasi reseptor jaringan sasaran untuk menghalangi aksi steroid androgen (Nurliani dkk, 2005).

Luteinizing Hormon (LH), *Folikel Stimulating Hormon* (FSH), estrogen, dan *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH) memiliki peran penting dalam pembentukan dan pematangan spermatozoa, serta mencakup semua peristiwa perubahan spermatogonia menjadi spermatozoa yang berlangsung di epitel tubulus seminiferus (Zahrina, 2015). Kandungan pada buah leunca dapat mengganggu seluruh proses tersebut dan berakibat pada keadaan ketidaksuburan pada pria.

Infertilitas pada pria dapat diketahui dengan melihat jumlah, daya hidup, kemampuan bergerak, dan bentuk sperma yang dihasilkan oleh testis. Penurunan jumlah sperma yang berhubungan dengan ketidakmampuan fungsi sekresi sel Sertoli dan sel Leydig menyebabkan ketidaksempurnaan proses spermatogenesis dan pematangan sperma pada epididimis sehingga menyebabkan penurunan viabilitas, motilitas, dan peningkatan kelainan morfologi sperma (Busman dkk, 2021). Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui Pengaruh ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap jumlah, viabilitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*).

1.2. Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap jumlah spermatozoa mencit.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap viabilitas spermatozoa mencit.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap motilitas spermatozoa mencit.
4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap morfologi spermatozoa mencit.

1.3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat dalam bidang kesehatan sebagai sumber acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut guna menemukan obat kontrasepsi alternatif bagi pria yang dapat menyebabkan infertilitas namun dengan toksisitas dan efek samping yang rendah.

Dalam bidang akademis, hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah bahan literatur mengenai pengaruh ekstrak buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*).

1.4. Kerangka Pemikiran

Pertambahan jumlah penduduk yang sangat pesat di Indonesia dapat menimbulkan berbagai masalah terutama pada angka kriminalitas yang semakin tinggi. Untuk mengatasi hal tersebut, pemerintah menggalakkan program Keluarga Berencana (KB) dengan memperkenalkan berbagai alat

kontrasepsi wanita. Namun alat kontrasepsi wanita belum menjadi pilihan yang tepat bagi masyarakat dikarenakan efek samping yang ditimbulkan bersifat sangat merugikan, sehingga masyarakat beralih ke KB tradisional seperti jamu-jamuan. Selain itu, saat ini partisipasi pria dalam menjalani program tersebut masih rendah dikarenakan kurangnya informasi mengenai obat tradisional yang berkhasiat sebagai antifertilitas tanpa menimbulkan efek samping yang berarti.

Buah leunca (*Solanum nigrum* L.) merupakan buah yang biasa dijadikan lalapan, ternyata mengandung senyawa antifertilitas seperti tanin, saponin, solasodin, dan flavonoid. Solasodin adalah senyawa alkaloida steroid yang dapat mempengaruhi spermatogenesis karena dapat menekan sekresi hormon reproduksi yang diperlukan untuk keberlangsungan spermatogenesis. Sedangkan saponin termasuk ke dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis. Berdasarkan kandungannya dapat dikatakan bahwa buah leunca dapat menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*), ditandai dengan terjadinya abnormalitas pada morfologi spermatozoa, menurunnya motilitas dan daya hidup sperma sehingga sperma tidak akan mencapai sel telur dan pembuahan tidak dapat terjadi.

Pada penelitian ini digunakan 20 ekor mencit jantan yang diaklimatisasi selama 7 hari dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan 5 pengulangan. Mencit diberi perlakuan dengan cara dicekok ekstrak etanol buah leunca dengan dosis berbeda sesuai perlakuan setiap harinya pada pukul 08.00 WIB selama 35 hari. Pada hari ke-36 dilakukan pembedahan pada *cauda epididymis* untuk diambil spermatozoanya guna mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah leunca terhadap kualitas spermatozoa mencit. Parameter yang digunakan untuk pengamatan adalah jumlah spermatozoa, viabilitas, motilitas, dan morfologi. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya. Selanjutnya dilakukan pengumpulan data dan analisis data yang diperoleh.

1.5. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak etanol buah leunca secara oral pada mencit dapat menurunkan jumlah spermatozoa.
2. Pemberian ekstrak etanol buah leunca secara oral pada mencit dapat menurunkan persentase viabilitas spermatozoa.
3. Pemberian ekstrak etanol buah leunca secara oral pada mencit dapat menurunkan persentase motilitas spermatozoa.
4. Pemberian ekstrak etanol buah leunca secara oral pada mencit dapat menurunkan persentase morfologi spermatozoa normal.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.)

2.1.1. Klasifikasi

Leunca dalam ilmu taksonomi dikenal sebagai *Solanum nigrum* Linn dan digolongkan dalam keluarga Solanaceae (labu-labuan). Menurut Tjitrosoepomo (2007) klasifikasi tanaman leunca (*Solanum nigrum* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Solanales

Family : Solanaceae

Genus : *Solanum*

Species : *Solanum nigrum* L.

2.1.2. Morfologi

Solanum nigrum L. atau yang lebih dikenal dengan nama lokal leunca merupakan sayuran *indigenous* yang berasal dari Amerika Selatan (Siemonsa & Jensen, 1994). Leunca tersebar di berbagai kawasan Asia, Afrika Selatan, dan beberapa negara Eropa. Di Indonesia leunca tersebar di beberapa pulau yaitu Pulau Jawa, Sumatera dan di daerah

Indonesia bagian Timur dengan nama lokal yang berbeda. Tanaman leunca termasuk ke dalam golongan semak, dengan tinggi sekitar 25-150 cm. Memiliki akar tunggang dengan warna putih kecoklatan. Batang tegak dan berbentuk bulat, lunak, dan berwarna hijau. Daunnya tunggal, lonjong, dan tersebar dengan panjang 5-7,5 cm, lebar 2,5-3,5 cm seperti pada (Gambar 1a). Leunca memiliki perbungaan dengan kelopak berbentuk cangkir, mahkota putih, lobus bulat telur-lonjong, serta siliata menyebar seperti pada (Gambar 1b). Filamen berukuran 1-1,5 mm dan anter berukuran 2,5-3,5 mm. Biji berbentuk bulat pipih dengan warna putih kecoklatan (Chauchan *et al.*, 2012; Rikenawaty, 2012).



(a)

(b)

Gambar 1. (a) Daun Leunca, (b) Bunga Leunca (Go Botany, 2023)

Leunca memiliki daun dengan tangkai yang panjangnya sekitar 1 cm, berwarna hijau. Buahnya berbentuk bulat, jika masih muda warnanya hijau dan berwarna hitam mengkilat jika sudah tua, ukurannya sebesar kacang kapri (Rikenawaty, 2012). Buah leunca dapat dilihat pada Gambar 2.



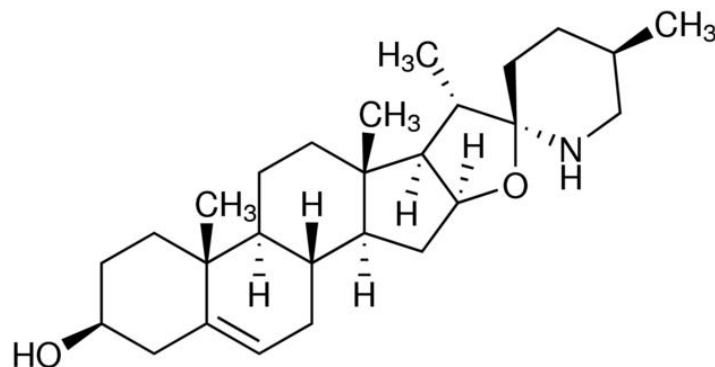
Gambar 2. Buah *Solanum nigrum* L. (India Biodiversity, 2023)

2.1.3. Kandungan Bioaktif

Buah leunca merupakan salah satu buah yang sering digunakan sebagai lalapan bagi masyarakat Indonesia. Buah dari tanaman ini mengandung banyak komponen nutrisi seperti mineral, vitamin, dan protein. Buah leunca juga mengandung banyak senyawa-senyawa lain seperti flavonoid, asam fenolik, saponin, alkaloid, tanin yang dapat berperan sebagai senyawa antifertilitas (Halim *et al.*, 2018).

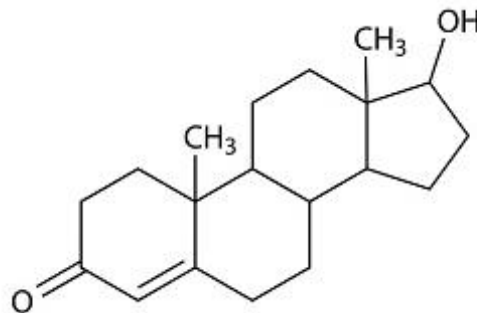
Penelitian yang dilakukan oleh Gogoi dan Islam (2012) menunjukkan bahwa buah leunca memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Alkaloid yang terkandung pada daun yaitu solasodin dan solamargin, sedangkan pada buah terdapat solanin, solamargin, solasonin, α dan β solanigrin, dan solasodin, serta solanin pada biji tanaman leunca (Karmakar *et al.*, 1970).

Senyawa alkaloid mengandung nitrogen dan merupakan turunan dari isoprenoid, anggota terpenting dalam golongan ini adalah alkaloid nakanitum dan alkaloid steroid. Alkaloid solanum (solasodin) adalah senyawa alkaloid steroid yang mengandung satu atom nitrogen dalam siklik dan bersifat basa. Solasodin adalah senyawa yang dapat mempengaruhi spermatogenesis karena dapat menekan sekresi hormon reproduksi yang diperlukan untuk berlangsungnya spermatogenesis.



Gambar 3. Rumus Molekul Solasodin

Solasodin memiliki rumus molekul $C_{27}H_{43}O_2N$ yang dapat dilihat pada (Gambar 3), senyawa ini bersifat kompetitif terhadap reseptor *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), sehingga pelepasan FSH dari hipofisis terganggu. FSH berperan memacu sintesis androgen binding protein pada *Sertoli cells*. Solasodin akan masuk ke dalam jalur biosintesis steroid yaitu testosteron karena memiliki struktur yang mirip dengan testosteron (Gambar 4). Protein ini akan berikatan dengan testosteron di dalam lumen tubulus seminiferus testis guna menunjang keberlangsungan spermatogenesis. Untuk keberlangsungan proses spermatogenesis diperlukan keseimbangan hormonal pada poros hipotalamus-hipofisis-testis (Hariana, 2006).



Gambar 4. Rumus Molekul Testosteron

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air serta pada jumlah yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin termasuk ke dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis (Iryani, 2017). Selain itu saponin juga berpengaruh terhadap fertilitas mencit betina karena dapat memperbaiki sel sel granulosa yang mampu menghambat sekresi hormon gonadotropin yang menyebabkan folikel tidak dapat berkembang. Sel-sel granulosa pada folikel ovarium mengsekresikan suatu inhibitor yang berperan sebagai penghambat sintesis dan sekresi gonadotropin khususnya *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Akibatnya perkembangan folikel akan terhambat dan ovum tidak dapat dibentuk (Hervista, 2017). Saponin juga memberi umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis yang

menyebabkan penurunan jumlah spermatisit dan spermatid, sehingga spermatozoa yang dihasilkan sedikit (Nurcahyani dkk, 2018).

Senyawa aktif tanin diduga berperan dalam menurunkan jumlah sel spermiogenesis. Menurut Susetyarini (2013) tanin bersifat sitotoksik sedangkan flavonoid, saponin, alkaloid dan triterpenoid bersifat hormonal. Senyawa aktif tanin diduga berperan dalam menurunkan jumlah sel spermiogenesis.

Flavonoid pada buah leunca dapat memberikan *feedback* negatif sehingga dapat menurunkan sekresi hormon testosteron pada sel Leydig dan dapat menyebabkan gangguan pada keseimbangan hormonal dalam tubuh. Akibatnya terjadi peningkatan morfologi abnormal pada spermatozoa (Indriyani dkk, 2021).

Spermatogenesis bergantung pada jumlah hormon gonadotropin yaitu *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), *Luteinizing Hormone* (LH), dan testosteron. Hormon gonadotropin berfungsi dalam mengontrol proses seluler pada sistem reproduksi seperti mengatur aliran ion-ion, aktivitas enzim, sintesis protein, sintesis dan sekresi hormon testosteron, proliferasi dan diferensiasi sel germinal, maturasi spermatozoa, serta aktivitas antar sel (Sutyarso & Busman, 2003).

2.1.4. Manfaat

Leunca telah banyak digunakan di berbagai negara sebagai obat herbal. Ravi *et al.*, (2009) dalam penelitiannya menyatakan bahwa masyarakat India memanfaatkan buah leunca sebagai obat demam, diare, penyakit mata, dan penyakit jantung. Beberapa manfaat leunca lainnya secara empiris dilaporkan dari beberapa negara. Masyarakat Eropa menggunakan leunca sebagai obat konvulsi, di Jerman digunakan sebagai obat tidur khususnya untuk anak-anak, di Amerika Utara masyarakat memanfaatkan rebusan akar tanaman leunca sebagai obat

cacing dan untuk mengatasi kecanduan alkohol (Edmonds & Chweya, 1997). Rikenawaty (2012) melaporkan daun segar leunca dapat dimanfaatkan sebagai obat peradangan. Menurut Edmonds & Chweya (1997), masyarakat Cina menggunakan daun leunca sebagai obat detoks, antihipertensi, antikanker, dan infeksi saluran kemih. Sedangkan masyarakat India memanfaatkan seluruh bagian tanaman leunca sebagai antiseptik dan masyarakat Hawaii menggunakan tanaman leunca sebagai obat gangguan saluran pernafasan dan luka. Beberapa jenis tanaman leunca juga dipercaya untuk mengobati malaria dan disentri (Gogoi & Islam, 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh Pramitaningrum dan Sari (2020) dengan memanfaatkan buah leunca sebagai larvasidal dan molluscicidal terhadap *Culex vishnut* dan *Lymnaea* karena kandungan saponin, steroid, flavonoid dan tanin. Larva culex mati setelah diberi perlakuan ekstrak buah leunca, larva mengalami pembengkakan dan bagian tubuh menjadi mudah hancur.

Penelitian yang dilakukan oleh Iryani (2017) melaporkan bahwa ekstrak buah leunca dapat menurunkan jumlah spermatozoa pada *cauda epididymis* galur jantan, namun belum diketahui apakah berpengaruh juga terhadap morfologi dan motilitas spermatozoa.

2.1.5. Ekstrak Etanol Buah Leunca

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi karena metode tersebut merupakan salah satu metode umum dalam proses ekstraksi bahan alam, selain itu metode maserasi lebih sederhana dan mudah. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Menurut Wendersteyt dkk (2021), etanol dan air digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar, universal, dan mudah didapat.

Buah leunca yang digunakan merupakan buah yang masih mentah ditandai dengan warna buah yang masih hijau terang dan tekstur buah yang keras. Pemilihan tersebut bertujuan untuk mendapatkan kandungan metabolit sekunder yang masih tinggi karena pada buah yang sudah matang jumlah metabolit sekundernya rendah (Khaerunnisa dkk, 2022). Buah leunca mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Pelarut etanol 96% dan air sangat efektif untuk mendapatkan kandungan saponin, flavonoid, dan alkaloid (Mu'nisa *et al.*, 2013).

2.2. Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1. Klasifikasi

Mencit (*Mus musculus*) merupakan anggota dari muridae atau tikus-tikus namun memiliki ukuran yang lebih kecil dari tikus. Menurut Priyambodo (2003) klasifikasi mencit sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus</i>

2.2.2. Anatomi dan Fisiologi

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan percobaan laboratorium. Penggunaan mencit sebagai subjek percobaan berkisar 40%. Mencit banyak digunakan sebagai hewan percobaan karena memiliki beberapa kelebihan seperti siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak perkelahiran yang banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi. Selain itu, mencit dapat hidup mencapai umur 1-3 tahun (Nugroho, 2018).

Mencit termasuk mamalia pengerat yang berukuran lebih kecil dari tikus, mencit memiliki luas permukaan tubuh sekitar 36 cm² dengan berat badan 20 gram pada umur 70 hari atau 2 bulan. Sedangkan pada waktu lahir berbobot sekitar 0,5-1,5 gram yang dapat meningkat sampai 40 gram. Pada mencit betina dewasa memiliki berat badan berkisar 25-45 gram sedangkan mencit jantan dewasa memiliki berat badan berkisar antara 20-40 gram (Setijono, 1985).

Mencit merupakan kelompok mamalia dengan ciri memiliki rambut berwarna putih yang menyelubungi tubuhnya (Gambar 5), memiliki daun telinga (*pinna*), tengkorak memiliki sendi pada bagian tulang atlas melalui dua *condyles occipitalis*, memiliki gigi tua dan muda dengan gigi seri pada rahang atas yang hanya sepasang membentuk seperti pahat dan tumbuh terus, tanpa taring, eritrosit tidak bernukleus, otak dengan 4 *lobus opticus*, jumlah jari pada tiap kaki tidak lebih dari 5 dan memiliki cakar (Nugroho, 2018).

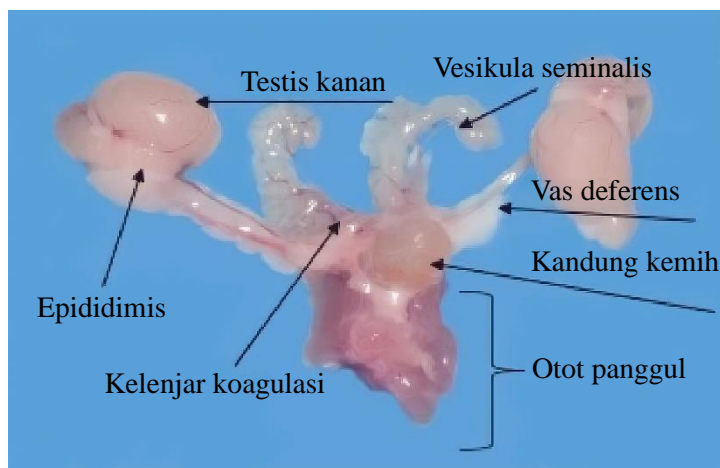


Gambar 5. Morfologi Mencit (*Mus musculus*)

Mencit memiliki masa reproduksi 1,5 tahun, dan biasanya mencit dapat hidup selama 1-2 tahun. Tempat yang optimal untuk memelihara mencit biasanya harus dijaga kebersihannya dan harus dijauhkan dari kebisingan. Umumnya mencit dapat hidup pada suhu ruang 18-19 derajat celcius, serta kelembaban udara antara 30-70%. Mencit yang digunakan dalam penelitian di laboratorium merupakan hasil perkawinan tikus putih *inbreed* (Akbar, 2010). Seekor tikus dewasa membutuhkan 15 gram makanan dan 15 ml minuman dalam satu hari per 100 gram berat badan (Malole & Pramono 1989).

2.2.3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan

Organ reproduksi mencit jantan berupa testis, kantong skrotum, epididimis, vas deferens, kelenjar aksesoris, uretra dan penis. Organ reproduksi tersebut akan mencapai kematangan seksual pada usia 10-12 minggu (Akbar, 2010). Organ reproduksi mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Organ Reproduksi Mencit Jantan (Susilo, 2018)

Testis ditutupi oleh jaringan ikat fibrous dan *tunica albuginea*, testis yang bagian tipisnya atau disebut septa akan memasuki organ untuk membelah menjadi lobus yang berisi tubulus-tubulus berkelok. Tubulus-tubulus ini disebut tubulus seminiferus, karena di dalamnya diproduksi seluruh sel germinal hewan jantan. Daerah dimana *tunica albuginea* diproyeksikan ke dalam testis, dan pada tempat dimana arteri-arteri testikuler masuk ke testis, disebut hilus. Arteri-arteri tadi akan memberi makan setiap bagian testis, dan selanjutnya mereka bersambungan dengan vena-vena testikuler dan meninggalkan testis lewat hilus (Rugh, 1968). Testis mempunyai dua fungsi yaitu spermatogenesis dan steroidogenesis. Sekitar 80% massa testis dari tubulus seminiferus yang di dalamnya berlangsung proses spermatogenesis (Sherwood, 2001).

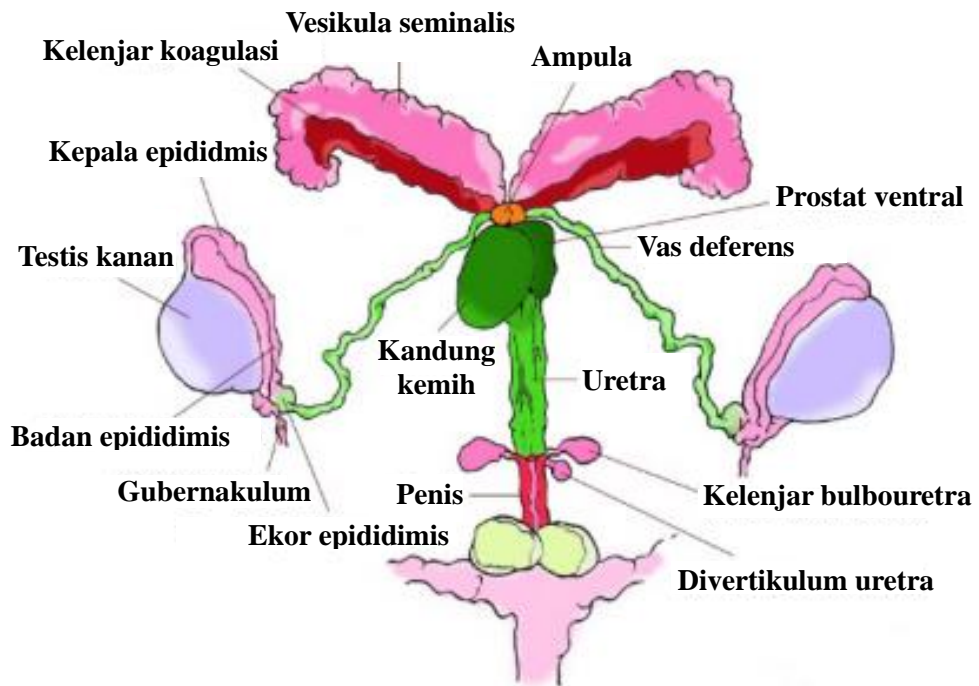
Epididimis terdiri dari bagian caput, corpus dan cauda. Epididimis berfungsi sebagai tempat pematangan atau maturasi spermatozoa dan sebagai tempat penyimpanan sementara spermatozoa. Pematangan spermatozoa ditandai dengan hilangnya protoplasmik droplet bagian kepala spermatozoa. Epididimis pada bagian caput berfungsi untuk penyerapan cairan yang dikeluarkan oleh testis. Fungsi lain epididimis adalah memberikan sekresi cairan yang diproduksi oleh sel-sel epitel untuk membantu perubahan morfologi akrosom yaitu melalui kondensasi inti, pelepasan sitoplasma, peningkatan muatan

negatif dan penambahan lapisan glikoprotein. Spermatozoa yang berasal dari epididimis akan diteruskan menuju ke vas deferens (Nugroho, 2018).

Vas deferens merupakan saluran berkelok-kelok dengan lumen yang dibatasi oleh kelompok sel epitel bersilia (Nugroho, 2018). Vas deferens atau duktus deferens mengangkut sperma dari ekor epididimis ke uretra. Dindingnya mengandung otot-otot licin yang penting dalam mekanisme pengangkutan semen pada saat ejakulasi. Pada bagian ujung vas deferens ini dikelilingi oleh suatu pembesaran kelenjar-kelenjar yang disebut ampulla. Sebelum masuk uretra, vas deferens bergabung terlebih dahulu dengan saluran pengeluaran vasikula seminalis dan membentuk duktus ejakulatorius. Dari duktus ejakulatorius kemudian berlanjut ke uretra yang merupakan saluran pengangkut sperma dari vas deferens ke penis (Akbar, 2010).

Duktus ejakulatorius memiliki otot-otot yang kuat dan berperan selama ejakulasi. Saluran ini akan bermuara pada uretra. Uretra tersusun atas sekelompok sel epitel transisional, jaringan ikat longgar, banyak terdapat pembuluh darah dan dibungkus lapisan otot lurik yang tebal (Nugroho, 2018).

Penis (alat kelamin luar) atau organ kopulasi mencit berfungsi sebagai alat pengeluaran urin dan peletakan semen ke dalam organ saluran reproduksi betina. Penis mencit terdiri dari korpus kavernosum diselubungi oleh *tunica albuginea*, yaitu suatu selaput fibrosa tebal berwarna putih dan membentuk badan penis. Kepala penis adalah bagian ujung penis yang ditutupi oleh preputium (Nugroho, 2018). Struktur reproduksi mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Sistem Reproduksi Mencit Jantan (Nugroho, 2018)

2.2.4. Hormon Reproduksi Mencit Jantan

Hormon pada mencit jantan juga sama dengan hormon pada manusia yaitu *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), yaitu hormon yang disekresi oleh hipotalamus, yang berfungsi menstimulasi kelenjar pituitary anterior untuk mensekresi gonadotropin yang terdiri dari FSH dan LH yang sangat penting dalam proses reproduksi. *Folikel Stimulating Hormone* (FSH) adalah hormon yang diproduksi oleh kelenjar pituitary anterior yang berfungsi untuk merangsang sperma. Hormon ini akan menstimulasi *Sertoli cells* sehingga spermiasi dapat terjadi (Azhar, 2013).

Luteinizing Hormon (LH) adalah hormon yang disekresi kelenjar pituitary anterior, hormon ini berfungsi menstimulasi sel Leydig untuk mengeksresi testosteron. Sel-sel Sertoli juga mensekresi suatu protein pengikat androgen yang mengikat testosteron dan estrogen serta membawa kedua hormon tersebut ke dalam cairan pada tubulus

seminiferus. Kedua hormon tersebut berfungsi untuk pematangan sperma (Iryani, 2017).

Testosteron adalah hormon seks yang berfungsi untuk membantu mempertahankan masa tulang dan otot, distribusi lemak, meningkatkan libido dan memproduksi sperma. Hormon testosteron ini disekresi oleh sel Leydig dan penting bagi tahap pembelahan sel germinal untuk membentuk sperma terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. Selanjutnya pada proses spermatogenesis terjadi proses pembelahan dan diferensiasi sel sehingga dihasilkan spermatozoa pada testis (Azhar, 2013).

2.3. Spermatozoa

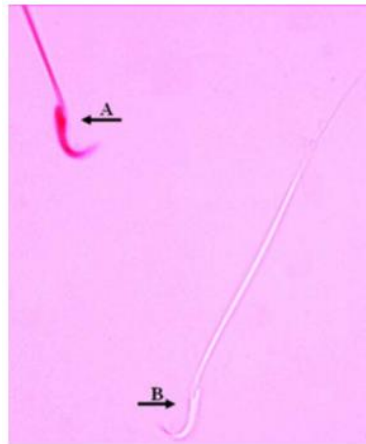
Spermatozoa atau sel sperma adalah hasil produksi dari testis yang terdiri dari beberapa sel germinal yang sudah matang. Spermatozoa bersama dengan plasma seminalis merupakan komposisi dari cairan yang dikeluarkan pada saat seorang pria mengalami ejakulasi disebut sebagai semen. Setiap hewan memiliki bentuk sel sperma yang bervariasi, seperti dapat dibedakan menjadi bagian kepala, bagian tengah, dan bagian ekor (Nugroho, 2018).

Kemampuan bereproduksi hewan jantan dapat ditentukan oleh kualitas dan kuantitas semen yang dihasilkan. Produksi semen yang tinggi dinyatakan dengan volume semen dan dosis spermatozoa yang tinggi pula. Kualitas semen yang baik dapat dilihat dari persentase spermatozoa yang normal dan motilitasnya (Hardjopranoto, 1995)

2.3.1. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah diencerkan dengan NaCl 0,9% dan merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa dari seekor pejantan. Semakin tinggi viabilitas spermatozoa maka semakin tinggi peluang untuk terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi baik secara alami maupun buatan (Manehat *et al.*, 2021). Viabilitas sperma merupakan faktor yang mempengaruhi fertilitas. Faktor hambatan ini dapat berasal dari struktur histologi saluran reproduksi jantan, struktur sperma yang diperoleh selama di dalam alat genital, enzim-enzim yang terdapat di dalam saluran reproduksi jantan serta dalam spermatozoa itu sendiri. Sperma yang belum dewasa maupun bentuk-bentuk yang tidak sempurna tidak akan mampu membuahi sel telur (Ilyas, 2007).

Viabilitas diukur dengan melihat persentase motil setelah jangka waktu tertentu. Viabilitas atau jumlah spermatozoa yang hidup dapat diketahui dengan menggunakan pewarnaan Eosin-Y 0,5%. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan warna terang karena spermatozoa tidak menyerap zat warna, Hal tersebut terjadi karena membran plasma yang bersifat semipermeabel dan tersusun atas lipoprotein dengan kondisi baik dan masih berfungsi secara normal sehingga molekul warna tidak akan menembus ataupun terserap oleh membran. Sebaliknya spermatozoa yang mati ditandai dengan adanya penyerapan warna merah di bagian kepala spermatozoa (Gambar 8) (Nugroho, 2018). Spermatozoa yang mati integritas akrosomnya akan berkurang karena rusaknya permeabilitas membran plasmanya di daerah pangkal kepala yang tidak tertutup akrosoma. Sel spermatozoa yang mati dapat menyerap zat warna karena terjadi kerusakan membran plasma sehingga di bawah mikroskop terlihat berwarna merah (Indriyani dkk, 2021).



Gambar 8. A. Spermatozoa Mati, B. Spermatozoa Hidup (Nugroho, 2018)

2.3.2. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah tingkat pergerakan spermatozoa secara progresif dan merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan fertilitas seekor pejantan karena semakin tinggi motilitas individu maka semakin tinggi pula fertilitas pejantan (Manehat *et al.*, 2021). Penurunan motilitas spermatozoa ini disebabkan oleh semakin berkurangnya cadangan makanan yang tersedia di dalam semen jika semen cair disimpan dalam waktu yang lama. Hal ini sesuai pendapat Simpson dan Russell (1996) yang menyatakan bahwa penurunan motilitas individu spermatozoa disebabkan oleh semakin berkurang ketersediaan energi yang ada sehingga spermatozoa mengalami destabilisasi membran dimana terganggunya integritas membran yang disebabkan oleh penumpukan asam laktat.

Spermatozoa akan bergerak lambat apabila kekurangan energi, meskipun arahnya tetap kedepan dan ekor bergerak teratur. Morfologi dan viabilitas pada spermatozoa memiliki hubungan yang erat karena hanya spermatozoa hidup yang dapat menghasilkan energi

agar spermatozoa dapat terus bergerak. Selain itu, morfologi spermatozoa yang baik akan mendukung motilitas spermatozoa yang baik pula (Indriyani dkk, 2021).

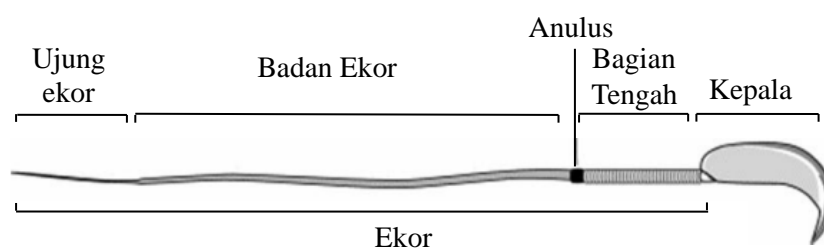
Jumlah yang bergerak maju adalah jumlah seluruh spermatozoa dikurangi jumlah mati. Dianggap normal jika motil maju >40%. Menurut Yatim (1994) bahwa spermatozoa yang normal persentase motilnya adalah 63% dengan range 10-95%. Spermatozoa yang lemah sekali pergerakannya disebut *asthenozoospermia* dan jika semua sperma nampak mati tak bergerak disebut *necrozoospermia* yang berarti individu tersebut dianggap infertil. Namun ada spermatozoa yang tak bergerak tapi tidak mati, mungkin ada suatu zat *cytotoxic* atau antibodi yang membuatnya tak bergerak.

Penurunan motilitas normal adalah 2-3 jam setelah ejakulasi dengan persentase 50-60% spermatozoa motil maju/mL dan 7 jam sudah ejakulasi 50% spermatozoa motil maju/mL. Jika setelah 3 jam yang motil kurang dari 50% menandakan adanya gangguan atau kelainan dalam organ genital. Jika ejakulasi sering terjadi dapat menyebabkan volume semen dan jumlah menurun, tetapi tidak menurun ketahanan (Yatim, 1994).

Motilitas spermatozoa biasa digunakan sebagai indikator kesuburan sperma karena dapat mengetahui pergerakan sperma, namun pergerakan sperma juga dipengaruhi oleh normalitas morfologi spermatozoa. Membran plasma sel yang masih utuh akan mempengaruhi organel dalam sel, hal tersebut menyebabkan sperma bergerak maju secara progresif dan tetap hidup sehingga mampu melakukan pembuahan (Busman dkk, 2021).

2.3.3. Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa terdiri dari bagian kepala, bagian tengah, dan bagian ekor (Gambar 9). Spermatozoa normal bagian kepalanya membengkok seperti kait dengan panjang kira-kira 0,008 mm, bagian tengah yang pendek, dan bagian ekor yang sangat panjang yaitu sekitar 0,1226 mm (Rugh, 1968). Pada bagian kepala terdiri dari nukleus di dalamnya membawa materi dan informasi genetik yang akan diwariskan. Pada daerah kepala terdapat juga akrosom yang berisi akrosin, hyaluronidase dan beberapa enzim proteolitik yang berperan dalam proses fertilisasi yakni untuk menembus sel ovum (Nugroho, 2018).

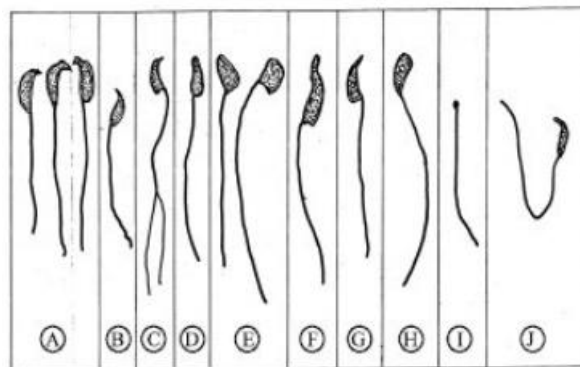


Gambar 9. Morfologi Spermatozoa Mencit (Kwitny, 2010)

Hyaluronidase berperan dalam mencerna filamen proteoglikan pada jaringan sedangkan enzim proteolitik berperan dalam mencerna protein. Pada bagian tengah terdapat mitokondria yang berperan dalam menghasilkan energi atau ATP, berfungsi dalam kelangsungan hidup serta alat gerak spermatozoa yang bekerja sama dengan ekor dalam pergerakannya. Bagian ekor berperan penting dalam motilitas sperma yang dipengaruhi oleh ATP hasil produksi dari mitokondria (Nugroho, 2018).

Bentuk spermatozoa abnormal dapat dilihat berdasarkan bentuk kepala dan ekornya. Menurut Washington *et al.*, (1983), bentuk sperma abnormal terdiri dari bentuk kepala seperti pisang, bentuk kepala tidak beraturan (*amorphous*), bentuk kepala terlalu

membengkok dan lipatan-lipatan ekor yang abnormal. Bentuk abnormalitas spermatozoa menciit (Gambar 10).



Gambar 10. Morfologi Spermatozoa Menciit (*Mus musculus*).

A: Spermatozoa normal; B: tanpa hook; C: ekor ganda; D:kait membulat; E:kepala tanpa bentuk; F: kait bengkok; G: kait dengan proyeksi yang salah; H: ekor melipat; I: kepala sangat kecil; J: kepala berbentuk seperti pisang (Otubanjo *et al.*, 2007).

Abnormalitas spermatozoa dikelompokkan dalam abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi karena adanya gangguan spermatogenesis di tubulus seminiferus, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi ketika spermatozoa telah meninggalkan tubulus seminiferus dan selama perjalanan menuju epididimis (Nugroho, 2018).

Abnormalitas primer pada spermatozoa menciit dapat berupa *macrocephalic*, yaitu ukuran kepala besar karena mengandung kromosom diploid, *microcephalic* yaitu ukuran kepala kecil, kepala melebar atau bulat, kepala ganda, bagian tengah spermatozoa melipat, ekor putus atau terbelah. Abnormalitas sekunder spermatozoa dapat berupa kepala yang terpisah dari ekornya (Nugraha, 2018). Abnormalitas sekunder dapat terjadi karena adanya gangguan proses pengangkutan DNA spermatozoa selama di dalam saluran reproduksi terutama di bagian epididimis. Saat berada dalam epididimis, spermatozoa mengalami beberapa perubahan morfologi (ukuran, bentuk, dan ultrastruktur bagian tengah, DNA) dan

fungsional (pola metabolisme dan sifat membran plasma). Saat di epididimis, proses pematangan sperma bergantung pada kadar hormon testosteron, penurunan hormon testosteron dapat menyebabkan morfologi spermatozoa menjadi abnormal. Abnormalitas tersier terjadi selama pengambilan semen saat pemeriksaan (Indriyani dkk, 2021)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 sampai dengan bulan Februari 2024. Penelitian ini diawali dengan melakukan aklimatisasi pada hewan uji coba di Unit Pemeliharaan Hewan Uji Coba, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak etanol buah leunca di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Pembedahan dan pengamatan hewan uji dilakukan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang mencit beserta penutup yang terbuat dari kawat sebanyak 24 unit, wadah pakan mencit, botol minum mencit, sonde lambung yang dihubungkan dengan *disposable* suntik digunakan untuk pemberian ekstrak etanol buah leunca secara oral, *handscoon latex*, seperangkat alat bedah, *haemocytometer improved neubauer* dan cover glass untuk pengamatan spermatozoa, cawan petri untuk menampung suspensi spermatozoa, mikropipet untuk mengukur

jumlah ekstrak etanol buah leunca, oven yang berfungsi untuk mengeringkan buah leunca, evaporator untuk mengekstrak buah leunca, gelas ukur yang berfungsi untuk mengukur etanol yang dibutuhkan, batang pengaduk untuk mengaduk saat simplisia dimaserasi, tisu yang berfungsi untuk membersihkan sisa zat warna pada objek gelas, kertas label yang berfungsi untuk memberikan label pada objek pengamatan, mikroskop cahaya yang berfungsi untuk mengamati spermatozoa, kamera yang berfungsi untuk mendokumentasi selama penelitian berlangsung, timbangan digital untuk menimbang berat badan mencit dan simplisia buah leunca, serta alat tulis yang berfungsi untuk mencatat data hasil penelitian.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 24 ekor mencit jantan berumur 3-4 bulan dengan berat 30-40 gram yang diperoleh dari *Mice Breeder* “Berkah Mencit Lampung”, sekam padi dari Lilice Florist sebagai alas, pakan standar BR 2 sebagai pakan mencit, air minum mencit berupa air mineral merk Grand®, etanol 96% yang diperoleh dari Prime Grade Ethyl Alcohol, 5 kg buah leunca diperoleh dari Pasar Jatimulyo, kertas saring untuk menyaring hasil maserasi simplisia buah leunca, plastik wrap untuk menutup gelas ukur saat melakukan maserasi, *aseptic* merk onemed yang berfungsi untuk sterilisasi, kloroform merk EMSURE® sebagai obat bius, *aquabidest* merk onemed yang berfungsi sebagai pelarut, pewarna giemsa, Eosin-Y 0,5 %, NaCl 0,9% dari yang diproduksi oleh PT. Otsuka Indonesia, dan ekstrak etanol buah leunca sebagai bahan utama.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap digunakan karena unit eksperimental bersifat homogen. Perlakuan dilakukan secara acak dengan 4 perlakuan dan 5 pengulangan. Jumlah perlakuan dan pengulangan dibuat berdasarkan rumus Federer (1991), yaitu $t(n-1) \geq 15$.

$$\begin{aligned} \text{Perlakuan } 4(n-1) &\geq 15 \\ 4n &\geq 19 \\ n &\geq 5 \end{aligned}$$

Satuan percobaan: $4 \times 5 = 20$ mencit jantan yang homogen, untuk mengantisipasi kematian maka ditambahkan masing-masing 1 ekor pada setiap perlakuan. Maka jumlah yang digunakan adalah 24 ekor mencit.

3.3.2. Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit jantan sebagai hewan uji, mencit yang digunakan memiliki berat badan sekitar 30-40 gram berumur 12-16 minggu yang diperoleh dari *Mice Breeder* "Berkah Mencit Lampung". Digunakan 24 kandang mencit yang sebelumnya telah dibersihkan dan diberi alas sekam padi beserta penutup kandang. Mencit diaklimatisasi di kandang selama 7 hari dengan pemberian pakan berupa pelet Bravo 512 dan air minum berupa air mineral merk Grand® setiap harinya. Aklimatisasi bertujuan agar mencit dapat melakukan penyesuaian dengan kondisi lingkungan sekitarnya sebelum dilakukan perlakuan.

3.3.3. Pembuatan Ekstrak Buah Leunca

Penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak etanol buah leunca. Prinsip kerja maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut selama beberapa hari (Ansel, 1989). Buah leunca yang digunakan merupakan buah yang masih mentah, hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan kandungan metabolit sekunder dengan kadar paling tinggi, karena pada buah yang sudah matang kandungan metabolit sekundernya rendah. Buah leunca diperoleh dari Pasar Jatimulyo, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung, Indonesia.

Buah leunca segar sebanyak 5 kg dicuci bersih dengan air PDAM mengalir untuk menghilangkan kontaminan, buah leunca dipotong tipis-tipis dan dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari antara pukul 09.00 WIB hingga 16.00 WIB namun ditutupi kain hitam untuk mencegah kotoran menempel dan dapat menyerap panas dengan maksimal. Buah leunca yang sudah kering sebanyak 330 gr dihaluskan menggunakan *blender* untuk dijadikan serbuk simplisia. Selanjutnya dilakukan maserasi dengan cara direndam 280 gr serbuk simplisia buah leunca dalam etanol 96% sebanyak 2000 mL selama tiga hari dan diaduk setiap 8 jam. Campuran buah leunca dan etanol disaring dengan kertas saring sehingga akan didapatkan maserat 1. Ampas maserat 1 direndam kembali dengan 1000 mL etanol 96% selama dua hari, lalu disaring dan didapatkan maserat 2. Dilakukan perendaman kembali ampas dari maserat 2 dengan 1000 mL etanol 96% selama satu hari. Maserat 1,2 dan 3 diinapkan semalaman lalu dipisahkan dari residunya dengan alat evaporator putar pada suhu 50°C, kemudian ekstrak dipekatkan menggunakan *hot plate* hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental sebanyak 75 gr.

3.3.4. Pemberian Perlakuan

Mencit ditimbang terlebih dahulu, ekstrak buah leunca diberikan secara oral dengan sonde sebanyak 1 kali dalam sehari pada pagi hari pukul 08.00 WIB sebelum mencit diberi makan dengan menyesuaikan berat badan. Pada penelitian ini pemberian ekstrak buah leunca diberikan secara oral selama 35 hari berdasarkan siklus spermatogenik mencit yang berlangsung selama 35 hari (Busman dkk, 2018). Mencit jantan dibagi dalam 4 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

Menurut Iryani (2017) dosis ekstrak buah leunca yang diberikan pada hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sprague dawley yang beratnya 200-300 gram adalah sebagai berikut:

1. Kelompok I : larutan akuades 1 ml /kgBB (kontrol)
2. Kelompok II : 1 ml ekstrak buah leunca dengan dosis 100 mg/kgBB
3. Kelompok III : 1 ml ekstrak buah leunca dengan dosis 200 mg/kgBB
4. Kelompok IV : 1 ml ekstrak buah leunca dengan dosis 400 mg/kgBB

Pada penelitian ini menggunakan mencit jantan dengan berat sekitar 30 gram sehingga dosis di atas perlu dikonversi terlebih dahulu. Persentase pelarut yang digunakan adalah 1% (Yoriyuliandra, 2012), didapat dosis ekstrak buah leunca sebagai berikut:

1. Kelompok I (K) : diberi larutan *aquabidest* 0,3 ml (kontrol)
2. Kelompok II (P1) : diberi 0,3 ml ekstrak buah leunca dengan dosis 3 mg/30 gr BB

3. Kelompok III (P2): diberi 0,3 ml ekstrak buah leunca dengan dosis 6 mg/30 gr BB
4. Kelompok IV (P3): diberi 0,3 ml ekstrak buah leunca dengan dosis 12 mg/30 gr BB

3.3.5. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian ini diantaranya yaitu jumlah, viabilitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa.

Pengamatan spermatozoa dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40×10 dengan menghitung jumlah sperma dalam *haemocytometer improved neubauer*, melihat spermatozoa yang tidak terwarnai untuk parameter viabilitas, menghitung spermatozoa yang tidak bergerak untuk parameter motilitas, dan melihat bentuk abnormal spermatozoa untuk parameter morfologi.

3.3.6. Pengambilan Data

Mencit dibedah pada hari ke-36 dengan cara dibiuis menggunakan kloroform dalam toples kaca tertutup, setelah hewan dipuaskan semalaman. Kemudian dilakukan pembedahan dari pangkal penis ke arah tubulus proksimal (kira-kira hampir setengah badan), setiap kelebihan lemak atau jaringan ikat dipisahkan dari organ sampel (Kanedi *et al*, 2016). Epididimis diangkat dan dicuci menggunakan larutan fisiologis, kemudian dimasukkan ke cawan petri yang berisi 1 ml NaCl 0.9%, lalu diurut menggunakan pinset agar cairan semen dapat terpisah dari epididimis. Setelah cairan semen terpisah dari epididimis, larutan diaduk sampai homogen.

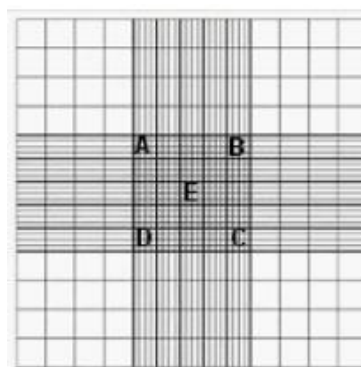
a. Perhitungan Jumlah Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya. Sperma yang telah dihomogenkan dalam 1 ml NaCl 0,9% kemudian diambil sebanyak 10 μ L dan dimasukkan ke dalam *haemocytometer improved Neubauer* serta ditutup dengan kaca penutup. Di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40 \times 10, hemositometer diletakkan dan dihitung jumlah spermatozoa pada kotak kamar hitung. Dilakukan perhitungan jumlah spermatozoa dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah spermatozoa} : \frac{1 \times 10 \times N}{0,1 \times 4} \times 10^3 / \text{mL}$$

Keterangan:

N = Jumlah spermatozoa yang dihitung pada kotak A,B,C,D, dan E (Gambar 11) (Elwinda, 2011)



Gambar 11. *Haemocytometer Improved Neubauer* (Elwinda, 2011)

b. Viabilitas Spermatozoa

Larutan spermatozoa diambil sebanyak satu tetes (10 μ L) dengan menggunakan mikropipet dan diletakkan di atas kaca objek. Sampel kemudian ditetesi dengan satu tetes larutan eosin-Y 0,5 % dan ditutup dengan kaca penutup. Setelah 1-2 menit, sampel diamati melalui mikroskop dengan perbesaran 40 \times 10. Persentase jumlah spermatozoa hidup dapat diketahui

dengan menghitung jumlah spermatozoa hidup dari 100 spermatozoa untuk setiap ulangan. Spermatozoa hidup tidak harus bergerak tetapi memiliki kepala yang tidak berwarna, sedangkan yang mati akan terwarnai.

$$\% \text{viabilitas} = \frac{a}{a+b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = jumlah spermatozoa yang tidak terwarnai (100)

b = spermatozoa yang terwarnai (mati) (WHO, 1988).

c. Motilitas Spermatozoa

Larutan spermatozoa diambil sebanyak satu tetes (10 μ L) menggunakan mikropipet dan diteteskan pada *object glass* kemudian ditutup dengan kaca penutup. Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang bergerak di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40 \times 10.

Persentase jumlah spermatozoa motil ditentukan dengan membagi jumlah spermatozoa yang pergerakannya progresif maju ke depan dengan banyaknya spermatozoa yang diamati (motil dan imotil) kemudian dikalikan 100%. Menurut WHO (1988) terdapat empat sampai enam lapang pandang yang harus diperiksa untuk mendapatkan seratus sperma secara berurutan yang kemudian diklasifikasi sehingga menghasilkan persentase setiap kategori motilitas. Persentase motilitas dapat diukur menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{motilitas} = \frac{a}{a+b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Spermatozoa yang bergerak

b = Spermatozoa yang tidak bergerak

d. Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Larutan spermatozoa sebanyak satu tetes (10 μ L) diletakkan pada kaca objek menggunakan mikropipet. Sampel tersebut kemudian diwarnai dengan larutan giemsa dan dibuat sediaan oles dengan menggeserkan kaca objek lain di atasnya dengan sudut 45°. Sediaan oles spermatozoa difiksasi selama 5 menit ke dalam etanol 70% lalu diangkat dan dimasukkan dalam larutan giemsa \pm 20-30 menit. Sediaan kemudian dibilas dengan air yang mengalir. Selanjutnya dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 \times 10 untuk melihat abnormalitas sperma yang terjadi pada ekor dan kepala. Menurut WHO (1988) normalitas spermatozoa dapat dilihat dari persentase sebagai berikut:

$$\% \text{morfologi} = \frac{a}{a+b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = spermatozoa abnormal (100)

b = spermatozoa normal

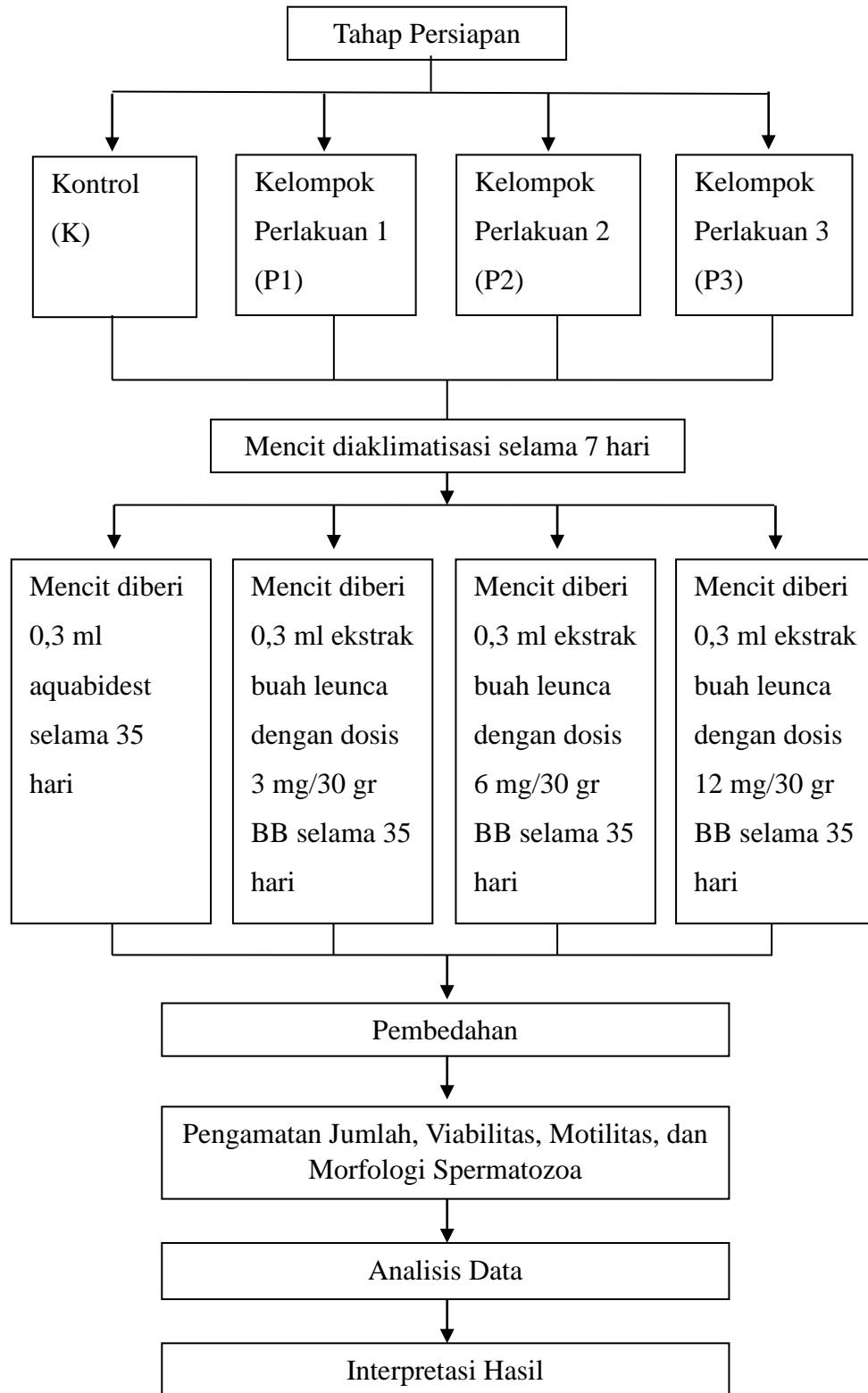
3.3.7. Analisis Data

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan, dimana masing-masing perlakuan dilakukan dengan 5 kali pengulangan. Data yang diperoleh bersifat kuantitatif dan dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS versi 29. Uji *shapiro wilk* untuk melihat normalitas distribusi data. Bila dijumpai $p > 0,05$ maka distribusi normal, dan digunakan uji parametrik *one-way Analysis of Variance* (ANOVA). Data yang distribusinya tidak normal maka analisis menggunakan uji non-parametrik *kruskal-wallis* untuk

melihat beda rata-rata jumlah sperma antar kelompok. Jika $p < 0,05$ dilanjutkan dengan uji *posthoc* (duncan) untuk mengetahui dosis yang mana yang paling efektif menurunkan kadar sperma.

3.3.8. Diagram Alir Metode Penelitian

Adapun diagram alir yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah leunca secara oral pada mencit dengan dosis 12 mg/30grBB dapat mengakibatkan:

1. Penurunan jumlah normal spermatozoa
2. Penurunan viabilitas spermatozoa
3. Penurunan motilitas spermatozoa
4. Penurunan morfologi normal spermatozoa

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan uji kebuntingan apabila mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan perlakuan
2. Perlu dilakukan uji teratogenik apabila mencit jantan perlakuan dikawinkan dengan mencit betina dan terjadi kebuntingan.
3. Perlu dilakukan penelitian pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap mencit betina.
4. Perlu dilakukan uji toksisitas terhadap mencit yang diberi ekstrak etanol buah leunca.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press, Jakarta.
- Aminah, M.S., dan Wardenaar, E. 2016. Tumbuhan Obat yang Dimanfaatkan Oleh Batra Di Desa Sejahtera Kecamatan Sukadana Kabupaten Kayong Utara. *Jurnal Hutan Lestari*. 299–305.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sedimen Farmasi*. Edisi ke-4. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Azhar, F. 2013. *Uji Antifertilitas Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) pada Tikus Jantan*. (Tesis). Fakultas Kedokteran dan Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik. 2020. *Hasil Sensus Penduduk 2020*. Kementerian Dalam Negeri, Jakarta.
- Busman, H., Nurcahyani, N., Sutyarso, Dewi, E.R.S, and Kanedi, M. 2018. Sperm Quality of Mice Decreased by Seed Extract of Papaya (*Carica papaya*). *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 5(8): 95-98.
- Busman, H., Sutyarso, Kanedi, M., Farisi, S., and Mumtazah, D.F. 2021. Essential Oil Extracted From Plant Tuber Of Nutgrass “*Cyperus rootundus*” Effectively Decreased Sperm Quality Of Mice. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2(11): 66-70.
- Chauchan, R., Ruby, R.M., Shori, A. and Dwivedi, J. 2012. *Solanum nigrum* with Dinamic Therapeutic Role: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 15(1): 65-71.

- Edmonds, J.M. and Chweya, J.A. 1997. Black Nightshades. *Solanum nigrum* L. and Related Species. *International Plant Genetic Research*. 1:1777-1788.
- Eliza. 2010. Pengaruh Ekstrak Terung Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap Kualitas Sperma Manusia In Vitro. *Majalah Kedokteran Andalas*, 8.
- Elwinda, L., Amtarina, R., dan Hamidy, M.Y. 2011. Pengaruh Pemberian Jus Semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) Peroral terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Ilmu Kedokteran*. 5(1):35-40.
- Ermayanti, N.G.U.M., dan Suarni, N.M.R. 2010. Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Setelah Perlakuan Infus Kayu Amargo (*Quassia amara* L.) dan Pemulihannya. *Jurnal Biologi Udayana*. 14(2): 45-49.
- Ermiza. 2012. Pengaruh Paparan Suhu Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Strain Jepang. *Jurnal Saintis*. 1(2):19-28.
- Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd Edition. Marcel Dekker, New York.
- Go Botany. 2023. *Solanum nigrum* – European Black Nightshade. Native Plant Trust. <https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/solanum/nigrum/> diakses pada 11 September 2023.
- Gogoi, P., and Islam, M. 2012. Phytochemical Screening of *Solanum nigrum* L. and *S. Myriacanthus* Dunal from Districts of Upper Assam, India. *Journal of Pharmacy*. 2(3): 455-459.
- Hafy, Z., dan Moeloek, N. 2001. Tinjauan Ultra Struktur dan Molekular Sel Spermatozoa Pada Kelainan Primary Ciliani Dyskeria (PCD) Sebagai Salah Satu Penyebab Infertilitas Laki-laki Serta Peranana Teknik IVF Sebagai Alternatif Utama Penanggulangannya. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 51(11): 401-406.
- Halim, Y., Effendi, D. dan Nurwitri, C. C. 2018. Pemanfaatan Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) dalam Pembuatan Minuman Sari Buah. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 2(1): 58–70.

- Hardjopranoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran pada Ternak*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Harlis, W. O., Malik, N., dan Nelpiani. 2015. Efek pemberian sari buah paria (*Momordica charantia*, L.) terhadap morfologi spermatozoa epididimis mencit (*Mus musculus*, L.). *Biowallacea*. 2(1):196-203.
- Hariana, H.A. 2006. *Leunca (Solanum nigrum L.). Tumbuhan Obat & Khasiatnya Seri Agrisehat*. Cetakan ketiga, seri kedua. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hervista, M. 2017. *Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Folikulogenesis pada Ovarium Mencit (Mus musculus)*. (Skripsi). Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ilyas, S. 2007. *Azoozpermia dan Pemulihannya Melalui Regulasi Apoptosis Sel Spermatogenik Tikus (Rattus sp.) pada Penyuntikan Kombinasi TU dan MPA*. (Disertasi). Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- India Biodiversity. 2023. *Solanum nigrum L.* Biodiversity Portal. <https://indiabiodiversity.org/species/show/32754?pos=>. Diakses pada 11 September 2023.
- Indriyani, Busman, H., dan Sutyarso. 2021. Penurunan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki. *Journal of Biology and Applied Biology*. 4(1): 75-85.
- Iryani, T. 2017. *Efek Pemberian Ekstrak Etanol Buah Leunca (Solanum nigrum L.) Secara Oral Terhadap Penurunan Jumlah Spermatozoa Tikus Putih (Rattus norvegicus L.)*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ismara, L.H., Setiorini, D., dan Kusmana. 2014. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Kluwih (*Artocarpus camansi Blanco*) Terhadap Penurunan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Jantan Galur DDY. *Jurnal FMIPA Universitas Lampung*.

- Januarti, I. B., Latifah, F., dan Fatmawati, N. F. 2021. Efek ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum* var. Solo) terhadap sel Leydig dan sel Sertoli tikus. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 7(1): 1-6.
- Kanedi, M., Sutyarso, Nurjanah, S., dan Wahid, L.K. 2016. Testicular Dysfunction in Male Rats Reserved by Ethanolic Extract of Pitaya Fruit. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. 2(4): 51-55.
- Karmakar, U.K., Tarafder, U.K., Sadhu, S.K., Biswas, N.N. and Shill, M.C. 1970. Biological Investigation of Dried Fruit of *Solanum nigrum* Linn. *Stamford Journal Pharmacy Science*. 3(1): 38-45.
- Kasmeri, R., dan Putri, A. 2020. Pengaruh Ekstrak Pedada Merah (*Sonneratio careolaris* L.) Terhadap Jumlah dan Morfologi Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*. 6(1): 7-13.
- Khaerunnisa, N., Saraswati, I. dan Sasikirana, W. 2022. Kandungan Total Fenolik Ekstrak Metanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) dan Fraksi-Fraksinya. *Journal of Research in Pharmacy*. 2(2): 86-92.
- Kwitny, S. A., Klaus, A.V., and Hunnicutt, G.R. 2010. The Annulus of The Mouse Sperm Tail Is Required to Establish a Membrane Diffusion Barrier That Is Engaged During The Late Steps of Spermiogenesis. *Biology of Reproduction*.
- Malini, D.M. 2000. Pengaruh Ekstrak Biji Nimba (*Azadirachia indica* A. Juss) Terhadap Laju Pertumbuhan Berat Badan Dan Organ Reproduksi Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan. *Jurnal Biologi Unud IV*. 1(2): 78-83.
- Malole, M.B. dan Pramono, C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Manehat, F. X., Dethan, A. A., and Tahuk, P. K. 2021. Motility, Viability, Spermatozoa Abnormality, and pH of Bali Cattle Semen in Another-Yellow Water Driller Stored in a Different Time. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*. 3(2): 76-90.
- Martantiningtyas, D.C., Nurliani, A., dan Rusmiati. 2015. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana*) terhadap

Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Dipapar Asap Rokok Kretek. *Jurnal Sain Veteriner*. 33(1): 85-93.

Mudayatiningsih, S., Dewi, E.S., Suryandari, H., dan Isnaeni. 2015. Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Kualitas Spermatozoa Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Informasi Kesehatan Indonesia (JIKI)*. 1(2):127-136.

Mu'nisa, A., Wresdiyati, T., Kusumorini, N. dan Manulu, W. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh. *Jurnal Veteriner*. 13(3):272-277.

Nurchayani, N., Busman, H., Sutyarso, Rahmawati, P. D., and Kanedi, M. 2018. Antispermatogetic Effect of Seeds Extract of Papaya (*Carica papaya*) in Mice. *The Pharmaceutical and Chemical Journal*. 5(4):18-22.

Nugroho, R.A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press, Samarinda.

Nugroho, S.H. 2019. *Perbandingan Ekstrak Terong Cepoka (Solanum torcum) dengan Ekstrak Biji Kapuk (Ceiba pentandra) terhadap Infertilitas Tikus (Rattus novergicus) Melalui Ekspresi NFkB dan Diameter Tubulus Seminiferus*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.

Nuraini, T., Kusmana, D., and Afifah, E. 2012. Penyuntikan Ekstrak Biji *Carica papaya* L. Viaretas Cibinong pada *Macaca fascicularis* L. dan Kualitas Spermatozoa Serta Kadar Hormon Testosteron. *Makara Journal of Health Research*. 16(1).

Nurliani, A., Rusmiati, and Santoso, H.B. Perkembangan Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus*) Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Berkala Penelitian Hayati*. 11 : 77-79.

Otubanjo, O. A., Mosuro, A. A., and Ladipo, T. F. 2007. An in vivo Evaluation of Induction of Abnormal Sperm Morphology by Ivermectin MSD (Mectizan). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10(1): 90-95.

Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.

- Pramitaningrum, I.K., dan Sari, E.M. 2020. Potensi Ekstrak Tanaman Lenca (*Solanum nigrum*) dan Biji Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Mortalitas Larva Aedes Sp. Dan Culex Sp. Instar IV. *Journal of Health*. 7(1):7-12.
- Priyambodo, S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu. Edisi ke-3*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Ravi, V., Saleem, T.S.M., Patel, S.S., Raamamurthy, J. and Gauthaman, K. 2009. Anti Inflammatorry Effect of Methanolic Extract of *Solanum nigrum* Linn Berries. *International Journal of Applied Research in Natural Product*. 2:33-36.
- Rikenawaty, I.R. 2012. *Efek Antiosteoklastogenesis Ekstrak Etanol 96% Leunca (Solanum nigrum L.) terhadap Sel Raw 264 secara In Vitro*. (Tesis). Universitas Indonesia. Depok.
- Riskesdes. 2010. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar Indonesia Tahun 2010*. Badan Litbangkes. Kementerian Kesehatan 2013, Jakarta.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse its Reproduction and Development*. Minneapolis : Burgess Publishing Company, New York.
- Santoso, B. 2009. Partisipasi Pria dalam Keluarga Berencana di Kecamatan Jetis Kabupaten Bantul. *Jurnal Promosi Kesehatan Indonesia*. 4(2):1-12.
- Setiawan, H., dan Subagja, R.A. 2023. Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Kualitas Sperma dan Histologis Testis Tikus Wistar. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*. 16(2): 10-20.
- Setijono, M.M. 1985. *Mencit (Mus musculus) Sebagai Hewan Percobaan*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Sholeh, M. A., Isradji, I., Oktavianti, D.P., dan Fatmawati, D. 2020. Pengaruh Ekstrak Terung Ungu (*Solanum molengena* L.) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*. 7(1): 78-85.

- Siemonsa, J.S., and Jansen, P.C.M. 1994. *Solanum americanum* Miller. Plant resource of South East Asia no.8. Prosea Foundation, INA.
- Simpson, P.B. & Russell, J.T. 1996. Mitochondria Support Intosol 1,4,5-Tris-Phospate-Mediated Ca Waves in Cultured Oligodendrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 271(52): 33493-33501.
- Susilo, S., Akbar, B., dan Pratinaningsih., I. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sambilo Terhadap Jumlah Dan Motilitas Spermatozoa Mencit Jantan. *Jurnal Biodjati*. 3(2): 68–74.
- Supriati, R., Ranti, K., dan Karyadi. 2009. Pengaruh Pemberian Getah Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Kemampuan Reproduksi Mencit (*Mus musculus* BAL B/C) Betina. *Jurnal Konservasi Hayati*. 5:2 (13–20).
- Susetyarini, R.E. 2013. Jumlah Sel Spermiogenesis Tikus Putih yang Diberi Tanin Daun Beluntas (*Pluchea indica*) sebagai Sumber Belajar. *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS*. 10(3): 1-6.
- Sutyarso. 1992. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) Terhadap Fertilitas Mencit Jantan (*Mus musculus* L. Strain LMR). Tesis Program Pascasarjana Biomedik. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Sutyarso dan Busman, H. 2003. Hubungan Keadaan Hormon Testosteron Terikat Dengan Jumlah Dan Kualitas Spermatozoa Pria Infertil Idiopatik. *Jurnal Sains Teknologi*. 9(3): 29-34.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Tumkiratiwong, P., Ploypattarapinyo, R., Pongchairerk, U., and Thong-asa, W. 2014. Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 12(10), 695-704.
- Washington, W.J., Murthy, R.C., Doye, A., Eugene, K., Brown, D. and Bradley, I. 1983. Induction of Morphologically Abnormal Sperm in Rats Exposed to Oxylyene. *Archive of Andrology*. 11:233-237.

- Weber, K.S., Setchell, K.D.R., Stoco, D.M., and Lephert, E.D. 2001. Dietary Soy-Phytoestrogens Decrease Testosterone Levels and Prostate Weight Without Altering Lh, Prostate Reductase or Testicular Steroidogenic Acute Regulatory Peptide Levels in Adult Male Sprague Dawley Rats. *Jurnal of Endocrinology*.
- Wendersteyt, N.V., Wewengkang, D.S., dan Abdullah, S.S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella tiphymurium* dan *Candida albicans*. *Journal Pharmacon*. 1(10): 706-712.
- Worldometer. 2023. Top 20 Largest Countries by Population (Live). <https://www.worldometers.info/world-population/>. Diakses pada 08 September 2023.
- World Health Organization (WHO). 1988. *Pemeriksaan Semen Manusia dan Getah Servik*. Penerjemah Tadjudin, M.K. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Yatim, W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi untuk Mahasiswa Biologi Kedokteran*. Edisi ke-3. Tarsito, Bandung.
- Yoriyuliandra. 2012. Perhitungan Dosis untuk Hewan Percobaan. <https://dokumen.tips/download/link/perhitungan-dosis-untuk-hewan-percobaan-think-like-a-learner> Diakses pada tanggal 07 Oktober 2023.
- Zahrina, A.D. 2015. *Uji Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Etanol 96% Daun Sambiloto (Andrographis paniculata Nees.) pada Tikus Jantan Galur Sprague dawley Secara In vivo*. (Tesis). Fakultas Kedokteran dan Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.