PENINGKATAN KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI LARUTAN DIAZINON

(Skripsi)

Oleh

Muhammad Sulthan Perdana Daramel 2117021003



JURUSAN BIOLOGI FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2025

ABSTRAK

PENINGKATAN KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI LARUTAN DIAZINON

Oleh

MUHAMMAD SULTHAN PERDANA DARAMEL

Diazinon merupakan insektisida yang efektif dalam mengendalikan hama serangga, tetapi memiliki toksisitas yang cukup tinggi bagi manusia dan hewan. Diazinon dapat menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis, penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa, serta peningkatan jumlah spermatozoa yang abnormal. Daun kemangi merupakan tanaman obat yang kaya akan senyawa flavonoid, saponin, zinc, dan arginin. Senyawa-senyawa ini diketahui dapat melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kemangi terhadap jumlah, viabilitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa mencit yang diinduksi diazinon. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan teknik Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan dan 5 ulangan. Pemberian perlakuan ekstrak etanol pada mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758) jantan terdiri dari Kelompok K0 sebagai kontrol (diberi aquabidest), K1 (diinduksi diazinon dengan takaran 1,2 mg/30grBB tanpa pemberian bahan uji), P1, P2, P3 (diinduksi diazinon dengan takaran 1,2 mg/30grBB dan diberi ekstrak daun kemangi dengan dosis berturut-turut 3 mg/30grBB, 6 mg/30grBB, 9 mg/30grBB). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS versi 26 dengan uji Shapiro-wilk, uji Levene, uji *Oneway* ANOVA, dan uji post hoc. Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi Ocimum basilicum Linn. dapat meningkatkan persentase jumlah, viabilitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa mencit (Mus musculus) yang telah diinduksi diazinon dengan dosis paling efektif yaitu 9 mg/ 30grBB pada kelompok P3, dengan menunjukkan persentase tertinggi seperti pada parameter jumlah didapatkan 240 juta/ml sel spermatozoa pada saat pengamatan.

Kata Kunci: Insektisida, Mus musculus, Ocimum basilicum, Spermatozoa

ABSTRACT

THE INCREASE OF QUANTITY AND QUALITY OF SPERMATOZOA OF MALE MICE (Mus musculus (Linnaeus, 1758)) BY GIVING ETHANOL EXTRACT OF BASIL LEAVES (*Ocimum basilicum* Linn.) DUE TO DIAZINON SOLUTION INDUCTION

By

MUHAMMAD SULTHAN PERDANA DARAMEL

Diazinon is an insecticide that is effective in controlling insect pests, but has quite high toxicity to humans and animals. Diazinon can cause disruption in the spermatogenesis process, decrease the quality and quantity of spermatozoa, and increase the number of abnormal spermatozoa. Basil leaves are medicinal plants that are rich in flavonoids, saponins, zinc, and arginine. These compounds are known to protect cells from oxidative damage. This study aims to determine the effectiveness of basil leaf extract on the number, viability, motility, and morphology of diazinon-induced mouse spermatozoa. This study is an experimental study using the Completely Randomized Design (CRD) technique with 5 treatment groups and 5 replications. The administration of ethanol extract treatment to male mice (Mus musculus (Linnaeus, 1758) consisted of Group K0 as a control (given aquabidest), K1 (induced by diazinon at a dose of 1.2 mg/30grW without giving test material), P1, P2, P3 (induced by diazinon at a dose of 1.2 mg/30grW and given basil leaf extract at doses of 3 mg/30grBW, 6 mg/30grBW, 9 mg/30grBW respectively). The data obtained were then analyzed statistically using SPSS version 26 with the Shapiro-Wilk test, Levene's test, Oneway ANOVA test, and post hoc test. The results of the analysis showed that the administration of ethanol extract of basil leaves Ocimum basilicum Linn. can increase the percentage of the number, viability, motility, and morphology of spermatozoa in mice (Mus musculus) that have been induced by diazinon with the most effective dose of 9 mg/30grBW in group P3, showing the highest percentage as in the parameter of the number of 240 million/ml sperm cells at the time of observation.

Key words: Insecticide, Mus musculus, Ocimum basilicum, Spermatozoa

PENINGKATAN KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI LARUTAN DIAZINON

Oleh:

MUHAMMAD SULTHAN PERDANA DARAMEL

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung



JURUSAN BIOLOGI FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2025 Judul Skripsi

: PENINGKATAN KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT JANTAN (*Mus* musculus (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI LARUTAN DIAZINON

Nama Mahasiswa

: Muhammad Sulthan Perdana Daramel

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117021003

Program Studi

: Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed.

NIP. 195901011987031001

Dzul Fithria Mumtazah, M.Sc. NIP. 199105212019032020

2. Ketua urusah Biologi FMIPA Unila

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. NIP. 1983013 200812001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed.

Burn-

Anggota

: Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc.

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: 30 Juni 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama: Muhammad Sulthan Perdana Daramel

NPM: 2117021003

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

"Peningkatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (Mus musculus (Linnaeus, 1758)) Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum basilicum Linn.) Akibat Induksi Larutan Diazinon"

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 dipertanggung jawabkan apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini. Saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bardarlampung, 03 Juli 2025

Muhammad Sulthan Perdana Daramel

NPM. 2117021003

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Jakarta, pada tanggal 24 Juni 2004, anak sulung dari tiga bersaudara oleh pasangan Bapak Darman, SE., MM. dan Ibu Mildasari, SE. Penulis beralamat di Gunung Sulah, Kecamatan Way Halim, Kota Bandar Lampung, Lampung. Penulis memulai Pendidikan di TK Mutiara pada tahun 2008. Kemudian penulis melanjutkan

Pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Rawa Laut pada tahun 2009, dilanjutkan dengan Sekolah Menegah Pertama di SMP IT Ar-Raihan dan lulus pada tahun 2018, kemudian penulis melanjutkan Pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Global Madani Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2021. Lalu, penulis melanjutkan Pendidikan ke Perguruan tinggi dan terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2021 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, penulis aktif di organisasi kemahasiswaan seperti Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada tahun 2021-2022, Ketua Pelaksana Acara Desain Grafis Biologi (DEFISOLOGI) pada tahun 2022, Anggota Bidang Perlengkapan Acara PKSDA XXVI UNILA pada tahun 2022, Koordinator Divisi K3 Desa Binaan HIMBIO pada tahun 2022, Koordinator Divisi K3 Acara PPDK HIMBIO pada tahun 2022, Anggota Divisi K3 Acara LKMTD HIMBIO pada tahun 2022, Anggota Divisi K3 Acara Planktonologi HIMBIO pada tahun 2022, dan Anggota Divisi Kestari Acara Penulisan Karya Tulis Ilmiah HIMBIO pada tahun 2022.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada bulan Desember 2023-Februari 2024 di Laboratorium Rose Bengal Test dan ELISA, Balai Karantina Hewan, Ikan dan Tumbuhan Lampung dan telah menyelesaikan Laporan Praktik Kerja Lapangannya dengan judul "Deteksi Brucellosis Pada Kerbau Dengan Metode Rose Bengal Test (RBT) dan ELISA di Balai Karantina Hewan, Ikan dan Tumbuhan Lampung". Kemudian penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari pada bulan Juni-Agustus 2024 di Desa Negeri Agung, Kecamatan Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Penulis melakukan penelitian di Laboratorium Zoologi dan Botani FMIPA Unila serta menyusun skripsi dengan judul "Peningkatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (Mus musculus (Linnaeus, 1758)) Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum basilicum Linn.) Akibat Induksi Larutan Diazinon".

MOTTO

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya"

(Qs. Al-Baqarah: 286)

"Kunci keberhasilan yang sebenarnya adalah konsistensi.

(B.J. Habibie)

"Prestasi mawat dapok diraih tanpa ngedokni semangat"

"Selalu ada harga dalam sebuah proses. Nikmati saja lelah-lelah itu. Lebarkan lagi rasa sabar itu. Semua yang kau investasikan untuk menjadikan dirimu serupa yang kau impikan, mungkin tidak akan selalu berjalan lancar. Tapi gelombanggelombang itu yang nanti bisa kau ceritakan"

(Boy Chandra)

"Allah tidak mengatakan hidup ini mudah. Tetapi Allah berjanji, bahwa sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan."

(Al-Insyirah 5-6)

"Success is earned through dedication, discipline, and a thirst for knowledge"

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih dan maha penyayang Dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWT atas rahmat, ridho dan karunia-Nya yang selalu ia berikan, Kupersembahkan karya kecilku ini kepada:

Kedua Orang tuaku,

Darman, SE., MM. dan Mildasari, SE.

Yang senantiasa selalu memberi dukungan dan menyebut namaku dalam do'anya, selalu mengusahakan yang terbaik untukku tanpa mengenal rasa lelah, selalu memberikan semangat, memotivasi, dan bantuan di setiap langkah perjalananku untuk menggapai sebuah kesuksesan.

Diriku,

Muhammad Sulthan Perdana Daramel

Seorang anak laki-laki pertama yang menjadi kakak tertua bagi adik-adiknya, yang memiliki impian-impian besar dalam hidupnya, yang ingin menggapai kesuksesan untuk membahagiakan orang tuanya dan yang telah mampu bertahan sejauh ini dalam perjalanan kehidupan termasuk selama meraih pendidikan.

Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmunya, semangat, saran, dan membimbingku serta membantu dalam proses penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai dengan tepat waktu.

Adikku, sahabat, teman, kakak-adik tingkat, dan abang-abangan yang ikut membantu, memberi semangat, canda tawa dan pengalaman yang berharga di dunia perkuliahan ini.

Serta Almamaterku tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulilahirobbilalamiin,

Puji syukur kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan baik dan lancar, sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya. Semoga kita tergolong umatnya yang akan mendapatkan syafaatnya di hari akhir kelak Aamiin.

Skripsi dengan judul "Peningkatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) Akibat Induksi Larutan Diazinon" 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 menyadari bahwa banyak sekali bantuan yang penulis dapatkan selama menjalani penelitian dan pembuatan karya ini. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih 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, Universitas Lampung.

- 4. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D. selaku Sekretaris Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung.
- 5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi FMIPA, Universitas Lampung.
- 6. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D. selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing dari awal penulis memulai perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung.
- 7. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku pembimbing utama atas kesediaannya yang telah memberikan bimbingan, support, saran, kritik selama proses pembuatan karya ini dan juga peduli terhadap progres dalam pengerjaan skripsi serta memberi motivasi dan menghibur penulis disaat jenuh dalam melakukan penelitian.
- 8. Ibu Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc. selaku pembimbing kedua atas kesediaannya yang telah memberikan bimbingan, support, saran dan kritik selama proses pembuatan karya ini.
- 9. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. selaku penguji utama pada ujian skripsi yang telah memberikan masukan, kritik dan saran yang membangun serta membimbing selama proses penyelesaian karya ini.
- 10. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang telah berjasa dan membantu selama penulis menyelesaikan studi di Jurusan Biologi.
- 11. Kedua Orang tuaku, Bapak Darman dan Ibu Mildasari terima kasih yang sebesar-besarnya atas pengorbanan, usaha, kasih sayang dan doa yang selalu dipanjatkan serta memberi motivasi dan semangat kepada penulis selama menjalani proses studi hingga selesai.
- 12. Kedua Adikku, Ratu Rafa Nawra Daramel dan Raisya Azzahra Putri Daramel yang selalu mensupport penulis diketika senang maupun susah sehingga penulis bisa menyelesaikan perkuliahan.
- 13. Febrian Aditia Mulawarman teman seperjuangan penulis yang telah menemani dan melaksanakan penelitian bersama hingga menyelesaikan studi.

- 14. Sahabatku Muhammad Raihan dan Muhammad Ridwan yang setia menemani penulis sejak SMP hingga menyelesaikan karya ini serta telah memberikan dukungan semangat, menghibur dan bercanda tawa bersama.
- 15. Ahmad Ichmatiar Assydiqi, Govanza Firdaus dan Muhammad Alif Nugroho yang telah membantu, menemani, memberi dukungan, dan tawa canda kepada penulis sejak mulai memasuki dunia kampus, hingga melaksanakan penelitian dan menyelesaikan perkuliahan.
- 16. Oktavia Pupung Sari, Anidita Fermian Sari, Okta Mardiana, dan Lulu Lusita yang telah menemani penulis, memberi dukungan, dan menjalani kehidupan kampus bersama-sama hingga menyelesaikan perkuliahan di Universitas Lampung.
- 17. Kakak-kakak, teman-teman Biologi Angkatan 2021 dan adik-adik yang telah memberikan dukungan, motivasi dan semangat kepada penulis.
- 18. Terimakasih untuk diriku sendiri yang telah mampu berjuang dan bertahan setelah melalui berbagai kesulitan dan kesusahan dari awal hingga akhir proses perkuliahan selesai.

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

Bandarlampung, 03 Juli 2025 Penulis,

Muhammad Sulthan Perdana Daramel

DAFTAR ISI

		Halaman
DAF	TAR TABEL	vi
DAF	TAR GAMBAR	vii
I.	PENDAHULUAN	1
	1.1 Latar Belakang	1
	1.2 Tujuan	4
	1.3 Manfaat Penelitian	5
	1.4 Kerangka Pemikiran	5
	1.5 Hipotesis	6
II.	TINJAUAN PUSTAKA	7
	2.1 Radikal Bebas	7
	2.2 Diazinon	8
	2.3 Gangguan Reproduksi Akibat Radikal Bebas	11
	2.4 Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758))	12
	2.4.1 Klasifikasi Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758))12
	2.4.2 Deskripsi Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758)).	13
	2.4.3 Sistem Reproduksi Mencit Jantan	14
	2.5 Tumbuhan Kemangi (Ocimum basilicum Linn.)	24
	2.5.1 Klasifikasi Tumbuhan Kemangi	24
	2.5.2 Deskripsi Tumbuhan Kemangi	25
	2.5.3 Kandungan Tumbuhan Kemangi	27
	2.5.4 Manfaat Tumbuhan Kemangi	27
III.	METODE PENELITIAN	30
	3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	30
	3.2 Alat dan Rahan	30

	3.2.1 Alat	30
	3.2.2 Bahan	31
	3.3 Prosedur Penelitian	32
	3.3.1 Rancangan Penelitian	32
	3.3.2 Persiapan Hewan Uji	34
	3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi	34
	3.3.4 Penginduksian Larutan Diazinon	37
	3.3.5 Penginduksian Ekstrak Etanol Daun Kemangi	38
	3.3.6 Pemberian Perlakuan	38
	3.3.7 Parameter Penelitian	39
	3.3.8 Pengambilan Data	39
	3.4 Analisis Data	43
	3.5 Diagram Alir Metode Penelitian	44
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	45
	4.1 Hasil dan Analisis Data	45
	4.2 Pembahasan	54
	4.2.1 Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Jumlah	
	Spermatozoa	54
	4.2.2 Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Viabilitas	
	Spermatozoa	56
	4.2.3 Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Motilitas	
	Spermatozoa	58
	4.2.4 Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Morfologi	
	Spermatozoa	60
V.	PENUTUP	63
	5.1 Kesimpulan	63
	5.2 Saran	63
DAFT	TAR PUSTAKA	64
LAM	PIRAN	80

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman		
1. Kelompok Perlakuan dan Pemberian Dosis		
2. Larutan Stok Ekstrak Etanol Daun Kemangi Selama 7 Hari36		
3. Larutan Stok Diazinon Selama 5 Hari		
4. Jumlah Spermatozoa Mencit Yang Diberi Larutan Diazinon dan Ekstrak Etanol		
Daun Kemangi45		
5. Persentase Viabilitas Spermatozoa Mencit Yang Diberi Larutan Diazinon dan		
Ekstrak Etanol Daun Kemangi		
6. Persentase Motilitas Spermatozoa Mencit Yang Diberi Larutan Diazinon dan		
Ekstrak Etanol Daun Kemangi		
7. Persentase Morfologi Spermatozoa Mencit Yang Diberi Larutan Diazinon dan		
Ekstrak Etanol Daun Kemangi		

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman
1. Struktur kimia C12H21N2O3PS
2. Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758))
3. Struktur Tubulus Seminiferus
4. Proses Spermatogenesis
5. Struktur Spermatozoa
6. Tumbuhan Kemangi25
7. Skema Rancangan Acak
8. Haemocytometer Improved Neubauer41
9. Diagram Alir Penelitian44
10. Viabilitas Spermatozoa Mencit Kontrol (Diberi Aquabidest 0,3 ml)47
11. Viabilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon47
12. Viabilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon +
Ekstrak Daun Kemangi dengan Dosis 3 mg48
13. Viabilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon +
Ekstrak Daun Kemangi dengan Dosis 6 mg48
14. Viabilitas Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon +
Ekstrak Daun Kemangi dengan Dosis 9 mg49
15. Morfologi Spermatozoa Mencit Kontrol (Diberi Aquabidest 0,3 ml)52
16. Morfologi Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon52
17. Morfologi Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon +
Ekstrak Daun Kemangi dengan Dosis 3 mg53
18. Morfologi Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon +
Ekstrak Daun Kemangi dengan Dosis 6 mg53
19. Morfologi Spermatozoa Mencit Yang Diinduksi 0,3 ml Larutan Diazinon +
Ekstrak Daun Kemangi dengan Dosis 9 mg54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan teknologi di bidang pertanian telah memberikan dampak positif dalam peningkatan produktivitas tanaman. Namun, penggunaan pestisida sintetik yang berlebihan dapat menimbulkan efek samping yang merugikan bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Salah satu jenis pestisida yang sering digunakan adalah pestisida organofosfat, seperti diazinon. Diazinon merupakan insektisida yang efektif dalam mengendalikan hama serangga, tetapi memiliki toksisitas yang cukup tinggi bagi organisme bukan sasaran, termasuk manusia dan hewan (Aini dkk., 2023).

Paparan diazinon dapat terjadi melalui berbagai jalur, seperti inhalasi, kontak kulit, atau konsumsi makanan dan air yang terkontaminasi. Diazinon dapat menghambat aktivitas enzim asetilkolinesterase, yang berperan penting dalam sistem saraf pusat. Penghambatan enzim ini dapat menyebabkan gangguan pada sistem saraf, seperti tremor, kejang, dan bahkan kematian pada paparan yang akut. Selain itu, diazinon juga dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel-sel tubuh, termasuk sel-sel sistem reproduksi (Al-Attabi *et al.*, 2017).

Sistem reproduksi pria sangat rentan terhadap paparan bahan kimia berbahaya, seperti pestisida organofosfat. Diazinon diketahui dapat menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis, penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa, serta peningkatan jumlah spermatozoa yang abnormal. Hal ini dapat terjadi karena diazinon dapat meningkatkan stres oksidatif pada sel-sel testis dan spermatozoa, yang dapat memicu kerusakan oksidatif pada membran sel, DNA, dan struktur lainnya. Selain itu, diazinon juga dapat mengganggu

keseimbangan hormon reproduksi, seperti testosteron dan gonadotropin, yang berperan penting dalam proses spermatogenesis (Rahimi *et al.*, 2016).

Diazinon berperan dalam pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), yang berkontribusi terhadap stres oksidatif, yang dimana hal tersebut dapat merusak komponen seluler, termasuk lipid, protein, dan DNA (Ahmed *et al.*, 2013). Menurut studi yang dilakukan oleh Adamkovicova et al., (2014) ditemukan bahwa paparan diazinon menyebabkan kerusakan histologis pada testis dan epididimis. Diazinon menghambat enzim asetilkolinesterase (AChE), sehingga menyebabkan penumpukan asetilkolin (ACh) di sinaps saraf. Akumulasi ACh ini mengganggu keseimbangan neurotransmiter dan impuls saraf. Gangguan ini berdampak pada hipotalamus, menghambat sekresi Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH). Penurunan GnRH menyebabkan produksi Luteinizing Hormone (LH) dan Follicle-Stimulating Hormone (FSH) oleh kelenjar hipofisis juga berkurang. Padahal, LH berperan dalam merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron, sementara FSH bersama testosteron mendukung proses spermatogenesis. Dengan demikian, penurunan kadar LH dan FSH menyebabkan produksi testosteron menurun, yang akhirnya menghambat pematangan dan perkembangan sel spermatozoa. Struktur kimia diazinon ditandai dengan adanya gugus fosforothioat, dengan rumus kimia diazinon adalah C12H21N2O3PS, yang menunjukkan adanya atom karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, fosfor, dan sulfur (Kakaei et al., 2023).

Spermatogenesis merupakan proses pembentukan sel spermatozoa yang berawal dari sel induk spermatogonia di dalam tubulus seminiferus testis. Tubulus seminiferus tersebut dilapisi oleh sel-sel Sertoli dan spermatogonia yang berperan dalam menyediakan nutrisi bagi spermatozoa yang belum matang (Malini dkk., 2013). Testis, sebagai organ tempat berlangsungnya spermatogenesis, memiliki sifat rentan terhadap oksidasi dan paparan radikal bebas yang dapat mengganggu proses spermatogenesis itu sendiri serta membran sel spermatozoa. Membran sel-sel spermatogenik tersusun atas asam lemak tak jenuh yang rentan terhadap peroksidasi lipid akibat radikal bebas

dan stres oksidatif. Kondisi ini dapat meningkatkan fluiditas membran, serta menginaktivasi ikatan membran dengan enzim dan reseptor. Hal tersebut pada akhirnya dapat menyebabkan kerusakan pada sel spermatozoa, penurunan ATP intraseluler, penurunan viabilitas spermatozoa, serta kerusakan morfologi spermatozoa yang mengakibatkan hilangnya kemampuan kapasitasi dan reaksi akrosom spermatozoa (Sukmaningsih dkk., 2009)

Untuk mengatasi dampak negatif dari paparan diazinon terhadap sistem reproduksi pria, diperlukan upaya untuk melindungi sel-sel spermatozoa dari kerusakan oksidatif dan menjaga keseimbangan hormon reproduksi. Salah satu alternatif yang dapat dipertimbangkan adalah pemanfaatan bahan alam yang memiliki aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, dan potensi dalam meningkatkan fungsi reproduksi. Salah satu tumbuhan yang diduga merupakan agen fertilitas adalah *Ocimum basilicum* Linn. atau lebih dikenal dengan nama lokal daun kemangi.

Daun kemangi merupakan tanaman obat yang kaya akan senyawa flavonoid, zinc, dan arginin. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif (Kumalasari dkk., 2020). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi memiliki potensi dalam melindungi testis dari kerusakan akibat radikal bebas dan meningkatkan kualitas spermatozoa. Menurut Maulia (2023), kandungan senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak etanol daun kemangi, seperti asam rosmarinat, apigenin, dan luteolin, diketahui dapat menghambat pembentukan radikal bebas, menangkap radikal bebas, dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase (Karta dkk., 2019). Sifat antioksidan tersebut membantu dalam mengurangi kerusakan oksidatif pada sel-sel spermatozoa, sehingga dapat meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa, serta berkontribusi pada peningkatan kualitas spermatozoa dengan cara mengurangi peradangan dan meningkatkan sirkulasi darah ke organ reproduksi (Sholihin, 2024).

Selain aktivitas antioksidan, ekstrak etanol daun kemangi juga diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi yang dapat melindungi sel-sel testis dari kerusakan akibat proses inflamasi. Proses inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel testis dan mengganggu proses spermatogenesis (Rustam dkk., 2020). Sedangkan kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak etanol daun kemangi seperti eugenol, diketahui dapat meningkatkan kadar testosteron dan gonadotropin, serta memperbaiki kualitas spermatozoa (Saleh *et al.*, 2024).

Meskipun demikian, belum banyak penelitian yang mengkaji efektivitas ekstrak etanol daun kemangi dalam mengatasi dampak paparan diazinon terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa mencit jantan yang diinduksi diazinon. Untuk itu dilakukan penelitian dengan judul Peningkatan Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* (Linn.)) Akibat Induksi Diazinon.

1.2 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1. Untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun kemangi terhadap jumlah spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 2. Untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun kemangi terhadap viabilitas spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 3. Untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun kemangi terhadap motilitas spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 4. Untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun kemangi terhadap morfologi spermatozoa normal mencit setelah diinduksi dengan diazinon.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi berharga tentang potensi daun kemangi sebagai alternatif pengobatan alami untuk mengatasi gangguan reproduksi pada hewan dan manusia akibat paparan pestisida. Dengan mengeksplorasi khasiat tanaman obat lokal ini, penelitian ini dapat mempromosikan pemanfaatan bahan alami yang aman dan efektif dalam bidang kesehatan.

Diharapkan juga dengan memanfaatkan ekstrak daun kemangi sebagai agen protektif terhadap kerusakan organ reproduksi akibat diazinon, penelitian ini dapat mendorong pengurangan penggunaan pestisida yang dapat mencemari lingkungan dan membahayakan kesehatan makhluk hidup.

1.4 Kerangka Pemikiran

Perkembangan teknologi di bidang pertanian telah memberikan dampak positif dalam peningkatan produktivitas tanaman. Namun, penggunaan pestisida sintetik yang berlebihan dapat menimbulkan efek samping yang merugikan bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Salah satu jenis pestisida yang sering digunakan adalah pestisida organofosfat, seperti diazinon. Diazinon merupakan insektisida yang efektif dalam mengendalikan hama serangga, tetapi memiliki toksisitas yang cukup tinggi bagi organisme bukan sasaran, termasuk manusia dan hewan.

Sistem reproduksi pria sangat rentan terhadap paparan bahan kimia berbahaya, seperti pestisida organofosfat. Diazinon diketahui dapat menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis, penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa, serta peningkatan jumlah spermatozoa yang abnormal. Hal ini dapat terjadi karena diazinon dapat meningkatkan stres oksidatif pada sel-sel testis dan spermatozoa, yang dapat memicu kerusakan oksidatif pada membran sel, DNA, dan struktur lainnya.

Akumulasi asetilkolin dapat terjadi karena disebabkan asetilkolinesterase diganggu oleh diazinon, yang menyebabkan sinaps tidak tertransmisi. Apabila sinaps tidak tertransmisi menyebabkan suplai GnRH ke dalam hipofisis terganggu. Tidak adanya GnRH, menyebabkan hipofisis tidak dapat memproduksi LH dan FSH, apabila LH dan FSH menurun atau tidak ada, dapat menyebabkan jumlah sel-sel germinal tidak dapat bermitosis, yang berakibat pada penurunan sel leydig yang berfungsi membuat testosteron, yang dapat mengakibatkan spermatogenesis terganggu. Apabila testosteron menurun dapat menyebabkan jumlah spermatozoa menjadi turun, viabilitas spermatozoa di epididimis rusak, dan spermiogenesis terhambat yang dapat mempengaruhi morfologi dari spermatozoa.

Untuk mengatasi dampak negatif dari paparan diazinon terhadap sistem reproduksi pria, diperlukan upaya untuk melindungi sel-sel spermatozoa dari kerusakan oksidatif dan menjaga keseimbangan hormon reproduksi. Salah satu alternatif yang dapat dipertimbangkan adalah pemanfaatan bahan alam yang memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan antioksidan dapat menangkal ROS yang ada di hipotalamus, sehingga asetilkolinesterase bekerja aktif mengubah asetilkolin dalam transmisi sinaps, sehingga suplai GnRH ke dalam hipofisis dapat berjalan lancar lagi. Daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) merupakan tanaman obat yang kaya akan senyawa flavonoid, zinc, dan arginin yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi.

1.5 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1. Ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 2. Ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan viabilitas spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 3. Ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 4. Ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan morfologi spermatozoa normal mencit yang diinduksi dengan diazinon.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal Bebas

Ada dua jenis utama radikal bebas yang umum yaitu *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). ROS, seperti hidrogen peroksida diproduksi sebagai produk sampingan alami dari metabolisme sel (Kurutas, 2015). Molekul yang sangat reaktif, *reactive oxygen species* (ROS), memegang peran penting dalam berbagai proses biologis. Radikal bebas tersebut muncul sebagai hasil alami dari aktivitas sel normal, penguraian oksigen oleh mitokondria, dan respons sel terhadap zat asing, zat sitokin, dan serangan bakteri (Ray *et al.*, 2012). ROS terdiri dari radikal seperti superoksida anion dan molekul non-radikal seperti hidrogen peroksida, yang berasal dari oksigen (Forrester *et al.*, 2018). Di samping itu, ROS juga telah terkait dengan masalah kesuburan pada pria karena dampak negatifnya terhadap kualitas dan fungsi spermatozoa.

Reactive nitrogen species (RNS) adalah kelas senyawa reaktif secara kimia yang mengandung nitrogen dan dihasilkan melalui berbagai proses biologis dan kimia. RNS mencakup molekul seperti oksida nitrat dan nitrogen dioksida. Spesies ini memainkan peran penting dalam stres oksidatif (Ye et al., 2015). RNS diketahui terlibat dalam berbagai proses fisiologis dan patologis, seperti infertilitas pria, yang terlibat dalam gangguan fungsi reproduksi pria (Doshi et al., 2012).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel melalui dua cara utama. Pertama, radikal bebas bersifat reaktif dan dapat menimbulkan kerusakan pada komponen sel seperti lipid, protein, dan DNA, serta menyebabkan mutasi dan bersifat *karsinogenik* (Mushidah dan Muliawati, 2019). Kedua, radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel dengan membentuk jenis *Reactive Oxygen Species* (ROS) tertentu, seperti radikal superoksida, yang seringkali mengakibatkan kerusakan pada sel kuffer di jaringan hati (Suryadinata dkk., 2022).

2.2 Diazinon

Insektisida organofosfat dipakai untuk mengendalikan hama serangga pada tanaman cabai, kapas, jagung, bawang, kentang, sayur-sayuran, dan tanaman lainnya (Sutamihardja dkk., 2017). Senyawa organofosfat ini adalah pestisida yang sangat efektif dalam membasmi serangga dan sangat populer dalam pengendalian hama di pertanian di seluruh dunia (Neylon *et al.*, 2022). Insektisida organofosfat merupakan salah satu jenis insektisida yang termasuk dalam kategori pestisida paling beracun dan berpotensi menimbulkan keracunan pada manusia (Daely dan Manurung, 2020). Insektisida organofosfat bekerja dengan cara menghambat enzim asetilkolinesterase (AChE) di sistem saraf, sehingga menyebabkan penumpukan asetilkolin di sinapsis dan *neuromuscular junction* (Khamidah, 2022).

Dalam hal lingkungan, penggunaan insektisida organofosfat seperti *chlorpyrifos* dapat berdampak negatif pada lingkungan dan organisme nontarget seperti ikan (Pratama dkk., 2021). Menurut studi Santoso dkk (2016) menunjukkan bahwa penggunaan pestisida organofosfat juga dapat berdampak pada mikroorganisme tanah seperti cacing tanah. Kegunaan organofosfat yang berlebihan bisa menimbulkan polusi lingkungan, contohnya terlihat pada insiden kontaminasi racun yang berdampak pada makhluk hidup di air (Weston dan Lydy, 2010). Di samping itu, organofosfat juga terlibat dalam kejadian keracunan pada manusia, dengan tanda-tanda mulai dari kelemahan otot hingga nyeri perut (Chowdhury *et al.*, 2014).

Menurut perkiraan Badan Kesehatan Dunia atau WHO, setiap tahunnya terjadi antara 1 hingga 5 juta kasus keracunan herbisida atau racun untuk membunuh gulma yang menimpa para pekerja di bidang pertanian. Dari jumlah kasus keracunan tersebut, tingkat kematiannya mencapai 220.000 korban jiwa. Sebanyak 80% dari total kasus keracunan herbisida ini dilaporkan terjadi di negara-negara yang sedang dalam tahap berkembang (Pamungkas, 2017).

Insektisida organofosfat dapat memasuki tubuh manusia melalui tiga jalur utama yaitu sistem pencernaan (saat menelan makanan atau minuman yang terkontaminasi), sistem pernapasan (menghirup uap atau partikel), dan penyerapan melalui kulit (Erenler et al., 2014). Ketika seseorang terpapar organofosfat, gejala keracunan biasanya muncul dengan cepat, dalam waktu 1-2 jam (Manouchehri et al., 2017). Gejala-gejala ini bisa bermacam-macam, mulai dari otot yang lemah, sakit perut, hingga masalah saraf yang lebih serius seperti otot yang berkedut tidak terkendali (fasikulasi) atau bahkan kelumpuhan (Chowdhury et al., 2014). Untuk mendiagnosis keracunan organofosfat, dokter biasanya memeriksa kadar enzim kolinesterase dalam sel darah merah, yang akan menurun jika terjadi keracunan. Pengobatan untuk kasus keracunan akut bisa melibatkan pemberian obat penangkal seperti pralidoxime (Roberts et al., 2012). Selain itu, keracunan organofosfat juga dapat menyebabkan komplikasi pada paru-paru, seperti timbulnya udara di rongga dada (pneumotoraks) atau di sekitar jantung (pneumomediastinum) (Kaeley et al., 2022).

Salah satu jenis organofosfat yang banyak digunakan adalah diazinon, diazinon (O,O-Diethyl O-[4-methyl-6-(propan-2-yl)pyrimidin-2-yl] phosphorothioate) merupakan salah satu pestisida organofosfat yang banyak digunakan untuk mengendalikan serangga pada tanaman seperti kubis, kapas, dan hama bawah tanah. Toksisitas diazinon disebabkan oleh terhambatnya enzim asetilkolinesterase yang berperan menghentikan

transmisi impuls pada sinapsis kolinergik sistem saraf dengan cara memecah neurotransmitter asetilkolin (Toman dan Tunegova, 2017). Diazinon memiliki rumus molekul C12H21N2O3PS dengan struktur kimia sebagai berikut:

$$H_3C$$
 CH_3
 N
 N
 S
 CH_3
 H_3C
 O
 O
 CH_3

Gambar 1. Struktur kimia C12H21N2O3PS (Huda, 2017)

Dalam lingkungan, diazinon bisa terurai melalui proses biodegradasi oleh mikroba tertentu seperti *Pseudomonas plecoglossicida* (Borji *et al.*, 2014). Tetapi, kekhawatiran muncul terhadap tingkat keberacunan dan pencemaran air akibat penggunaan diazinon dalam pertanian. Pada penelitian Attabi *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa paparan diazinon dapat mengganggu fungsi sel-sel Leydig di testis, yang bertanggung jawab untuk produksi testosteron, yang merupakan hormon kunci dalam proses spermatogenesis. Perubahan dalam tingkat testosteron ini dapat menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa dan kematangan DNA spermatozoa. Efek-efek tersebut berkontribusi pada penurunan keberhasilan fertilisasi in vitro pada mencit. Spermatozoa dengan DNA yang rusak atau tidak matang memiliki kemampuan yang lebih rendah untuk membuahi sel telur dan mendukung perkembangan embrio awal yang normal. Akibatnya, tingkat keberhasilan fertilisasi in vitro pada mencit yang terpapar diazinon dapat mengalami penurunan.

Gejala keracunan diazinon biasanya terkait dengan gejala kolinergik, termasuk gangguan saluran pencernaan (mual, muntah, diare), gangguan saraf pusat (pusing, sakit kepala, kebingungan, kejang), dan gangguan pernapasan (sesak napas) (Attafi *et al.*, 2018). Selain itu, keracunan

diazinon juga dapat menyebabkan gangguan pada organ tertentu, seperti kerusakan hati yang terkait dengan stres oksidatif. Dalam situasi yang lebih serius, seperti dalam paparan inhalasi yang tinggi, diazinon juga dapat menimbulkan masalah ginjal yang mendadak (Majd *et al.*, 2022). Dalam mengatasi keracunan akut oleh pestisida organofosfat, seperti diazinon, langkah-langkah penanganan meliputi dekontaminasi, *lavage* lambung, terapi antidotum dengan atropin dan oksima, serta terapi suportif dengan benzodiazepin (Kumar *et al.*, 2014).

Toksisitas dari diazinon terutama berasal dari akumulasi oksida nitrat dan dietil-hidroksil yang menyebabkan nekrosis dan peradangan pada sel hati (Firdaus dkk., 2022). Pada penelitian Hidayatullah dkk (2020) yang menyoroti hubungan antara faktor pekerjaan dan aktivitas asetilkolinesterase eritrosit, efek toksik organofosfat seperti diazinon melibatkan penghambatan enzim AChE. Penemuan ini menekankan bagaimana mekanisme diazinon menyebabkan efek beracun, terutama dengan cara menghambat aktivitas AChE, yang mengakibatkan berbagai dampak fisiologis. AChE berfungsi untuk memecah asetilkolin (ACh) menjadi kolin dan asetat, sehingga mengatur kadar ACh di sinapsis. Ketika diazinon menghambat AChE, terjadi akumulasi asetilkolin yang berlebihan, yang dapat menyebabkan efek neurotoksik pada sistem saraf. Mekanisme penghambatan ini terjadi karena diazinon berikatan dengan residu serin pada situs aktif AChE. Proses ini mengakibatkan pembentukan senyawa fosforilasi yang stabil, yang menghalangi enzim untuk menjalankan fungsinya dalam memecah asetilkolin. Akibatnya, kadar asetilkolin meningkat, yang dapat menyebabkan overstimulasi pada reseptor kolinergik, berujung pada gejala keracunan seperti tremor, kejang, dan bahkan kematian (Hendrawan dkk., 2023).

2.3 Gangguan Reproduksi Akibat Radikal Bebas

Radikal bebas dapat menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi manusia. Ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan dapat menyebabkan penyakit reproduksi seperti infertilitas (Agarwal *et al.*, 2012).

Radikal bebas dapat merusak makromolekul seperti lipid membran sel, DNA, dan protein, kerusakan ini dapat mengganggu proses spermatogenesis (Kusbandari dan Susanti, 2017). Dalam hal ini, radikal bebas pun dapat menghasilkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan asli, sehingga bisa menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi saat jumlah radikal bebas yang dihasilkan melebihi kemampuan antioksidan tubuh untuk menetralkannya, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel dan jaringan, termasuk dalam sistem reproduksi (Yuslianti dkk., 2023).

Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai biomolekul, termasuk DNA spermatozoa, yang berpotensi mengakibatkan kematian sel. Hal ini disebabkan oleh kemampuan radikal bebas untuk menyerang lipid, protein, dan DNA, yang dapat mengganggu integritas sel dan memicu stres oksidatif (Pratama dan Busman, 2020). Stres oksidatif yang dihasilkan dari akumulasi radikal bebas, dapat merusak jaringan testis, terutama pada tubulus seminiferus, yang merupakan lokasi utama proses spermatogenesis. Sitoplasma atau cairan sel spermatogenik mengandung sejumlah enzim penyerap (*scavenging enzyme*) dalam jumlah terbatas, yang tidak cukup untuk melindungi membran plasma dari serangan radikal bebas. Akibatnya, kerusakan pada membran plasma spermatozoa dapat terjadi, yang berujung pada penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa (Agarwal *et al.*, 2014).

2.4 Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758))

2.4.1 Klasifikasi Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758))

Berdasarkan klasifikasi hewan mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) (Gambar 2) sebagai berikut :

Kingdom : Animalia Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Class : Mammalia

Order : Rodentia

Suborder : Myomorpha

Superfamily : Muroidea

Family : Muridae

Subfamily : Murinae

Genus : Mus

Species : Mus musculus (Linnaeus, 1758)



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) (Permatasari, 2019)

2.4.2 Deskripsi Mencit (Mus musculus (Linnaeus, 1758))

Mencit termasuk ke dalam kelompok hewan mamalia. Hewan pengerat ini bersifat omnivor (pemakan segalanya) dan nokturnal (aktif pada malam hari). Ciri-ciri umum mencit adalah memiliki bulu tubuh berwarna putih atau keabu-abuan dengan perut yang sedikit pucat, serta mata yang berwarna merah atau hitam. Mencit berbentuk tubuh kecil dan berwarna putih, memiliki siklus estrus (periode birahi) yang pendek dan teratur, yaitu antara 4-5 hari. Mencit jantan memiliki berat badan sekitar 18-35 gram. Umumnya mencit dapat hidup selama 1-2 tahun dan mencapai kedewasaan

pada usia 35-60 hari. Spesies *Mus musculus* memiliki masa reproduksi 1,5 tahun dengan waktu kehamilan 19-21 hari dan dapat melahirkan 6-15 ekor anak dalam satu kelahiran. Berat dewasa mencit rata-rata 18-35 gram, sedangkan berat lahirnya adalah 0,5-1,0 gram. Suhu tubuh mencit berkisar antara 35-39°C dengan pernapasan mencit 140-180 kali per menit dan detak jantung mencit 600-650 kali per menit (Rudini dkk., 2021).

Mencit sering dipilih sebagai hewan percobaan efisien yang sering digunakan dalam penelitian. Ini disebabkan oleh kemudahan perawatan mencit, tidak memerlukan ruang yang besar, memiliki masa kehamilan yang singkat, dan mampu melahirkan banyak anak sekaligus. Mencit masuk ke dalam kategori rodentia, yang merupakan golongan mamalia yang bisa hidup di berbagai habitat di seluruh dunia dengan lebih dari 2.050 spesies yang telah teridentifikasi. Mencit bisa hidup bersama dengan manusia, dan juga dapat terlibat dalam hubungan parasitisme dan mutualisme dengan makhluk hidup lainnya (Rudini dkk., 2021).

Mencit tersebar luas di berbagai belahan dunia, termasuk di sekitar lingkungan manusia dan di wilayah terpencil. Keberadaan mencit di sekitar bangunan manusia sering kali disebabkan oleh adanya ketersediaan makanan dan tempat berteduh. Semua jenis mencit yang sedang digunakan di laboratorium saat ini berasal dari mencit liar yang telah melalui proses pemuliaan yang selektif (Matsumoto *et al.*, 2017).

2.4.3 Sistem Reproduksi Mencit Jantan

Sistem reproduksi jantan terdiri dari organ dan kelenjar kompleks yang bekerja bersama untuk memastikan reproduksi yang sukses. Komponen sistem tersebut mencakup testis untuk menghasilkan spermatozoa, saluran untuk mengangkut spermatozoa, kelenjar aksesori untuk memproduksi cairan mani, dan penis untuk mengeluarkan spermatozoa. Testis memiliki berbagai jenis sel seperti sel spermatogenik, sel leydig, dan sel Sertoli, yang memiliki peran penting dalam spermatogenesis (Liang *et al.*, 2022).

A. Testis

Testis merupakan organ penting yang bertanggung jawab untuk produksi spermatozoa dan sintesis androgen (Stopel, 2024). Menurut studi Scharer *et al.*, (2004) ukuran testis dikaitkan dengan berbagai faktor seperti strategi perkawinan, ekspresi gen, dan seleksi seksual, serta dalam penelitiannya juga menunjukkan bahwa ukuran testis dapat mencerminkan aktivitas proliferasi sel testis, dan testis yang lebih besar mungkin menunjukkan peningkatan kompetisi spermatozoa.

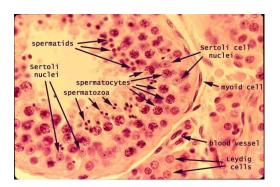
Pada mamalia, termasuk manusia dan hewan pengerat, testis merupakan organ berpasangan berbentuk oval yang terletak di dekat ginjal dan ditempatkan di skrotum di luar perut. Testis manusia dewasa biasanya berukuran panjang antara 4,1-5,2 cm dan lebar 2,5-3,3 cm, sedangkan testis hewan pengerat dewasa memiliki panjang rata-rata 4,6 cm dan diameter 2,6 cm (Lupianez *et al.*, 2012).

Spermatogenesis, proses produksi spermatozoa, terjadi di tubulus seminiferus testis, tempat sel germinal berinteraksi dengan sel Sertoli untuk mendukung pematangan spermatozoa (Zou, 2023). Sel Sertoli sangat penting dalam spermatogenesis dan perkembangan gonad, memberikan dukungan penting untuk diferensiasi sel germinal (Gao, 2024).

Struktur testis merupakan sistem yang kompleks yang berperan penting dalam proses spermatogenesis. Mediastinum testis

membagi testis menjadi sekitar 250 ruang berbentuk piramida yang dikenal sebagai lobulus testis. Lobulus-lobulus ini saling terhubung sehingga tidak sepenuhnya terpisah. Setiap lobulus memiliki 1-4 tubulus seminiferus, yang merupakan saluran berbentuk lingkaran dengan diameter sekitar 150-250 µm dan panjang 30-70 cm, berperan sebagai tempat spermatogenesis (Loberant *et al.*, 2010). Testis memiliki perbedaan antara satu spesies dengan spesies lain. Contohnya, pada manusia, testis terbagi menjadi lobulus berdasarkan septa jaringan ikat, sedangkan pada tikus, tubulus seminiferus tidak terbagi menjadi lobulus karena tidak ada septa (Nakata *et al.*, 2020).

Tubulus seminiferus adalah bagian penting dalam spermatogenesis karena memiliki beberapa lapisan yang mendukung fungsi reproduksi testis. Lapisan pertama yang melapisi tubulus seminiferus adalah tunika propria fibrosa, terdiri dari sel mioid dan fibroblas. Jenis sel ini dapat mengubah ukuran tubulus seminiferus dan membantu dalam pergerakan spermatozoa di sepanjang tubulus. Di bawah lapisan fibrosa tunika propria, terdapat lamina basalis yang menopang epitel germinativum, lapisan luar yang memiliki dua jenis sel utama: sel spermatogenik dan sel Sertoli. Sel-sel yang mengalami proses spermatogenesis berubah menjadi spermatozoa, sedangkan sel Sertoli bertanggung jawab dalam memberikan nutrisi untuk pertumbuhan spermatozoa (Basar dkk, 2017).



Gambar 3. Struktur Tubulus Seminiferus (Purwoistri, 2010)

B. Sistem Duktus

Sistem duktus dalam sistem reproduksi pria meliputi rete testis, duktus eferen, epididimis, dan duktus deferens. Rete testis berperan sebagai penghubung vital antara tubulus seminiferus dan saluran eferen, mendukung pengangkutan spermatozoa. Duktus eferen adalah saluran yang membentuk banyak jalur menuju epididimis, berperan dalam pematangan dan penyimpanan sel spermatozoa (Sajadi *et al.*, 2009).

Epididimis, yang terletak di bagian dorsolateral testis, merupakan struktur yang panjangnya membentang dari kranial ke kaudal testis. Struktur ini terdiri dari dua duktus utama, yaitu duktus eferen dan duktus epididimis. Epididimis terbagi menjadi tiga bagian, yaitu kepala (kaput), badan (korpus), dan ekor (kauda). Bagian kepala dan korpus berperan dalam pematangan spermatozoa serta reabsorpsi air, sementara bagian ekor berfungsi sebagai tempat penyimpanan spermatozoa (Sharma *et al.*, 2016).

Proses pematangan spermatozoa terjadi secara bertahap di epididimis. Spermatozoa yang masuk ke epididimis dari testis sebagai sel yang tidak bergerak akan mengalami transformasi menjadi sel yang bergerak dan siap untuk fertilisasi melalui proses maturasi yang kompleks. Proses ini membutuhkan waktu beberapa hari karena spermatozoa harus melewati berbagai bagian epididimis (Westmuckett *et al.*, 2014)

Epididimis bertanggung jawab untuk mengangkut dan mematangkan spermatozoa. Fungsinya sebagai saluran bagi sel spermatozoa, memindahkannya dari testis ke vas deferens (Heifetz dan Wolfner, 2004). Vas deferens, juga dikenal sebagai duktus deferens, memainkan peran penting dalam sistem reproduksi pria

dengan mengangkut spermatozoa dari cauda epididymis ke uretra untuk ejakulasi. Saluran ini bertugas merangsang motilitas spermatozoa, reaksi akrosom, dan berikatan dengan zona pelusida, selain mengatur transportasi elektrolit dan cairan. Selain itu, vas deferens terlibat dalam proses seperti penyimpanan spermatozoa dan pelepasan spermatozoa yang layak (Alkafafy *et al.*, 2010).

C. Kelenjar Aksesori

Sistem reproduksi pria terdiri dari berbagai kelenjar aksesori yang penting untuk produksi cairan spermatozoa guna mendukung kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Kelenjar tersebut antara lain vesikula seminalis, kelenjar prostat, kelenjar bulbourethral, ampula, dan kelenjar preputial. Vesikula seminalis menyumbang sekitar 70% cairan dalam air mani, sedangkan kelenjar prostat dan bulbourethral juga mensekresi komponen penting. Sekresi dari kelenjar aksesori ini menciptakan lingkungan yang optimal untuk pembuahan dengan menyediakan media yang sesuai untuk kelangsungan hidup spermatozoa dan meningkatkan motilitasnya dalam saluran reproduksi (Marwoto dkk., 2020).

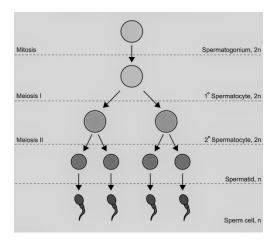
Kelenjar vesikula seminalis pada mencit berperan penting dalam memproduksi cairan spermatozoa yang menunjang kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Kelenjar ini terletak di atas kelenjar prostat dan menghasilkan cairan basa kental berwarna kekuningan. Cairan ini mengandung fruktosa yang berfungsi sebagai sumber energi utama spermatozoa. Selain fruktosa, cairan vesikula seminalis juga mengandung senyawa lain seperti glukosa, asam amino, vitamin C, dan prostaglandin yang berperan sebagai substrat metabolisme spermatozoa (Cao *et al.*, 2023).

Kelenjar prostat pada mencit, terletak di bawah vesikula seminalis, mengeluarkan cairan yang mengandung enzim antikoagulan dan asam sitrat. Sekresi ini sangat penting untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa (Muro *et al.*, 2021).

D. Alat Kelamin Luar (Penis)

Alat kelamin luar atau organ sanggama pada mencit adalah penis, yang bertanggung jawab untuk buang air kecil dan pengendapan air mani ke dalam saluran reproduksi wanita. Terdiri dari corpus cavernosum, corpus spongiosum, dan glans penis (Alsayed, 2024).

E. Spermatogenesis



Gambar 4. Proses Spermatogenesis (Lefaan, 2014)

Spermatogenesis adalah proses yang melibatkan proliferasi dan diferensiasi spermatogonia menjadi spermatozoa di dalam tubulus seminiferus. Pada mencit, satu siklus lengkap spermatogenesis berlangsung sekitar 35-36 hari, dengan setiap siklus memakan waktu sekitar 8-9 hari. Durasi ini mencakup jangka waktu spesifik untuk berbagai fase: 8 hari untuk transformasi spermatogonia A menjadi spermatosit primer, 12,5 hari untuk meiosis spermatosit primer dan sekunder, 9,5 hari untuk fase spermatid, dan 5,5 hari untuk pematangan (Cordeiro *et al.*, 2021).

Spermatogenesis terbagi menjadi tiga tahap utama: spermatositogenesis, meiosis, dan spermiogenesis. Tahap pertama,

spermatositogenesis, melibatkan pembelahan mitosis dari sel spermatogonia A menjadi spermatogonia B, yang kemudian bermitosis menjadi spermatosit primer. Pada tahap kedua, spermatosit primer mengalami pembelahan meiosis menjadi spermatosit sekunder. Spermatosit sekunder kemudian mengalami pembelahan meiosis membentuk spermatid yang haploid, di mana tiap spermatosit primer dapat menghasilkan empat spermatid. Spermatid tersebut kemudian menuju tahap spermiogenesis, di mana terjadi transformasi morfologis yang signifikan hingga terbentuknya spermatozoa matang (Minamino *et al.*, 2021).

Spermiogenesis adalah tahap transformasi spermatid bulat menjadi spermatozoa memanjang dengan struktur berbeda seperti kepala, leher, dan ekor. Proses ini ditandai dengan berbagai perubahan pada tingkat sel, termasuk pembentukan kembali spermatid, kondensasi inti, dan perkembangan flagella (Struijk *et al.*, 2018). Spermiogenesis pada mencit melibatkan 16 tahap yang didasarkan pada perubahan pada akrosom dan nukleus, yang dibagi menjadi empat fase utama: fase golgi (tahap 1-3), fase tudung (tahap 4-7), fase akrosom (tahap 8-12), dan fase pematangan (tahap 13-16). Tahap ini merupakan proses penting dalam perkembangan spermatozoa, di mana spermatid mengalami transformasi menjadi spermatozoa yang matang. Setelah spermiogenesis, proses dilanjutkan ke tahap spermiasi, di mana spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus seminiferus Yokota *et al.* (2021).

F. Spermatozoa

Spermatozoa, sel reproduksi pria, terdiri dari tiga bagian utama: kepala, leher, dan ekor. Panjang total spermatozoa pada tikus sekitar 1.226 µm, dengan kepala berbentuk kait (Yuan *et al.*, 2015).

Kepala spermatozoa dilindungi oleh lapisan protoplasma atau galea capitis serta terdiri dari nukleus dan akrosom. Selama proses spermatogenesis, inti kepala spermatozoa berisi materi genetik (DNA) yang terkondensasi menjadi kromatin padat. Kromatin yang padat dan seragam ini dilindungi oleh membran plasma dan selubung inti (Hilia *et al.*, 2023).

Akrosom mengandung sejumlah enzim yang vital untuk proses fertilisasi. Enzim-enzim ini termasuk hialuronidase, *corona penetrating enzyme* (CPE), dan akrosin. Hialuronidase berperan dalam menembus lapisan terluar ovum, *corona penetrating enzyme* (CPE) membantu menembus lapisan tengah ovum, sedangkan akrosin berfungsi untuk menembus lapisan dalam ovum, zona pelusida (Fannessia *et al.*, 2015).

Spermatozoa mengalami pematangan yang penting di epididimis, di mana terjadi perubahan secara morfologi, fisiologi, biokimia, dan metabolisme. Salah satu perubahan morfologi yang terjadi adalah proses hilangnya *cytoplasmic droplet* pada spermatozoa. *Cytoplasmic droplet* merupakan sisa sitoplasma yang masih melekat pada spermatozoa dan merupakan tanda dari proses pematangan spermatozoa (Varesi *et al.*, 2013).

Keberadaan *cytoplasmic droplets* pada spermatozoa mengindikasikan kematangan yang belum sempurna dan dapat mengakibatkan penurunan fertilitas spermatozoa. Proses pematangan melibatkan perubahan dalam bentuk akrosom dan kapasitas motilitas. *Cytoplasmic droplets* adalah sisa sitoplasma spermatid yang ditemukan pada sel spermatozoa selama spermatogenesis, mewakili perubahan fisiologis signifikan pada spermatozoa selama pematangan. *Cytoplasmic droplets* mengandung komponen unik seperti lipid, RNA, dan enzim yang

dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa. Spermatozoa dengan *cytoplasmic droplets* yang tertahan mungkin menghambat motilitasnya, sehingga mempengaruhi kemampuannya untuk membuahi sel telur (Angrimani *et al.*, 2017).

G. Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa dianggap normal pada pria apabila jumlahnya melebihi 20 juta per mililiter. Seorang laki-laki dianggap tidak subur jika memiliki kurang dari 20 juta spermatozoa per mililiter atau diklasifikasikan sebagai oligozoospermia. Jumlah normal spermatozoa pada mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) adalah sekitar 50 juta per mililiter (Dey *et al.*, 2019).

H. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa merupakan kualitas gerak dari spermatozoa yang mencakup tipe pergerakan dan kecepatan gerak. Penilaian motilitas spermatozoa umumnya dilakukan melalui uji mikroskopis untuk mengevaluasi daya gerak spermatozoa (Nahdiyah *et al.*, 2020).

Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti waktu pemeriksaan setelah ejakulasi, jarak antar ejakulasi, suhu, komposisi ionik, radiasi elektromagnetik, spesies oksigen reaktif (ROS), viskositas, pH, tekanan osmotik, aspek imunologi, serta aspek imunologi. sebagai faktor yang merangsang atau menghambat motilitas. Salah satu faktor penting yang dapat mengganggu motilitas spermatozoa adalah kerusakan yang disebabkan oleh ROS, yang dapat menghambat reaksi akrosomal dan mempengaruhi integritas ekor spermatozoa, yang keduanya penting untuk motilitas spermatozoa (Jansen *et al.*, 2014).

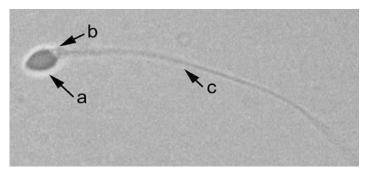
Kadar ROS yang tinggi dapat memiliki dampak yang merugikan pada motilitas spermatozoa melalui kerusakan membran mitokondria. ROS memiliki kemampuan untuk merusak membran mitokondria, yang pada gilirannya dapat menyebabkan gangguan pada fungsi potensial mitokondria. Hal ini kemudian akan mengganggu motilitas spermatozoa karena energi yang dibutuhkan untuk motilitas spermatozoa disuplai dalam bentuk ATP yang dihasilkan oleh mitokondria pada badan ekor (Kowsar *et al.*, 2021). ROS dapat menyebabkan kerusakan pada membran mitokondria dan mengganggu produksi ATP, yang merupakan sumber energi utama bagi motilitas spermatozoa. Selain itu, peningkatan produksi ROS juga dapat merusak DNA mitokondria, produksi ATP, dan ketersediaan energi, yang pada akhirnya dapat mengurangi motilitas spermatozoa dan kemampuan fertilisasi (Yan *et al.*, 2017).

I. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah proporsi spermatozoa hidup dalam semen. Menurut Bria (2021), viabilitas spermatozoa merupakan kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup sejak awal penyimpanan hingga mati, di mana spermatozoa hidup tidak menyerap warna pada bagian kepalanya. Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarna eosinnegrosin, di mana sel mati akan menyerap zat warna. Metode ini memungkinkan untuk membedakan antara spermatozoa hidup dan mati. Selain itu, spermatozoa hidup tetapi tidak motil juga dapat mengindikasikan adanya kelainan struktur pada flagel spermatozoa. Pengamatan viabilitas dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa hidup dari jumlah total spermatozoa yang diamati di bawah mikroskop perbesaran 400x (Zuhdi dan Ducha, 2021).

J. Morfologi Spermatozoa

Abnormalitas pada spermatozoa, seperti teratozoospermia, dapat terjadi baik sebagai abnormalitas primer yang terjadi selama spermatogenesis maupun sebagai abnormalitas sekunder yang terjadi pada proses pematangan di epididimis. Abnormalitas primer meliputi berbagai bentuk seperti kepala besar, kepala kecil, kepala rangkap, ekor rangkap, dan ekor menggulung. Sementara itu, abnormalitas sekunder dapat berupa masih terdapatnya cytoplasmic droplet pada spermatozoa. Spermatozoa dianggap fertil jika memiliki jumlah spermatozoa abnormal di bawah 40%, dan morfologi normal yang kurang dari 4% disebut teratozoospermia (Atmoko, 2024).



Gambar 5. Struktur Spermatozoa ; a: kepala, b: bagian tengah, c. ekor. (Susetyarini, 2018)

2.5 Tumbuhan Kemangi (Ocimum basilicum Linn.)

2.5.1 Klasifikasi Tumbuhan Kemangi

Ocimum basilicum Linn. atau biasa disebut dengan nama kemangi berdasarkan klasifikasi menurut Verma (2016), adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Sub-Kingdom: Tracheobionta

Divisio: Spermatophyta

Sub-Divisi : Angiospermae

Classis : Magnoliopsida

Ordo : Lamiales

Familia : Lamiacae

Genus : Ocimum

Species : Ocimum basilicum Linn.

Ocimum basilicum Linn. dalam bahasa lain biasa disebut sebagai Inggris "lemon basil", Indonesia "kemangi", dan untuk penyebutan di Indonesia juga beragam seperti : Sunda "serawung", Ternate "lufe-lufe", Jawa Tengah "kelampes", Tapanuli "bane-bane", Makassar "camangi" (Mead, 2014).

2.5.2 Deskripsi Tumbuhan Kemangi

Kemangi (*Ocimum basilicum*) adalah tumbuhan yang sering ditemukan di berbagai habitat, termasuk pinggir sawah, persawahan kering, taman, dan hutan terbuka. Tumbuhan ini dapat tumbuh di daerah dataran rendah hingga ketinggian 1.100 meter di atas permukaan laut, dan biasanya tumbuh antara pertengahan Februari hingga akhir September, dengan masa berbunga sekitar bulan April (Hadi, 2023).



Gambar 6. Tumbuhan Kemangi (Wijaya, 2022)

Kemangi (*Ocimum basilicum*) adalah tumbuhan herba yang umum ditemukan di iklim tropis, dengan tinggi mencapai antara 0,3 hingga 1,5 meter. Tumbuhan ini memiliki sistem perakaran

tunggang yang kuat, yang mendukung pertumbuhannya di berbagai jenis tanah. Kemangi termasuk dalam kategori tumbuhan semak atau herba tegak, dengan tajuk yang membulat dan cabang yang banyak, serta dikenal karena baunya yang sangat harum (Hadi, 2023). Batang kemangi memiliki karakteristik yang khas; batang utamanya sering kali tidak jelas, berwarna hijau keunguan saat muda, dan dapat berubah menjadi kecoklatan saat sudah tua. Batang ini berkayu, segiempat, dan memiliki alur, yang memberikan tampilan yang unik pada tumbuhan ini. Selain itu, batang kemangi juga dapat berbulu, meskipun kadang tidak (Guntur dkk., 2021).

Daun kemangi, yang dikenal sebagai *Ocimum basilicum* atau *Ocimum sanctum*, memiliki karakteristik morfologi yang khas.

Daun ini tersusun secara berhadapan, dengan bentuk helaian yang bervariasi dari bulat telur hingga lonjong-elips, dan memiliki ujung yang bisa runcing atau tumpul. Pangkal daun berbentuk kerucut membulat, serta permukaan daun yang berbulu halus di kedua sisi.

Tepi daun dapat ditemukan dalam variasi, mulai dari sedikit bergerigi hingga bergelombang atau rata (Maksumah dkk., 2021).

Bunga tumbuhan kemangi, yang dikenal sebagai *Ocimum* basilicum, memiliki karakteristik morfologi yang unik. Bunga ini bersifat hermafrodit dan tersusun pada tangkai bunga yang tegak lurus, dengan warna putih dan aroma harum yang ringan. Bunga kemangi biasanya muncul dalam bentuk majemuk, dengan warna yang bervariasi antara ungu dan hijau. Mahkota bunga berwarna putih, di mana benang sari terletak di pangkal mahkota, dan putik yang bercabang namun tidak simetris (Hadi, 2023). Buah kemangi berwarna coklat tua dan berbentuk kotak, yang masing-masing mengandung empat biji. Biji kemangi memiliki ukuran kecil, keras, dan berwarna hitam, yang merupakan ciri khas dari spesies ini (Walewangko dkk., 2019). Keberadaan biji yang kecil dan keras ini

memungkinkan kemangi untuk berkembang biak dengan efisien, serta memberikan kontribusi pada penyebaran tanaman ini di berbagai habitat.

2.5.3 Kandungan Tumbuhan Kemangi

Menurut studi yang dilakukan oleh Tandi dkk., (2019), ekstrak etanol dari daun kemangi memiliki kandungan saponin, tanin, dan flavonoid. Dalam studi yang dilakukan oleh Ginting (2004), minyak atsiri, alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan triterpenoid adalah senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun kemangi.

Daun kemangi (*Ocimum basilicum*) dan biji selasih ungu (*Ocimum sanctum*) memiliki berbagai senyawa kimia yang berpotensi untuk digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk sebagai *larvasida* dan dalam pengobatan tradisional. Minyak atsiri yang dihasilkan dari daun kemangi mengandung sejumlah senyawa aktif, termasuk aldehida, alkaloid, asam askorbat, beta-karoten, dan fenol (Guntur dkk., 2021). Senyawa-senyawa ini tidak hanya memberikan aroma yang khas tetapi juga memiliki aktivitas biologis yang signifikan, termasuk sifat antibakteri dan antijamur. Sementara itu, biji selasih ungu mengandung lemak, asam linoleat, asam oleat, asam palmitat, dan protein, yang berkontribusi pada nilai gizi dan potensi terapeutiknya (William, 2022).

2.5.4 Manfaat Tumbuhan Kemangi

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sholihin (2024), disebutkan bahwa ekstrak daun kemangi bisa meningkatkan kualitas spermatozoa pada mencit yang terpapar asap rokok. Diketahui asap rokok mengandung radikal bebas yang dapat merusak sel-sel reproduksi. Dalam studi ini, kemangi berperan sebagai antioksidan melindungi spermatozoa dari kerusakan oleh radikal bebas karena mengandung flavonoid dan tanin.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Mahidin dkk., (2018), ditemukan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik pada mencit yang diinduksi monosodium glutamat (MSG). Penelitian menunjukkan bahwa MSG bisa menyebabkan kerusakan oksidatif pada testis, tetapi kemangi dapat membantu mengurangi dampak buruk itu sambil meningkatkan jumlah sel spermatogenik. Ini menunjukkan bahwa kemangi bisa membantu memulihkan dan meningkatkan gangguan dalam proses spermatogenesis.

Menurut studi yang dilakukan oleh Desi dkk., (2018), yang meneliti pengaruh ekstrak kemangi terhadap motilitas spermatozoa pada mencit yang juga diinduksi MSG. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak kemangi dapat mencegah penurunan motilitas spermatozoa, yang merupakan faktor penting dalam kesuburan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemangi tidak hanya meningkatkan jumlah sel spermatogenik tetapi juga kualitas spermatozoa itu sendiri.

Selain itu, kemangi juga diketahui dapat meningkatkan nafsu makan dan membantu sistem pencernaan. Senyawa bioaktif dalam kemangi, seperti asam rosmarinat, memiliki sifat anti-inflamasi dan antioksidan yang dapat menunjang kesehatan pencernaan (Rani, 2024). Studi menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi dapat membantu mengurangi stres oksidatif yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan, sehingga meningkatkan nafsu makan dan fungsi pencernaan secara keseluruhan. (Badiana *et al.*, 2021)

Kemangi juga bermanfaat untuk membantu meredakan kesulitan bernapas. Kandungan yang terdapat dalam daun kemangi dapat bertindak sebagai antispasmodik, membantu mengendurkan otot-

otot saluran pernapasan dan mengurangi gejala sesak napas (Rani, 2024). Juga, kemangi berperan dalam kesehatan jantung karena senyawa antioksidannya dapat mengurangi peradangan dan risiko penyakit jantung (Kacaniova *et al.*, 2022).

Kemangi dapat berguna untuk meredakan panas tubuh selama demam. Beberapa studi telah menemukan bahwa kemangi memiliki sifat antipiretik, yang bisa membantu menurunkan demam dengan cara meningkatkan produksi keringat serta mengontrol suhu tubuh (Rani, 2024).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September - November 2024.

Penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) di Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Kemudian proses aklimatisasi hewan uji bertempat di Rumah Pemeliharaan Hewan Uji Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Kemudian untuk proses pembedahan dan pengamatan spermatozoa mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini adalah 25 unit kandang mencit beserta penutup berbahan dasar kawat untuk tempat tinggal mencit, wadah pakan mencit untuk tempat makanan bagi mencit, botol air minum mencit untuk tempat penyimpanan air minum mencit, rak untuk tempat meletakkan kandang mencit, timbangan untuk menimbang berat badan mencit, hemositometer untuk menghitung jumlah spermatozoa mencit, mikroskop untuk melakukan pengamatan

terhadap parameter penelitian, sonde lambung yang dihubungkan dengan disposable suntik digunakan untuk pemberian ekstrak etanol daun kemangi (Ocimum basilicum Linn.) dan larutan Diazinon, seperangkat alat bedah seperti papan bedah, pinset, scalpel, pisau bedah, jarum pentul, oven untuk mengeringkan daun kemangi, evaporator yang digunakan untuk mengekstraksi daun kemangi, gelas ukur yang digunakan untuk mengukur banyaknya etanol yang dibutuhkan, hot plate, pipet tetes untuk membantu proses pengambilan cairan, tabung reaksi yang digunakan untuk menampung filtrate hasil reaksi, kertas label untuk memberi label pada objek penelitian, tisu yang digunakan untuk membersihkan sisa zat pada objek gelas, aluminium foil untuk menutup wadah yang berisi larutan, gelas objek dan kaca penutup untuk membantu proses pengamatan, mikroskop binokuler, kamera handphone yang digunakan untuk mendokumentasi penelitian, alat tulis untuk mencatat data hasil penelitian dan laptop yang digunakan untuk mengolah data penelitian.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini adalah hewan uji berupa mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) jantan usia 2-3 bulan dengan berat 30-35 gram yang berasal dari Mice Breeder "Berkah Mencit Lampung", 500 gram daun kemangi yang diperoleh dari Pasar Jatimulyo, Kabupaten Lampung Selatan, etanol (Prime Grade Ethyl Alcohol), sekam padi yang diperoleh dari Tanaman Hias, Kayu Manis digunakan untuk alas litter kandang mencit, pakan mencit (BR 2) untuk pakan mencit, air mineral (Tripanca) untuk minum mencit, eosin-Y 0,05% untuk membantu proses pengamatan viabilitas spermatozoa, NaCl 0,9% yang diproduksi oleh PT. Otsuka Indonesia yang digunakan untuk membantu proses pengamatan jumlah dan motilitas spermatozoa, kloroform (MSURE) sebagai obat bius mencit, pestisida Diazinon 600 EC yang digunakan sebagai pemicu terbentuknya ROS, dan aquabidest

(Onemed) sebagai pelarut diazinon dan ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.).

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang homogen. Penerapan perlakuan terhadap hewan uji dilakukan secara acak dengan 5 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ulangan, sesuai dengan rumus Federer (1991) yang menetapkan bahwa (t-1) (n-1) harus ≥ 15.

Perlakuan (t-1) (n-1)
$$\geq 15$$

(5-1) (n-1) ≥ 15
 $4 (n-1) \geq 15$
 $4n-4 \geq 15$
 $4n \geq 15+4$
 $n = \frac{19}{4} = 4,75 = 5$

Satuan percobaan : $5 \times 5 = 25$ mencit jantan yang homogen, untuk mengantisipasi kematian hewan uji, setiap perlakuan diberikan tambahan 1 ekor mencit cadangan. Sehingga terdapat 30 mencit jantan yang digunakan sebagai hewan uji.

Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Skema Rancangan Acak

Keterangan

: Ulangan 1 K0 : Kontrol U1 : Kontrol Negatif K1 : Ulangan 2 U2 : Perlakuan 1 : Ulangan 3 **P**1 U3 : Ulangan 4 P2 : Perlakuan 2 U4 P3 : Perlakuan 3 U5 : Ulangan 5

Tabel 1. Kelompok Perlakuan dan Pemberian Dosis

No	Perlakuan (P)	Pemberian Dosis	Keterangan
1	K_0	Mencit diberi larutan	Kelompok
		aquabidest 0,3 ml	Kontrol
2	K-	Mencit diinduksi 0,3 ml	Kelompok
		larutan diazinon dengan	Kontrol
		takaran 1,2 mg/30grBB	Negatif
		selama 5 hari	
3	P1	Mencit diinduksi 0,3 ml Kelompok	
		larutan diazinon dengan	Perlakuan 1
		takaran 1,2 mg/30grBB	
		selama 5 hari, kemudian	
		diberi ekstrak etanol daun	
		kemangi dengan dosis 3	
		mg/30grBB selama 30 hari	
	-	_	

Lanjutan Tabel 1. Kelompok Perlakuan dan Pemberian Dosis

No	Perlakuan (P)	Pemberian Dosis	Keterangan
4	P2	Mencit diinduksi 0,3 ml	Kelompok
		larutan diazinon dengan	Perlakuan 2
		takaran 1,2 mg/30grBB	
		selama 5 hari, kemudian	
		diberi ekstrak etanol daun	
		kemangi dengan dosis 6	
		mg/30grBB selama 30 hari	
5	P3	Mencit diinduksi 0,3 ml	Kelompok
		larutan diazinon dengan	Perlakuan 3
		takaran 1,2 mg/30grBB	
		selama 5 hari, kemudian	
		diberi ekstrak etanol daun	
		kemangi dengan dosis 9	
		mg/30grBB selama 30 hari	

3.3.2 Persiapan Hewan Uji

Pada penelitian ini menggunakan mencit jantan sebanyak 30 ekor yang memiliki berat badan sekitar 30-35 gram dan berumur sekitar 2-3 bulan yang diperoleh dari *Mice Breeder* "Berkah Mencit Lampung". Disiapkan 30 kandang yang telah dibersihkan dan diberi alas sekam padi beserta penutup kandangnya. Mencit diaklimatisasi terlebih dahulu di kandang selama 7 hari dengan pemberian pakan berupa pelet dan air mineral untuk setiap harinya. Tujuan dilakukannya aklimatisasi agar mencit dapat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan sekitarnya sebelum dilakukan perlakuan.

3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Pada penelitian ini, metode maserasi digunakan untuk memperoleh ekstrak etanol dari daun kemangi. Cara kerja maserasi adalah

ekstraksi senyawa aktif dengan merendam sampel dalam pelarut selama beberapa hari (Ansel, 1989). Daun kemangi (Ocimum basilicum Linn.) yang digunakan adalah daun yang dipetik dari tangkai daun ketiga dan kelima dari bagian pucuk, dipilih daun yang masih berwarna hijau segar (Evita dkk, 2022). Tujuannya adalah untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder dengan kandungan yang optimal, karena diketahui bahwa daun muda bagian ujung pucuk dan daun yang sudah layu serta menguning cenderung memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang rendah. Daun kemangi yang digunakan pada penelitian ini diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya. Tanaman ini memiliki batang berbentuk persegi dengan tinggi mencapai 30-60 cm. Daunnya berbentuk oval dengan tepi bergerigi halus, berwarna hijau cerah, dan memiliki aroma khas yang kuat. Bunga kemangi tersusun dalam tandan dengan warna putih atau ungu muda. Identifikasi juga dilakukan dengan memperhatikan keberadaan trikoma pada permukaan daun dan batang yang menjadi ciri khas spesies Ocimum basilicum Linn. Daun kemangi diperoleh dari Pasar Jatimulyo, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung, Indonesia.

Daun kemangi segar sebanyak 6 kg dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa debu dan mencegah kontaminasi. Kemudian, daun kemangi dikeringkan dengan cara dijemur pada pukul 09.00 WIB sampai 17.00 WIB di bawah sinar matahari dan ditutupi kain hitam agar menyerap panas secara optimal dan mencegah kotoran menempel. Daun kemangi yang telah mengering akan dihaluskan dengan menggunakan blender agar dapat dijadikan serbuk simplisia. Kemudian, simplisia daun kemangi direndam dalam etanol 96% selama tiga hari dan diaduk secara merata untuk proses maserasi. Daun kemangi dicampur dengan etanol 96% lalu disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan

maserat 1. Ampas direndam kembali dalam etanol 96% selama dua hari, kemudian disaring untuk mendapatkan maserat 2. Maserat 1 dan 2 diinapkan semalam kemudian dipisahkan dari residunya dengan alat evaporator pada suhu 50°C, diikuti dengan mengkonsentrasikan ekstrak menggunakan hot plate sehingga menghasilkan ekstrak etanol daun kemangi yang kental.

Dalam membuat larutan stok ekstrak daun kemangi untuk 1 minggu pemakaian maka dilakukan perhitungan, yaitu dengan menghitung berapa jumlah mencit yang akan diberi ekstrak serta berapa hari waktu pemberiannya. Terdapat 3 kelompok perlakuan yang akan diberi ekstrak yaitu P1, P2, dan P3. Dosis tiap perlakuan pun berbeda-beda sesuai dosis yang sudah ditentukan. Jumlah mencit yang akan diinduksi yaitu ada 1 kelompok perlakuan yang terdiri dari 6 mencit dan waktu penginduksian untuk 7 hari.

Tabel 2. Larutan Stok Ekstrak Etanol Daun Kemangi Selama 7 Hari

Kelompok	Ekstrak Kental	Aquabidest
Perlakuan	Kemangi	
P1	126 mg	12,6 ml
P2	252 mg	12,6 ml
Р3	378 mg	12,6 ml

Maka untuk larutan stok P1 dilakukan perkalian 6 mencit dengan waktu 7 hari yaitu 42 lalu dikali dengan dosis 3 mg yang menghasilkan 126 mg ekstrak kemangi (kental) yang akan dipakai. Pada larutan stok P2 dilakukan perkalian 6 mencit dengan waktu 7 hari yaitu 42 lalu dikali dengan dosis 6 mg yang menghasilkan 252 mg ekstrak kemangi (kental) yang akan dipakai. Serta pada P3 dilakukan perkalian juga yaitu 42 dikali dengan dosis 9 mg yang menghasilkan 378 mg ekstrak kemangi (kental) yang akan dipakai. Kemudian ekstrak kental kemangi tersebut dicampur dengan pelarut

aquabidest dengan persentase 1% dari bobot hewan yaitu sekitar 0,3 ml per mencit dikali dengan 42 yang menghasilkan 12,6 ml aquabidest (pelarut) persatu kelompok perlakuannya yang akan dipakai. Lalu kedua bahan tersebut dihomogenkan dalam gelas ukur setelah itu ditutup dengan *plastic wrap* dan *alumunium foil* agar tidak menguap.

3.3.4 Induksi Larutan Diazinon

Mencit diinduksi larutan diazinon dengan dosis 40 mg/kgBB per hari secara oral selama 5 hari, yang dimana diazinon dilarutkan dalam aquabidest untuk mencapai dosis yang diinginkan, karena memiliki tingkat kelarutan yang tinggi dalam lemak dan rendah dalam air (Moshiri *et al.*, 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wulandari dkk. (2007), pemberian dosis diazinon 40 mg/kgBB kepada tikus selama 5 hari telah terbukti dapat mengakibatkan kongesti, piknosis, dan nekrosis pada jaringan. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan berbobot 30 gram sehingga perlu mengonversi dosis diazinon terlebih dahulu. Persentase pelarut yang dipakai sesuai rute pemberian oral adalah 1% dari bobot hewan uji (Yoriyuliandra, 2012), dengan takaran diazinon sebesar 1,2 mg/30grBB per hari secara oral selama 5 hari yang dicekok menggunakan sonde lambung.

Tabel 3. Larutan Stok Diazinon Selama 5 Hari

No.	Bahan	Jumlah Yang Dibutuhkan
1	Diazinon	144 mg
2	Aquabidest	36 ml

Untuk membuat larutan stok diazinon maka dilakukan perhitungan, yaitu dengan menghitung berapa jumlah mencit yang akan diinduksi diazinon serta berapa hari waktu penginduksiannya. Jumlah mencit yang akan diinduksi yaitu ada 4 kelompok perlakuan yang terdiri dari 24 mencit dan waktu penginduksian sekitar 5 hari. Maka

dilakukan perkalian 24 mencit dengan waktu 5 hari yaitu 120 lalu dikali dengan takaran 1,2 mg/30grBB mencit yang menghasilkan 144 mg diazinon (bubuk) yang akan dipakai. Kemudian bubuk diazinon tersebut dicampur dengan pelarut aquabidest dengan persentase 1% dari bobot hewan yaitu sekitar 0,3 ml per mencit dikali dengan 120 yang menghasilkan 36 ml aquabidest (pelarut) yang akan dipakai. Lalu kedua bahan tersebut dicampurkan dalam gelas ukur setelah itu ditutup dengan *plastic wrap* dan alumunium foil agar tidak menguap.

3.3.5 Penginduksian Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun kemangi diberikan dengan dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 300mg/kgBB per hari secara oral selama 5 hari, sesuai dengan studi Sholihin dan Ducha (2024) mengenai pengaruh daun kemangi terhadap spermatozoa mencit yang terpapar asap rokok. Dalam penelitian ini, mencit jantan berbobot 30 gram digunakan, sehingga perlu mengkonversi dosis tersebut untuk memperoleh dosis yang dikehendaki. 1% dari berat badan hewan uji digunakan sebagai persentase larutan aquabidest menurut rute oral (Yoriyuliandra, 2012). Jadi jumlah ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan dalam percobaan ini adalah 3mg/30grBB, 6mg/30grBB, dan 9mg/30grBB. Terapi ekstrak daun kemangi menggunakan sonde lambung dilakukan selama 30 hari setelah penginduksian larutan diazinon. Pemberian ekstrak daun kemangi dilakukan karena daun kemangi mengandung senyawa bioaktif yang dipercaya bermanfaat sebagai antioksidan dan bisa meningkatkan proses spermatogenesis akibat kerusakan sel dari efek radikal bebas yang disebabkan oleh induksi larutan diazinon (Anzila dkk, 2017).

3.3.6 Pemberian Perlakuan

Sebelum perlakuan dimulai, berat badan mencit akan disesuaikan terlebih dahulu dengan menimbangnya, perlakuan dilakukan pada

jam 08.00 pagi WIB. Kemudian dilakukan pemberian larutan diazinon secara oral sekali sehari, selama lima hari berturut-turut dikarenakan dalam durasi ini sudah cukup untuk menimbulkan perubahan morfologis yang signifikan pada sel-sel organ tersebut, pemberian yang lebih lama dapat berisiko meningkatkan akumulasi metabolit berbahaya ini, yang dapat memperburuk efek toksik (Tegar dkk, 2019), kemudian pada hari ke-6 dilakukan terapi dengan ekstrak etanol daun kemangi sekali sehari selama 30 hari. Dalam penelitian ini, perlakuan dilakukan selama 35 hari disesuaikan dengan siklus spermatogenik mencit yang berlangsung selama 35 hari (Busman dkk, 2018). Mencit jantan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

3.3.7 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 spermatozoa 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.

3.3.8 Pengambilan Data

Mencit dibedah pada hari ke-36 dengan menggunakan kloroform sebagai bius dalam toples kaca yang tertutup setelah hewan dipuasakan semalaman. Lalu, pembedahan dilakukan dari pangkal penis menuju ke tubulus proksimal (sekitar setengahnya), setiap kelebihan lemak atau jaringan ikat dipisahkan dari organ sampel (Kanedi *et al*, 2016). Setelah mencit dibedah, diambil bagian cauda epididimis dengan cara memotong bagian bawah epididimis lalu

dipindahkan dan dibersihkan dengan larutan fisiologis, lalu diletakkan di cawan petri yang telah diisi dengan 1 ml NaCl 0.9%, kemudian disusun dengan pinset agar cairan spermatozoa bisa terpisah dari cauda epididimis. Setelah terjadi pemisahan cairan semen dari epididimis, larutan diaduk hingga homogen. Untuk membuat larutan stok semen yang akan dipakai untuk 4 parameter maka siapkan 8 ml NaCl 0,9% yang sudah disiapkan di cawan petri, lalu ditaruh cauda epididimis dan diurut hingga mengeluarkan cairan semen pada cawan petri tersebut, lalu dihomogenkan, maka 8 ml larutan semen siap dipakai.

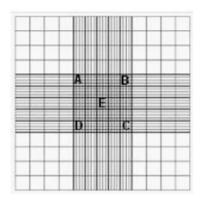
a. Perhitungan Jumlah Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya. Spermatozoa yang telah dihomogenkan dalam 8 ml NaCl 0,9% kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam haemocytometer improved neubauer serta ditutup dengan kaca penutup. Di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40×10, hemositometer diletakkan dan dihitung jumlah spermatozoa pada 5 kotak kamar hitung. Dilakukan perhitungan jumlah spermatozoa dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N = Jumlah spermatozoa yang dihitung pada kotak A, B, C, D, dan E (Gambar 8) (Elwinda dkk, 2011)



Gambar 8. Haemocytometer Improved Neubauer (Elwinda, 2011)

b. Viabilitas Spermatozoa

Larutan spermatozoa diambil sebanyak satu tetes (1 ml) dengan menggunakan pipet tetes 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 40×10. Persentase jumlah spermatozoa hidup dapat diketahui dengan menghitung jumlah spermatozoa hidup dari 100 spermatozoa pada 5 lapang pandang untuk setiap ulangan. Spermatozoa yang hidup tidak harus bergerak tetapi memiliki kepala tanpa warna, sementara yang mati akan berwarna merah. Pada parameter viabilitas disiapkan larutak stok eosin 0,5% terlebih dahulu dengan menghitung jumlah (ml) eosin yang akan dipakai yaitu 1 ml /mencit dikalikan dengan jumlah mencit yang akan diamati yaitu 25 ekor, yang menghasilkan 25 ml larutan eosin yang akan dipakai.

%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 (1 ml) menggunakan pipet tetes dan diteteskan pada object glass kemudian ditutup dengan kaca penutup. Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang bergerak di bawah mikroskop Cahaya pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 40×10.

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

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

Keterangan:

a = Spermatozoa yang bergerak

b = Spermatozoa yang tidak bergerak (WHO, 1988).

d. Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa dapat diamati melalui penggunaan mikroskop, pada parameter morfologi disiapkan larutan giemsa terlebih dahulu untuk proses perendaman sampel yaitu sekitar 100 ml yang telah dituang pada gelas ukur. Larutan spermatozoa sebanyak satu tetes (1 ml) ditetskan pada kaca objek menggunakan pipet tetes, kemudian buat slides tipis dengan menggunakan kaca object lain agar suspense menyebar, lalu keringkan selama 5 menit

dan rendam di dalam etanol 70% selama 5 menit. Keringkan dengan cara di anginkan, setelah itu sediaan oles diwarnai dengan larutan giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan aquades mengalir, lalu dikeringkan pada suhu ruang. Hitung jumlah spermatozoa yang abnormal pada 5 lapang pandang menggunakan mikroskop perbesaran 40×10 untuk melihat abnormalitas spermatozoa yang terjadi pada ekor dan kepala. Menurut WHO (1988) normalitas spermatozoa dapat dilihat dari persentase sebagai berikut:

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

Keterangan:

a = spermatozoa abnormal (100)

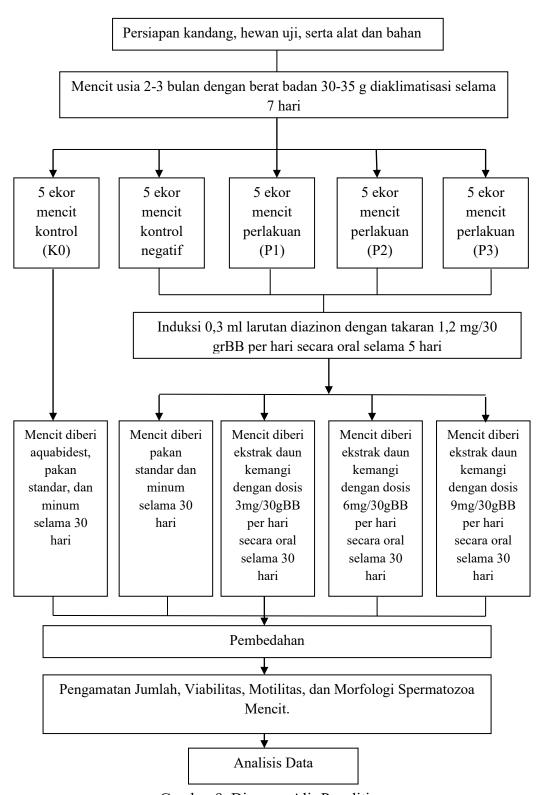
b = spermatozoa normal (WHO, 1988).

3.4. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data yang diperoleh bersifat kuantitatif dan dianalisis secara statistik menggunakan software SPSS versi 26. Data yang didapat diuji normalitas data menggunakan uji Shapiro-wilk, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan uji Levene. Kemudian data yang sudah homogen di uji menggunakan ANOVA untuk mengetahui perlakuan yang diberikan signifikan atau tidak. Perbedaan dinyatakan signifikan apabila p < 0,05. Setelah itu dilanjutkan dengan uji post hoc selang berganda untuk melihat perlakuan mana yang paling efektif.

3.5. Diagram Alir Metode Penelitian

Adapun diagram alir yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:



Gambar 9. Diagram Alir Penelitian

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- 1. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 2. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan viabilitas spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 3. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan motilitas spermatozoa mencit setelah diinduksi dengan diazinon.
- 4. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit yang normal secara morfologi setelah diinduksi dengan diazinon.

5.2 Saran

Penelitian yang telah dilakukan berhasil menunjukkan peningkatan dalam normalitas morfologi, motilitas, viabilitas, serta jumlah spermatozoa pada mencit yang mengalami stres oksidatif akibat induksi diazinon. Namun, penelitian ini memiliki keterbatasan dalam mengukur kadar Malondialdehyde (MDA) sebagai indikator kenaikan radikal bebas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi aspek tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adamkovicova, M., Toman, R., Cabaj, M., Massanyi, P., Martiniakova, M., Omelka, R, & Duranova, H. (2014). Effects of subchronic exposure to cadmium and diazinon on testis and epididymis in rats. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-9.
- Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B., Shaman, A., & Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1), 49.
- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., & Plessis, S. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *The World Journal of Men S Health*, 32(1), 1.
- Agarwal, A., Sharma, R., Sharma, R., Assidi, M., Abuzenadah, A., Alshahrani, S., & Sabanegh, E. (2014). *Characterizing semen parameters and their association with reactive oxygen species in infertile men*. Reproductive Biology and Endocrinology, 12(1), 33.
- Ahmed, M., Ahmed, H., & Elmorsy, E. (2013). Melatonin protects against diazinon-induced neurobehavioral changes in rats. *Neurochemical Research*, 38(10), 2227-2236.
- Aini, N., Dewi, R., Pralampita, P., & Helianti, D. (2023). Infusa Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Memperbaiki Kerusakan Hati Tikus Wistar Yang Diinduksi Diazinon. Medika Kartika: *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 6(4), 329-339.
- Al-Attabi, M. R., Hussain, S. M., & Al-Okaily, B. N. (2017). Effect of Diazinon on Reproductive System of Adult Male Mice. *Journal of Kerbala for Agricultural Sciences*, 4(5), 229-242.
- Aldi, Y., Dewi, O., & Uthia, R. (2016). Uji imunomodulator dan jumlah sel

- leukosit dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* 1.) pada mencit putih jantan. *Scientia Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 6(2), 139.
- Alkafafy, M., Attia, H., Rashed, R., & Kandiel, M. (2010). Some comparative immunohistochemical studies on the ductus deferens in the donkey (*equus asinus*) and water buffalo bull (*bubalus bubalis*).. *Journal of Veterinary Anatomy*, 3(1), 55-69.
- Alsayed, A. (2024). Prepubertal female bartholin's gland abscess: a comprehensive case report study. *Case Reports in Pediatrics*, 2024(1).
- Angrimani, D., Losano, J., Lúcio, C., Veiga, G., Landim, F., Nichi, M, & Vannucchi, C. (2017). Cytoplasmic droplet acting as a mitochondrial modulator during sperm maturation in dogs. *Animal Reproduction Science*, 181, 50-56.
- Ansel, H.C. 1989. Pengantar Bentuk Sedimen Farmasi. Edisi ke-4. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Anuar, E., Bakar, U., & Noor, M. (2018). Kesan *gynura procumbens* terhadap integriti dna dan kualiti spermatozoa mencit. *Sains Malaysiana*, 47(9), 1991-1997.
- Atmoko, W. (2024). Isolated teratozoospermia: revisiting its relevance in male infertility: a narrative review. *Translational Andrology and Urology*, 13(2), 260-273.
- Attabi, M., Hussain, S., & Al-Okaily, B. (2017). Effect of diazinon on reproductive system of adult male mice. *Journal of Kerbala for Agricultural Sciences*, 4(5), 229-242.
- Attafi, I., Oraiby, M., Fageeh, M., Shaikhain, G., Albeishy, M., Khardali, I. & Hakami, M. (2018). Post-mortem analysis of diazinon and its major metabolite, 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine, in a case of fatal diazinon ingestion. *Arab Journal of Forensic Sciences and Forensic Medicine*, 1(8), 1080-1087.
- Badiana, S., Ngah, E., Touo'yem, W., Sidiki, N., & Bum, E. (2021). *Ocimum basilicum* 1. (lamiaceae) leaves aqueous extract improve learning and memory in the monosodium glutamate-induced neurotoxicity model of alzheimer's disease through attenuating brain oxidative damage in

- experimental mice. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 17(1), 204-212.
- Basar, N., Dahril, D., Menawati, T., & Fajriah, F. (2017). Pengaruh torsio testis terhadap gangguan proses spermatogenesis pada testis tikus (rattus norvegicus). *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 17(2), 84-92.
- Benzi, T., Logsdon, N., Sampaio, F., & Favorito, L. (2022). Testicular arteries anatomy applied to fowler-sthephens surgery in high undescended testis a narrative review. *International Braz J Urol*, 48(1), 8-17.
- Borji, A., Farivar, G., Johari, P., Farivar, T., Senemari, S., & Karimi, G. (2014). Cleaning from the inside: biodegradation of organophosphate pesticides by *pseudomonas plecoglossicida*. *Biotechnology and Health Sciences*, 1(1).
- 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.
- Cao, D., Yang, Q., Zhu, W., & Ma, H. (2023). Application of seminal vesiculoscopy on the treatment of seminal vesiculitis. *Stemedicine*, 4(2), e165.
- Ceriana, R., Elsaputri, N., Nadia, R., Yulia, S., Indah, I., Mulyana, S., & Utami, S. (2022). Antipiretik ekstrak etanol daun kemangi aceh (*Ocimi sancti folium*) pada mencit. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 3(1), 15-18.
- Chandra, B., Sari, R., Misfadhila, S., Azizah, Z., & Asra, R. (2019). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum* 1.) dengan metode dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 2(2), 1-8.
- Chowdhury, F., Bari, S., Alam, M., Rahman, M., Bhattacharjee, B., Qayyum, J. & Mridha, S. (2014). Organophosphate poisoning presenting with muscular weakness and abdominal pain- a case report. *BMC Research Notes*, 7(1).
- Cordeiro, D., Costa, G., & França, L. (2021). Testis structure, duration of spermatogenesis and daily sperm production in four wild cricetid rodent species (a. cursor, a. montensis, n. lasiurus, and o. nigripes). Plos One, 16(5), e0251256.

- Daely, A. and Manurung, R. (2020). Pemanfaatan hidrofobik deep eutectic solvents dalam penyisihan dimetoat, klorpirifos, dan profenofos pada buah tomat dan sayur brokoli. *Jurnal Teknik Kimia Usu*, 9(1), 7-10.
- Desi, N., Kurniasari, D., Romdhoni, M., & Maulana, A. (2018). Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*ocimum basilicum* 1.) terhadap motilitas spermatozoa tikus putih galur wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi *monosodium glutamate* (msg). *Saintika Medika*, 14(1).
- Dey, S., Brothag, C., & Vijayaraghavan, S. (2019). Signaling enzymes required for sperm maturation and fertilization in mammals. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7.
- Doshi, S., Khullar, K., Sharma, R., & Agarwal, A. (2012). Role of reactive nitrogen species in male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1).
- 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.
- Erenler, A., Başara, G., & Kayabaş, A. (2014). Parenteral insecticide injection for suicidal attempt: a case report. *Health*, 06(15), 1929-1932.
- Fannessia, L., Karja, N., Adnyane, I., & Setiadi, M. (2015). "pelacakan kerusakan akrosom spermatozoa domba selama proses pembekuan dengan teknik histokimia lektin (detection of acrosomal damage of ram spermatozoa during freezing process using lectin histhochemical technique)". *Jurnal Veteriner*, 16(4), 560-568.
- Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd Edition. Marcel Dekker, New York.
- Firdaus, J., Febianti, Z., Hidayat, M., & Sakinah, E. (2022). Efek neem gum (*azadiracthta indica*) terhadap kadar sgot sgpt tikus wistar yang diinduksi diazinon. *Journal of Nutrition College*, 11(3), 258-263.
- Fitria, L., Handayani, L., & Na'ilah, L. (2022). Reproductive toxicity study of

- hairy fig (*Ficus hispida* 1.f.) fruits on male wistar rats (*Rattus norvegicus* berkenhout, 1769). *Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1), 1-14.
- Forrester, S., Kikuchi, D., Hernandes, M., Xu, Q., & Griendling, K. (2018). Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation Research*, 122(6), 877-902.
- Freund, M. & R.N. Peterson. 1976. *Semen Evaluation and Fertility*. The C.V. Mosby Company, Saint Louis. Hlm. 344-354.
- Ghafarizadeh, A., Vaezi, G., Shariatzadeh, M., & Malekirad, A. (2017). Effect of in vitro selenium supplementation on sperm quality in asthenoteratozoospermic men. *Andrologia*, 50(2), e12869.
- Ginting. 2004. Minyak sereh Wangi. Jilid I. Ketaren. UI press. Jakarta.
- Guntur, A., Selena, M., Bella, A., Leonarda, G., Leda, A., Setyaningsih, D, & Riswanto, F. (2021). Kemangi (*ocimum basilicum* 1.): kandungan kimia, teknik ekstraksi, dan uji aktivitas antibakteri. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 513-528.
- Hadi, I. (2023). Perbandingan kandungan fitokimia fraksi etil asetat daun kemangi (*ocimum basilicum* folium) dengan perbedaan ketinggian geografis tumbuh. JIBF, 7(1).
- Heifetz, Y. and Wolfner, M. (2004). Mating, seminal fluid components, and sperm cause changes in vesicle release in the drosophila female reproductive tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(16), 6261-6266.
- Hendrawan, V., Oktanella, Y., Firmawati, A., & Agustina, G. (2023). The effect of black cumin (*nigella sativa*) on histopathology of liver and kidney in albino rats with organophosphate exposure. *Jurnal Medik Veteriner*, 6(1), 35-42.

- Hidayatullah, T., Barliana, M., Pangaribuan, B., Wijaya, A., Sumiwi, S., & Goenawan, H. (2020). Hubungan faktor okupasi terhadap aktivitas asetilkolinesterase eritrosit dan fungsi kognitif pada petani yang menggunakan pestisida organofosfat. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 9(2), 128.
- Hilia, S., Abinawanto, Dwiranti, A., Bowolaksono, A., Lestari, R., Kristanto, A, & Ohmido, N. (2023). Ultrastructure of javaen barb fish systomus orphoides valenciennes, 1842 spermatozoa (cypriniformes: cyprinidae) by electron microscopes. *Microscopy Research and Technique*, 86(11), 1411-1415.
- Huda, R. N. (2017). Pembuatan Sensor Diazinon secara Potensiometri

 Menggunakan Membran Nata De Coco Berbasis Screen Printed Carbon

 Electrode (SPCE) (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Jaillardon, L. (2023). Pathogenesis of the crosstalk between reproductive function and stress in animals part 2: prolactin, thyroid, inflammation and oxidative stress. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(S2), 137-143.
- Jansen, V., Álvarez, L., Balbach, M., Strünker, T., Hegemann, P., Kaupp, U, & Wachten, D. (2014). *Author response: controlling fertilization and camp signaling in sperm by optogenetics*.
- Kačániová, M., Galovičová, L., Borotová, P., Vuković, N., Vukić, M., Kunová, S,& Kowalczewski, P. (2022). Assessment of *ocimum basilicum* essential oil anti-insect activity and antimicrobial protection in fruit and vegetable quality. *Plants*, 11(8), 1030.
- Kaeley, N., Kabi, A., Prasad, H., Raj, A., & Hazra, A. (2022). Pneumothorax and

- pneumomediastinum complicating organophosphate poisoning: a case series of complications less understood. *Cureus*.
- Kakaei, H., Shahtaheri, S., Abdi, K., & Kakavandi, N. (2023). Separation and quantification of diazinon in water samples using liquid-phase microextraction-based effervescent tablet-assisted switchable solvent method coupled to gas chromatography-flame ionization detection.

 Biomedical Chromatography, 37(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.
- Karta, I. W., Iswari, P. A. K., & Susila, L. A. N. K. E. (2019). Teh Cang Salak: Teh Dari Limbah Kulit Salak Dan Kayu Secang Yang Berpotensi Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Degeneratif. Meditory: *The Journal of Medical Laboratory*, 7(1), 27-36.
- Kasmeri, R. (2020). Pengaruh ekstrak pedada merah (*Sonneratia careolaris* 1.) terhadap jumlah dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus* 1.). *Jurnal Bioconcetta*, 6(1), 7-13.
- Khamidah, A. (2022). Performans pertumbuhan cacing tanah (*eisenia foetida*) akibat pemberian insektisida diazinon. *Kingdom*, 8(1), 45-55.
- Kowsar, R., Ronasi, S., Sadeghi, N., Sadeghi, K., & Miyamoto, A. (2021). Epidermal growth factor alleviates the negative impact of urea on frozenthawed bovine sperm, but the subsequent developmental competence is compromised. *Scientific Reports*, 11(1).
- Kumar, M., Kumar, G., Babu, P., Kumar, S., Subrahmanyam, B., Veeraprasad, M,

- & Agrawal, A. (2014). A retrospective analysis of acute organophosphorus poisoning cases admitted to the tertiary care teaching hospital in south india. *Annals of African Medicine*, 13(2), 71.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji fitokimia ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39-44.
- Kurutas, E. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1).
- Lefadari, A. and Susanti, H. (2017). Kandungan beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap dpph (1,1-difenil 2-pikrihydrazil) ekstrak buah blewah (*cucumis melo* var. cantalupensis l) secara spektrofotometri uv-visibel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 14(1), 37-42.
- Lefaan, P. N. (2014). Pengaruh infusa rumput kebar (*Biophytum petersianum*) terhadap spermatogenesis mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Sain Veteriner*, 32(1), 55-67.
- Loberant, N., Bhatt, S., McLennan, G., & Dogra, V. (2010). Striated appearance of the testes. *Ultrasound Quarterly*, 26(1), 37-44.
- Lupiáñez, D., Real, F., Dadhich, R., Carmona, F., Burgos, M., Barrionuevo, F,
 & Jiménez, R. (2012). Pattern and density of vascularization in
 mammalian testes, ovaries, and ovotestes. *Journal of Experimental Zoology Part B Molecular and Developmental Evolution*, 318(3), 170-181.
- Mahidin, M., Maulana, A., & Susiyadi, S. (2018). Pengaruh pemberian ekstrak

- etanol daun kemangi (*ocimum basilicum* 1.) terhadap jumlah sel spermatogenik tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diinduksi monosodium glutamat. *Herb-Medicine Journal Terbitan Berkala Ilmiah Herbal Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(1).
- Majd, M., Yarmohamadi, M., Parvin, M., & Mirjan, S. (2022). An unusual cause of acute kidney injury "inhalation of diazinon". *Journal of Nephropathology*, 11(2), e17227-e17227.
- Maksumah, A., Balfas, R., Fajarini, H., & Yulianto, I. (2021). Uji efektivitas sediaan gel sabun wajah ekstrak daun kemangi (*ocimum basilicum* 1.) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Jophus Journal of Pharmacy Umus*, 2(02), 62-70.
- Malini, Desak Made., Ratningsih, N., Fitriani, N., Rahmi, D. 2013. Potensi
 Regenerasi Sel Sertoli Dan Sel Leydig Tikus (*Rattus norvegicus*) Model
 Diabetes Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol
 (Archidendron pauciflorum). Journal of Chemical Information and
 Modeling, 53(9), 1689–1699.
- Manouchehri, A., Mohseni, R., & Hejazian, T. (2017). Organophosphate insecticide intoxication in a family. *International Journal of Medical Toxicology and Forensic Medicine*, 7(3(Summer)), 185-188.
- Marfu'ah, N. and Amal, S. (2018). Pengaruh puasa terhadap jumlah dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*). *Pharmasipha Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 2(2), 09.
- Marwoto, J., Hayati, L., Nita, S., Hidayat, R., Purnamasari, S., & Inggarsih, R. (2020). Upaya promotif peningkatan kesadaran kesehatan reproduksi: metode penyuluhan pada komunitas yang terpapar gas buang karbon. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Humanity and Medicine*, 1(1), 18-24.

- Matsumoto, Y., Goto, T., Nishino, J., Nakaoka, H., Tanave, A., Takano-Shimizu, T. & Koide, T. (2017). Selective breeding and selection mapping using a novel wild-derived heterogeneous stock of mice revealed two closely-linked loci for tameness. *Scientific Reports*, 7(1).
- Maulia, S., Saraswati, I., & Wulandari, F. (2023). Narrative Review: Potensi Family Lamiaceae sebagai Tabir Surya. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 3(2), 92-99.
- Mead, D. 2014. Basils (Ocimum spp.) in Indonesia. Sulang Lang Data Work Pap. 1: 1-10.
- Minamino, N., Norizuki, T., Mano, S., Ebine, K., & Ueda, T. (2021). Remodeling of organelles and microtubules during spermiogenesis in the liverwort marchantia polymorpha.
- Muro, S., Suriyut, J., & Akita, K. (2021). Anatomy of cowper's gland in humans suggesting a secretion and emission mechanism facilitated by cooperation of striated and smooth muscles. *Scientific Reports*, 11(1).
- Mushidah, M. and Muliawati, R. (2019). Perubahan jumlah leukosit akibat aktivitas fisik berat pada mencit jantan balb/c. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 14(1), 11.
- Nahdiyah, A., Santoso, H., & Zayadi, H. (2020). Pengaruh fraksi ejakulasi terhadap motilitas spermatozoa kambing peranakan etawa (*capra aegagrus*). *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience –Tropic*), 5(2), 72-76.
- Nakata, H., Nakano, T., Iseki, S., & Mizokami, A. (2020). Three-dimensional analysis of busulfan-induced spermatogenesis disorder in mice. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8.

- Neylon, J., Fuller, J., Poel, C., Church, J., & Dworkin, S. (2022).

 Organophosphate insecticide toxicity in neural development, cognition, behaviour and degeneration: insights from zebrafish. *Journal of Developmental Biology*, 10(4), 49.
- Nugroho, R.A. 2018. Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Samarinda. Mulawarman University Press.
- Permatasari, R., Andriane, Y., Garna, H., Haribudiman, O., & Ekowati, R. R. (2019). Pengaruh Fraksi Air Buah Lemon (*Citrus limon*) terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Tua yang Diberi Pakan Tinggi Lemak. *Jurnal Integrasi Kesehatan & Sains*, 1(1), 54-58.
- Pratama, A. and Busman, H. (2020). Potensi antioksidan kedelai (glycine max l) terhadap penangkapan radikal bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 497-504.
- Pratama, H., Supriyanto, S., & Nurhidayanti, N. (2021). Dampak cemaran residu klorpirifos terhadap penurunan kualitas lingkungan pada lahan pertanian. *Jurnal Tekno Insentif*, 15(1), 30-40.
- Purwoistri, R. F. (2010). Pengaruh ekstrak biji pepaya (Carica papaya L.)

 terhadap spermatogenesis dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit

 (Mus musculus) Jantan (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri

 Maulana Malik Ibrahim).
- Rahimi, S., Mj, Z., Shariati, M.M., Changizi-Ashtiyani, S., Moghadamnia, D., & Rahimi, A. (2016). Effect of Diazinon on Pituitary Gonadal Axis and Histological Alteration of Seminiferous Tubules in Adult Rat Testis.

 Journal of Gorgan University of Medical Sciences, 18, 23-29.
- Rani, K. (2024). Ocimum basilicum (basil/tulsi): a herbal sustainable treasure and

- its therapeutic potency. *Journal of Bacteriology & Mycology Open Access*, 12(1), 36-38.
- Ray, P., Huang, B., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ros) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981-990.
- Roberts, J., Karr, C., Paulson, J., Brock-Utne, A., Brumberg, H., Campbell, C. & Wright, R. (2012). *Pesticide exposure in children. Pediatrics*, 130(6), e1765-e1788.
- Rudini, M., Kuswanto, E., & Yudistiro, M. K. (2021). Pengaruh Ekstrak Daun Tanaman Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Histopatology Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Alkohol. *Organisms: Journal of Biosciences*, 1(2), 109-118.
- Rustam, E., & Arifin, H. (2020). Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1), 40-47.
- Sajadi, K., Dalton, R., & Brown, J. (2009). Sex cord-gonadal stromal tumor of the rete testis. *Advances in Urology*, 2009, 1-3.
- Saleh, D.O., Baraka, S.M., Jaleel, G.A., Hassan, A., & Ahmed-Farid, O.A. (2024). Eugenol alleviates acrylamide-induced rat testicular toxicity by modulating AMPK/p-AKT/mTOR signaling pathway and blood–testis barrier remodeling. *Scientific Reports*, 14.
- Santoso, M., M.S, S., & M.Si, C. (2016). Daya tetas kokon cacing tanah (*lumbricus rubellus*) di bawah pengaruh pemberian insektisida organofosfat. *Kingdom*, 5(2).

- Scharer, L., Ladurner, P., & Rieger, R. (2004). Bigger testes do work more: experimental evidence that testis size reflects testicular cell proliferation activity in the marine invertebrate, the free-living flatworm macrostomum sp.. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 56(5).
- Setyawati, I., Putra, I., & Roni, N. (2017). Histologi tubulus seminiferus dan kadar testosteron tikus yang diberi pakan imbuhan tepung daun kaliandra dan kulit nanas (histology of seminiferous tubules and testosterone level of rat given calliandra leaf meal and pineapple peels in the diets). *Jurnal Veteriner*, 18(3), 369.
- Sharma, U., Conine, C., Shea, J., Bošković, A., Derr, A., Bing, X. & Rando, O. (2016). Biogenesis and function of trna fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science*, 351(6271), 391-396.
- Sholihin, A. (2024). Pengaruh kemangi (*ocimum basilicum*) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*mus musculus*) yang diberikan paparan asap rokok. *Lenterabio Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2), 289-299.
- Sitasiwi, A. (2023). Uji potensi kurkumin terhadap perbaikan disfungsi testis tikus (*Rattus norvegicus*) jantan setelah paparan ekstrak etanol daun mimba. *Al-Kauniyah Jurnal Biologi*, 17(1), 163-174.
- Stopel, A. (2024). Towards a "testis in a dish": generation of mouse testicular organoids that recapitulate testis structure and expression profiles. *International Journal of Biological Sciences*, 20(3), 1024-1041.
- Struijk, R., Winter-Korver, C., Daalen, S., Hooibrink, B., Repping, S., & Pelt, A. (2018). Simultaneous purification of round and elongated spermatids from testis tissue using a facs-based dna ploidy assay. *Cytometry Part A*, 95(3), 309-313.

- Subroto, F. and Advani, N. (2016). Gangguan fungsi jantung pada thalassemia mayor. *Sari Pediatri*, 5(1), 12.
- Sukmaningsih, S., Ermayanti, I. G. A. M., Wiratmini, N. I., & Sudatri, N. W. 2009. Gangguan Spermatogenesis Setelah Pemberian *Monosodium Glutamat* Pada Mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi*, XV(2): 49–52
- Suryadinata, R., Aditya, D., Gunawan, R., Utami, M., & Wirjatmadi, B. (2022). Efikasi antioksidan akar terung pipit (*solanum torvum*) terhadap kerusakan hati dengan induksi ccl4 pada *rattus norvegicus*. *Amerta Nutrition*, 6(1SP), 59-63.
- Susetyarini, E. (2018). Struktur Spermatozoa Tikus Putih Jantan yang Diberi Tanin Daun Beluntas (*Pluchea Indica*). *In Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning* (Vol. 15, No. 1, pp. 693-696).
- Sutamihardja, R., Irfan, M., & Maslahat, M. (2017). Toksisisitas insektisida profenofos dan klorpirifos terhadap ikan nila (*oreochromis* sp.). *Jurnal Sains Natural*, 5(1), 66.
- Tandi, J., Niswatulfahriyati., Nurmadinah, dan Tien, W.H. 2019. Uji Ekstrak Etanol Daun Kemangi terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Hispatologi Pankreas Tikus yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 5(2): 91-90.
- Toman, R. and Tunegová, M. (2017). Selenium, cadmium and diazinon insecticide in tissues of rats after peroral exposure. Potravinarstvo Slovak *Journal of Food Sciences*, 11(1), 718-724.
- Triamullah, A., Andriane, Y., & Furqaani, A. (2020). Pengaruh jus tomat

- (Solanum lycopersicum) terhadap kualitas spermatozoa mencit yang diberi paparan asap rokok tersier. Jurnal Integrasi Kesehatan & Sains, 2(2).
- Varesi, S., Vernocchi, V., Faustini, M., & Luvoni, G. (2013). Morphological and acrosomal changes of canine spermatozoa during epididymal transit. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1).
- Verma S. 2016. Chemical constituents and pharmacological action of *Ocimum sanctum*. (*Indian holy basil-Tulsi*).5 (5):205–7.
- Walewangko, M., Posangi, J., & Yamlean, P. (2019). Uji efek antibakteri jamur endofit pada tumbuhan kemangi (*ocimum bassilicum* 1.) pada bakteri uji *staphylococcus aureus* dan escherichia coli. *Pharmacon*, 8(3), 716.
- Westmuckett, A., Nguyen, E., Herlea-Pana, O., Alvau, A., Salicioni, A., & Moore, K. (2014). Impaired sperm maturation in rnase9 knockout mice1. *Biology of Reproduction*, 90(6).
- Weston, D. and Lydy, M. (2010). Urban and agricultural sources of pyrethroid insecticides to the sacramento-san joaquin delta of california. *Environmental Science & Technology*, 44(5), 1833-1840.
- William, K. (2022). Efektivitas penggunaan daun kemangi (*ocimum sanctum*) sebagai krim obat anti-nyamuk aedes aegypti. *E-Jurnal Medika Udayana*, 11(4), 63.
- Wijaya, A., & Noviana, N. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengeringan. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 185-194.
- World Health Organization (WHO). 1988. Pemeriksaan Semen Manusia dan

- *Getah Servik*. Penterjemah Tadjudin, M.K. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Yan, W., Kanno, C., Oshima, E., Kuzuma, Y., Kim, S., Bai, H, & Kawahara, M. (2017). Enhancement of sperm motility and viability by turmeric byproduct dietary supplementation in roosters. *Animal Reproduction Science*, 185, 195-204.
- Ye, Z., Zhang, J., Townsend, D., & Tew, K. (2015). Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) General Subjects*, 1850(8), 1607-1621.
- Yokota, S., Sekine, N., Wakayama, T., & Oshio, S. (2021). Impact of chronic vitamin a excess on sperm morphogenesis in mice. *Andrology*, 9(5), 1579-1592.
- Yoriyuliandra. 2012. Perhitungan Dosis untuk Hewan Percobaan.

 https://dokumen.tips/download/link/perhitungan-dosis-untuk-hewanpercobaan-think-like-a-learner Diakses pada tanggal 07 Oktober 2023.
- Yuan, S., Stratton, C., Bao, J., Zheng, H., Bhetwal, B., Yanagimachi, R, & Yan,
 W. (2015). spata6is required for normal assembly of the sperm connecting
 piece and tight head–tail conjunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(5).
- Yuslianti, E., Sutjiatmo, A., Meliawaty, F., & Zhafarina, M. (2023). Efek aplikasi gel madu rambutan pada mukosa labial inferior terhadap kadar malondialdehid (mda) saliva. *Cakradonya Dental Journal*, 12(2), 111-1
- Zuhdi, M. and Ducha, N. (2021). Pengaruh penambahan albumin telur dalam pengencer dasar tris soya terhadap kualitas spermatozoa domba ekor gemuk (deg) pada penyimpanan refrigerator (4-5oc). *Lenterabio Berkala Ilmiah Biologi*, 11(1), 26-35.