

# Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Muda Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Terhadap Jumlah dan Morfologi Normal Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*)

Mira Ananda\*, Rusmiati

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

\*[mirananda10422@gmail.com](mailto:mirananda10422@gmail.com)

Diterima: 9 Agustus 2024 | Disetujui: 24 Agustus 2024

## ABSTRAK

*Peronema canescens* Jack. dianggap oleh Suku Dayak Bakumpai, Kalimantan Tengah sebagai peningkat fertilitas pria. Tanaman tersebut mengandung senyawa bioaktif seperti tanin, flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, saponin, dan fenol. Senyawa tersebut berpotensi dapat meningkatkan hormon testosteron yang berperan dalam meningkatkan jumlah spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dan menganalisis pengaruh ekstrak daun muda *Peronema canescens* Jack terhadap peningkatan jumlah dan morfologi normal spermatozoa mencit jantan. Penelitian menggunakan desain percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 24 ekor mencit jantan, yang dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan dengan 6 ulangan. Kelompok K1 (kontrol) diberi Na-CMC 0,5%, sedangkan kelompok K2, K3, K4 diberi ekstrak daun muda *Peronema canescens* Jack. masing-masing dengan dosis 87,5 mg/kg BB, 175 mg/kg BB, 350 mg/kg BB. Ekstrak diberikan secara oral sebanyak 0,5 mL per hari selama 35 hari berturut-turut. Parameter yang diamati adalah jumlah dan morfologi normal spermatozoa. Hasil Analisis statistik menggunakan uji Anova dan DMRT menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun muda *Peronema canescens* Jack. meningkatkan jumlah morfologi normal spermatozoa mencit jantan.

**Kata Kunci:** fertilitas, morfologi spermatozoa mencit, *Peronema canescens* Jack

## **Effect of Ethanol Extract of Sungkai Young Leaves (*Peronema Canescens* Jack) on The Number and Normal Morphology of Male Mouse Spermatozoa (*Mus Musculus*)**

## ABSTRACT

*Peronema canescens* Jack is considered by the Dayak Bakumpai Tribe, Central Kalimantan as an enhancer of male fertility. The plant contains bioactive compounds such as tannins, flavonoids, steroids, terpenoids, alkaloids, saponins, and phenols. These compounds have the potential to increase the hormone testosterone which plays a role in increasing the number of spermatozoa. This study aims to study and analyze the effect of *Peronema canescens* Jack young leaf extract. Against the increase in the number and normal morphology of spermatozoa in male mice. The study used a Complete Randomized Design (RAL) experimental design with 24 male mice, which was divided into 4 treatment groups with 6 replicates. The K1 group (control) was given Na-CMC 0.5%, while the K2, K3, and K4 groups were given *Peronema canescens* Jack young leaf

*extract. with a dose of 87.5 mg/kg BB, 175 mg/kg BB, 350 mg/kg BB, respectively. The extract is administered orally as much as 0.5 mL per day for 35 consecutive days. The observed parameters were the normal number and morphology of spermatozoa. Results Statistical analysis using Anova and DMRT tests showed that the administration of ethanol extract of young leaves Peronema canescens Jack. increased the normal morphological number of male mouse spermatozoa.*

**Keywords:** fertility, morphology of mouse spermatozoa, *Peronema canescens* Jack

## PENDAHULUAN

Infertilitas atau penyakit kemandulan merupakan ketidakmampuan pasangan suami istri yang telah melakukan hubungan seksual tanpa kontrasepsi selama minimal satu tahun, namun belum berhasil mempunyai keturunan (Alwendi & Samosir, 2022). Masalah infertilitas di Indonesia terjadi sekitar 10-15% dari 40 juta pasangan yang mengalami masalah kesuburan (Susilawati & Restia, 2019). Data yang berasal dari Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization, WHO*) memperkirakan bahwa infertilitas dapat terjadi pada pasangan yang sedang mengalami masa reproduksi sebesar 8-12%, dan secara global infertilitas pada pria sekitar 30% disebabkan oleh berbagai faktor seperti kelainan pengeluaran sperma, infeksi penyempitan saluran mani, infeksi saluran reproduksi, trauma fisik, disfungsi sistem kekebalan tubuh (imunologik), genetika, antisperma (termasuk antibodi), dan faktor gizi (Panjaitan & Manurung, 2020). Permasalahan infertilitas dengan persentase yang cukup tinggi ini dapat mengakibatkan dampak yang kompleks dan rumit. Namun, masih banyak pria yang mengalami infertilitas tidak menyadarinya. Penanganan lebih lanjut dapat dilakukan dengan terapi, pengobatan, dan lainnya (Aldo & Riliyanda, 2019).

Infertilitas dapat disembuhkan dengan berbagai cara, salah satunya yaitu dengan mengonsumsi ramuan herbal. Suku Dayak Bakumpai, Kalimantan Tengah menggunakan tumbuhan sungkai (*Peronema canescens* Jack) terutama bagian daun mudanya sebagai ramuan obat tradisional untuk kesuburan pria (Ali, 2017). Daun sungkai mengandung senyawa tanin, flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, saponin, dan fenol (Latief *et al.* 2021). Senyawa-senyawa yang terkandung di dalam daun sungkai berpotensi meningkatkan hormon testosteron (Yakubu & Akanji, 2011). Hormon testosteron berperan dalam menstimulasi sel germinal dalam proses pembentukan spermatozoa, terutama pada saat terjadinya pembelahan meiosis yang menghasilkan spermatosit sekunder (Permatasari & Widhiantara, 2017). Peningkatan hormon testosteron dapat meningkatkan aktivitas spermatogenesis, yaitu merangsang pertumbuhan spermatozoa (Sherwood, 2012), mempercepat perkembangan spermatosit menjadi spermatid (Norris, 1980), dan diferensiasi spermatid menjadi spermatozoa (Garner & Hafez, 2000). Peningkatan aktivitas spermatogenesis akibat peningkatan hormon testosteron berarti akan meningkatkan jumlah spermatozoa, sehingga ramuan dari daun sungkai diduga berpotensi meningkatkan kesuburan dengan menurunkan tingkat infertilitas. Masalah yang mungkin terjadi dalam peningkatan spermatogenesis ini apakah akan seiring dengan peningkatan kualitas spermatozoa.

Penelitian mengenai aktivitas spermatogenesis dari berbagai jenis tumbuhan sudah banyak diinformasikan, namun penelitian efektivitas ekstrak daun sungkai terhadap aktivitas spermatogenesis masih sangat sedikit ditemukan. Penelitian terbaru mengenai manfaat ekstrak daun sungkai untuk meningkatkan aktivitas spermatogenesis dilakukan oleh Isnawati (2022). Hasil penelitian tersebut mengungkapkan bahwa gambaran aktivitas spermatogenesis tikus putih jantan galur wistar yang telah diberikan ekstrak etanol daun sungkai selama 28 hari tidak mengalami peningkatan, namun cenderung meningkatkan berat testis. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh Franca *et al* (1998), hasil yang tidak maksimal diduga karena perlakuan yang kurang dari satu siklus spermatogenesis tikus putih jantan, yaitu selama 51,6 hari. Perlakuan yang kurang maksimal tersebut juga berpengaruh terhadap kadar hormon testosteron yang masih sedikit sehingga belum dapat mempengaruhi perkembangan sel.

Parameter penting dalam mengevaluasi kesuburan pria dapat dilihat pada kualitas spermatozoa. Syarat spermatozoa normal adalah sesuai dengan parameter yang diamati dari kecepatan gerak, viabilitas, peningkatan jumlah, dan morfologi spermatozoa. Apabila sebagian besar parameter tersebut tidak sesuai, maka dapat dikatakan mengalami infertilitas (Darsini *et al.*, 2019). Dalam penelitian ini,

pengamatan kualitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan parameter jumlah dan morfologi normal. Morfologi normal spermatozoa mencakup bentuk yang diklasifikasikan sebagai bentuk normal atau abnormal. Abnormalitas yang terjadi pada spermatozoa terdapat pada bagian kepala, leher, dan ekor (Efendi *et al.*, 2021). Jumlah spermatozoa yang normal, namun bentuknya terganggu akan memberikan pengaruh terhadap rendahnya kemampuan fungsional spermatozoa, sedangkan pada jumlah spermatozoa yang kurang dari 20 juta/ml dan morfologi normalnya kurang dari 30%, maka dapat dianggap tidak subur (Dcunha *et al.*, 2022). Semakin tinggi jumlah spermatozoa, maka semakin besar pula pengaruhnya terhadap pembuahan, karena berkurangnya morfologi normal spermatozoa akan menghambat kecepatan dan pergerakan spermatozoa menuju tempat pembuahan (Ernayanti & Suarni, 2010).

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari – April 2024. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Anatomi dan Fisiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lambung Mangkurat (ULM) Banjarbaru.

### Alat dan Bahan Penelitian

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit beserta tempat makan dan minum, sonde oral, spuit (*Terumo*), gunting, baskom, nampan aluminium, oven, neraca analitik (*Ohaus*), blender (*Philips*), ayakan, sudip, cawan penguap besar, seperangkat alat sokletasi (*Wertheim*), *vacum rotary evaporator* (*Pazhor*), *water bath* (*Civilab Australia*), labu ukur (*Pyrex*), gelas beaker (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), *hot plate* (*Stuart*), *magnetic stirrer*, botol reagen, botol vial besar, kaca objek (*Object Glass*), kaca penutup (*Cover Glass Thickness*), wadah bius, alat bedah, papan bedah, bak pewarna, pipet tetes, cawan Petri, pipet eritrosit, hemositometer (*Hausser Scientific*), mikroskop (*Nikon*), kamera optilab, dan alat penghitung (*Hand Counter*).

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun muda *Peronema canescens* Jack yang diambil di Balai Penerapan Standar Instrumen Lingkungan Hidup dan Kehutanan (BPSI-LHK) Banjarbaru, Kalimantan Selatan, akuades, aluminum foil, kertas saring, kertas label, Na-CMC (Natrium karboksimetil selulosa) 0,5% sebagai *suspending agent*, eter, tisu, etanol 96%, NaCl fisiologis 0,9%, pewarna giemsa, dan mencit jantan (*Mus musculus*) galur swiss webster berjumlah 24 ekor dengan umur 6-8 minggu dan berat badan 25 – 30 g yang dibeli dari *Pet Store* Rumah Boni Banjarbaru.

### Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Hewan uji dikelompokkan menjadi 4 kelompok (yaitu Kontrol, K2, K3, dan K4) dengan pengulangan sebanyak 6 kali.

### Prosedur Penelitian

#### Proses Ekstraksi Daun Muda Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Sampel daun *Peronema canescens* Jack. diambil, kemudian dipilih dari daun yang masih muda berwarna keunguan dan segar, lalu dibersihkan dan dicuci. Daun dipotong-potong menjadi kecil, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur tetapi tidak terpapar cahaya matahari secara langsung hingga beratnya berkurang sekitar 50-60%. Daun yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak hingga menjadi serbuk. Serbuk yang dihasilkan diambil sebanyak 25 g, kemudian dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat soklet dengan suhu 70-80 °C,

ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 200 mL. Perbandingan antara serbuk dengan pelarut etanol 96% adalah 1:8. Ekstraksi metode soklet dilakukan hingga pelarut yang membilas sampel berwarna jernih tanpa adanya penambahan pelarut secara berulang. Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan cara evaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak kemudian dipekatkan kembali di atas *water bath* sampai diperoleh ekstrak kental dan beratnya konstan (Puspitasari & Proyogo, 2017). Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Berat basah ekstrak *Peronema canescens* Jack

|             | BB (gr)          | BK (gr)           | BS (gr)           | BE (gr)            |
|-------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Sampel      | 350              | 71,80             | 65,57             | 23,11              |
| Keterangan: | BB : Berat Basah | BK : Berat Kering | BS : Berat Serbuk | BE : Berat Ekstrak |

Perhitungan rendemen:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{bobot sampel yang di ekstrak (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{23,11 \text{ (g)}}{65,57 \text{ (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen ekstrak} = 35,24\%$$

#### Pembuatan Larutan Na-CMC 0,5%

Cara pembuatan larutan Na-CMC 0,5% yaitu dengan menimbang 500 mg Na-CMC, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dilarutkan dengan akuades yang sudah dipanaskan (jawaban: berdasarkan penelitian terdahulu tidak ada suhu panas tertentu, namun Na-CMC mudah larut dalam air pada semua suhu) sebanyak 70 mL, diaduk merata hingga homogen, kemudian dipindahkan ke labu ukur dan ditambahkan akuades hingga volumenya 100 mL. Larutan Na-CMC dalam tabung kemudian digojog hingga homogen. Larutan stok dibuat dengan menimbang ekstrak sesuai dengan perhitungan (Lampiran 1). Ekstrak dilarutkan ke dalam larutan Na-CMC 0,5% sesuai perhitungan.

#### Pengujian Perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang mengelompokkan hewan uji menjadi 4 kelompok dengan ulangan sebanyak 6 kali. Mencit jantan (*Mus musculus*) galur swiss webster dengan umur 6-8 minggu, dan tidak diberi makan selama 8 jam sebelum diberikan perlakuan. Masing-masing perlakuan diberikan kepada mencit sebanyak  $\pm 0,5$  mL setiap BB mencit 25-30 mg/kg. Pemberian dosis dilakukan berdasarkan saran dari penelitian Isnawati (2022) bahwa hasil penelitian tersebut belum maksimal karena diduga pemberian dosis yang kurang dari 1 siklus spermatogenesis pada tikus jantan, sehingga peneliti dalam percobaan ini melakukan pemberian ekstrak etanol daun sungkai selama 1 siklus spermatogenesis pada mencit jantan. Pemberian perlakuan dilakukan secara oral setiap pagi hari selama 1 siklus spermatogenesis mencit jantan, yaitu 35 hari berturut-turut.

1. Kelompok 1 (K1) : Kelompok yang diberi Na-CMC 0,5 %
2. Kelompok 2 (K2) : Kelompok yang diberi ekstrak daun muda sungkai dosis 87,5 mg/kg BB
3. Kelompok 3 (K3) : Kelompok yang diberi ekstrak daun muda sungkai dosis 175 mg/kg BB
4. Kelompok 4 (K4) : Kelompok yang diberi ekstrak daun muda sungkai dosis 350 mg/kg BB

### Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa

#### a. Pengambilan Organ

Mencit yang telah diberi perlakuan selama 35 hari, kemudian pada hari ke 36 dikorbankan dengan cara dibius menggunakan eter dan dilakukan pembedahan. Saluran vas deferens diambil dengan memisahkannya dari testis dan dimasukkan ke dalam cawan Petri yang telah diisi NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 1 mL (Erris & Irma, 2014). Saluran vas deferens ditekan perlahan untuk mengeluarkan sekret atau cairan-cairan yang ada di dalamnya. Cairan tersebut kemudian diaduk dengan NaCl fisiologis 0,9% hingga homogen dan terbentuk suspensi spermatozoa (Syahputra *et al.*, 2019). Hasil dari suspensi spermatozoa akan digunakan untuk mengamati kualitas spermatozoa berdasarkan jumlah dan morfologi normalnya.

#### b. Jumlah Spermatozoa

Suspensi spermatozoa diambil menggunakan pipet eritrosit sampai skala 0,5 dan diencerkan hingga tanda 101 pada pipet eritrosit, lalu digojok seperti angka delapan selama 15-20 menit. Setelah digojok, 3 tetes pertama dibuang terlebih dahulu, kemudian baru diteteskan ke kamar hitung Hemositometer. Jumlah spermatozoa yang terlihat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali dan dihitung menggunakan alat penghitung (*hand counter*) (Wuwungan *et al.*, 2017).

#### c. Morfologi Spermatozoa

Pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan cara membuat apusan pada kaca objek. Sediaan apusan yang dibuat harus setipis mungkin, lalu difiksasi menggunakan etanol selama 3-5 menit dan diwarnai dengan pewarna giemsa 3% selama 45 menit. Preparat kaca objek yang berisi apusan spermatozoa kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, setelah itu preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Batubara *et al.*, 2013). Morfologi spermatozoa dianalisis melalui dua cara, yaitu pertama secara kuantitatif dengan menghitung dari 100 spermatozoa, kemudian dihitung jumlah normal dan abnormalnya, dan dicatat jumlah spermatozoa abnormal dalam bentuk persentase. Cara kedua dianalisis secara kualitatif yaitu dengan mengamati bentuk spermatozoa yang abnormal (kepala, leher, dan ekor) dari masing-masing kelompok perlakuan (Nugraheni *et al.*, 2003).

#### d. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif dapat diambil dari jumlah dan morfologi normal spermatozoa (mempunyai kepala, leher, dan ekor). Data yang diperoleh dilakukan pengujian secara statistik menggunakan uji normalitas menurut *Kolmogorov-Smirnov* dan uji Homogenitas menurut *Levene's Test* (kesamaan). Hasil data yang diperoleh menggunakan uji normalitas menurut *Kolmogorog-Smirnov* menunjukkan jumlah dan morfologi normal spermatozoa terdistribusi normal (signifikansi > 0,05). Parameter yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas menurut *Levene's Test* (signifikansi > 0,05). Hasil data yang terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji analisis ragam (ANOVA) ( $\alpha=5\%$ ) dengan tujuan untuk melihat ada tidaknya pengaruh terhadap perlakuan (signifikansi < 0,05). Data kemudian dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda yaitu DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk melihat letak perbedaan diantara perlakuan. Data kualitatif pada pengamatan morfologi spermatozoa mencit diambil dalam bentuk foto.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Muda Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Selama 35 Hari

Perhitungan jumlah spermatozoa yang dilakukan dengan uji statistik Kolmogorov-Smirnov menghasilkan nilai signifikansi  $0,05 > (p=0,200)$  sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji *Levene's Test* dengan nilai signifikansi  $0,05 > (p=0,074)$  yang menyatakan bahwa data jumlah spermatozoa berasal dari populasi yang sama (homogen) sehingga dapat dilanjutkan ke uji Anova untuk melihat ada tidaknya pengaruh terhadap perlakuan. Hasil dari uji Anova yang dilakukan dapat diketahui bahwa H1 diterima sehingga menunjukkan adanya pengaruh nyata pada jumlah spermatozoa dari masing-masing perlakuan (signifikansi < 0,05), selanjutnya dapat

dilakukan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk melihat perbedaan secara nyata antar perlakuan. Hasil analisis statistik jumlah spermatozoa mencit jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun muda *Peronema canescens* Jack. selama 35 hari dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah spermatozoa mencit jantan setelah pemberian ekstrak daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) selama 35 hari

| Perlakuan            | Jumlah Spermatozoa (Juta/mL)<br>(Rata-rata±SD) |
|----------------------|--|
| K1 (Kontrol Pelarut) | 62,00 ± 5,441 <sup>a</sup>                     |
| K2 (87,5 mg/Kg BB)   | 95,00 ± 8,854 <sup>b</sup>                     |
| K3 (175 mg/Kg BB)    | 127,67 ± 3,386 <sup>c</sup>                    |
| K4 (350 mg/Kg BB)    | 149,17 ± 11,822 <sup>d</sup>                   |

Keterangan \*) angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar kelompok, sebaliknya angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata ( $\alpha=5\%$ )

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan hasil bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) yang diberikan maka semakin tinggi jumlah spermatozoa yang dihasilkan. Perhitungan jumlah spermatozoa umumnya digunakan sebagai penilaian terhadap kerusakan pada sistem reproduksi jantan atau untuk mengetahui potensi biokativitas suatu bahan atau obat dalam peningkatan jumlah spermatozoa. Jumlah spermatozoa yang berkurang menandakan bahwa terjadi masalah pada produksi harian spermatozoa oleh testis, adanya gangguan pada proses pengangkutan dari testis ke epididimis, atau perubahan waktu transit epididimis dari spermatozoa. Perbandingan jumlah spermatozoa setelah diberikan perlakuan suatu bahan atau obat dapat memberikan informasi penting mengenai efeknya terhadap produksi spermatozoa (Luthfi & Mahanem, 2023). Hal ini terlihat dari nilai terendah jumlah spermatozoa pada K1 sebesar 62,00 juta/mL dan meningkat pada K2 dan K3, kemudian pada K4 yang memiliki nilai jumlah spermatozoa tertinggi sebesar 149,17 juta/mL. Dari data dapat dilihat juga bahwa kelompok K1, K2, K3, dan K4 memiliki perbedaan yang nyata. Jumlah spermatozoa yang berkualitas pada manusia adalah sekitar 20 jt/mL ejakulat. Apabila seorang pria memiliki jumlah spermatozoa yang kurang dari 20 jt/mL, maka dapat dikatakan pria tersebut memiliki spermatozoa yang tidak berkualitas (Susilo *et al.*, 2018). Jumlah normal spermatozoa mencit adalah berjumlah lebih dari 20 jt/ml semen, namun bila kurang dari jumlah normalnya maka dianggap infertil (Fauziyah *et al.*, 2013).

Penelitian terbaru mengenai manfaat ekstrak daun sungkai untuk meningkatkan fertilitas pria dilakukan oleh Isnawati (2022). Hasil penelitian tersebut mengungkapkan bahwa gambaran aktivitas spermatogenesis tikus putih jantan yang telah diberikan ekstrak etanol daun sungkai selama 28 hari tidak mengalami peningkatan, namun cenderung meningkatkan berat testis. Berdasarkan hasil penelitian ini, jumlah sperma cenderung meningkat seiring jumlah ekstrak etanol daun muda sungkai yang diberikan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Latief *et al.* (2021) yang mengatakan bahwa uji metabolit sekunder dari ekstrak daun sungkai ditemukan beberapa kandungan senyawa, yaitu tanin, flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, saponin, dan fenol. Penelitian yang dilakukan oleh Yakubu & Akanji (2011) dalam tanaman *Massularia acuminata* menemukan bahwa kandungan senyawa flavonoid, steroid, alkaloid, saponin, dan fenol berpotensi meningkatkan libido karena diduga dapat menaikkan produksi hormon testosteron. Penelitian lain yang dilakukan oleh Rusdi *et al.* (2018) dalam tanaman katuk (*Sauropus androgynus*) juga mengatakan bahwa senyawa saponin, flavonoid, dan alkaloid adalah senyawa-senyawa aktif yang berpotensi dalam meningkatkan libido dengan adanya peningkatan berat testis dan vesikula tikus jantan yang berarti diduga dapat meningkatkan produksi testosteron.

### Morfologi Normal Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diberi Ekstrak Daun Muda Sungkai (*Peronema canescens* Jack) selama 35 Hari

Perhitungan morfologi normal spermatozoa yang dilakukan dengan uji statistik *Kolmogorov-Smirnov* menghasilkan nilai signifikansi  $0,05 > (p=0,200)$  sehingga dapat disimpulkan bahwa data

terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji *Levene's Test* dengan nilai signifikansi  $0,05 > (p=0,096)$  yang menyatakan bahwa data morfologi normal spermatozoa berasal dari populasi yang sama (homogen) sehingga dapat dilanjutkan ke uji Anova untuk melihat ada tidaknya pengaruh terhadap perlakuan. Hasil dari uji Anova dengan nilai signifikansi  $< 0,05 (p=0,003)$  yang dilakukan dapat diketahui bahwa Hipotesis 1 diterima sehingga menunjukkan adanya pengaruh nyata pada morfologi normal spermatozoa dari masing-masing perlakuan, selanjutnya dapat dilakukan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk melihat perbedaan secara nyata antarperlakuan. Hasil analisis statistik morfologi normal spermatozoa mencit jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) selama 35 hari dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Morfologi normal spermatozoa mencit jantan setelah pemberian ekstrak daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) selama 35 hari

| Perlakuan            | Morfologi Normal (Juta/mL)<br>(Rata-rata $\pm$ SD) |
|----------------------|--|
| K1 (Kontrol Pelarut) | 57,67 $\pm$ 8,618 <sup>a</sup>                     |
| K2 (87,5 mg/Kg BB)   | 73,33 $\pm$ 3,983 <sup>b</sup>                     |
| K3 (175 mg/Kg BB)    | 76,67 $\pm$ 11,130 <sup>b</sup>                    |
| K4 (350 mg/ Kg BB)   | 77,50 $\pm$ 9,731 <sup>b</sup>                     |

Keterangan \*) angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar kelompok sebaliknya angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata ( $\alpha=5\%$ )

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa K2, K3, dan K4 tidak berbeda nyata, namun ketiga kelompok ini berbeda nyata dengan K1 yang merupakan kelompok Kontrol Pelarut. Pengamatan morfologi spermatozoa mencit ini dilakukan di bawah mikroskop untuk mendapatkan data kualitatif berupa foto. Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) dapat meningkatkan jumlah morfologi normal spermatozoa. Kontrol (K1), dosis 87,5mg (K2), dosis 175mg (K3), dan dosis 350mg (K4) dengan nilai masing-masing yaitu 57,67 juta/mL, 73,33 juta/mL, 76,67 juta/mL, dan 77,50 juta/mL.

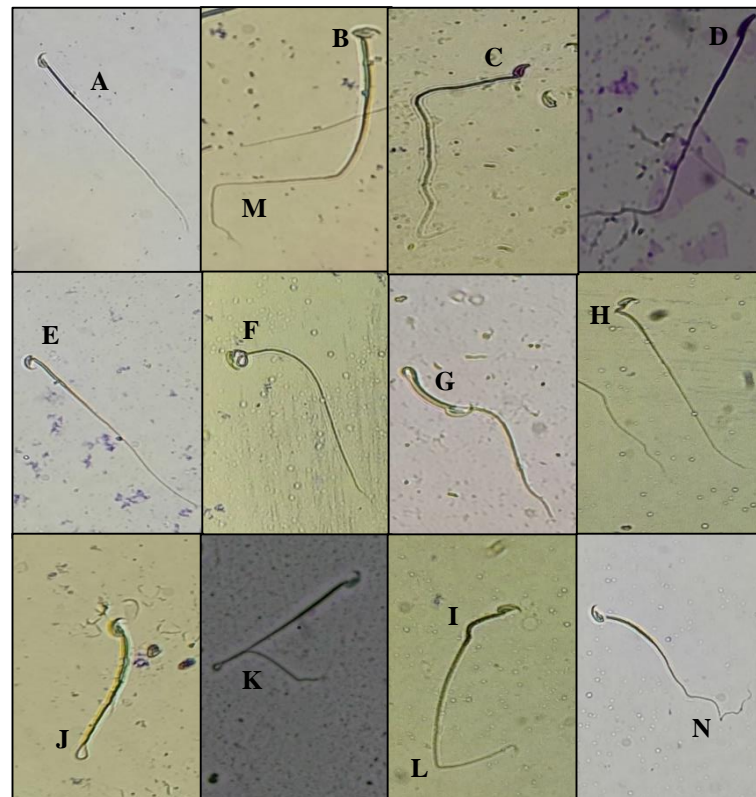
Spermatozoa mencit memiliki berbagai variasi, baik dalam panjang, lebar, maupun bentuknya. Spermatozoa mencit memiliki kepala berbentuk sabit atau kait, leher atau bagian tengah (*midle piece*) yang pendek dan, berekor panjang (Putra, 2014). Hasil penelitian pada Tabel 3 menunjukkan bahwa meskipun jumlah spermatozoa normal meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak etanol daun muda sungkai yang diberikan, namun demikian jumlah spermatozoa normal tidak berbeda secara signifikan. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun muda *Peronema canescens* Jack, mengandung senyawa yang dapat berperan dalam meningkatkan testosteron. Menurut standar WHO, morfologi normal spermatozoa dapat dilihat dari bentuk (tanpa kelainan) bagian kepala, leher atau bagian tengah, dan ekor dengan persentase  $\geq 30\%$  (Wongsodiharjo, 2017).

### Gambaran Spermatozoa Normal dan Abnormal

Spermatozoa ideal ialah spermatozoa tanpa cacat morfologi, mempunyai bentuk kepala kait (seperti kail pancing), bagian tengah lurus (tidak patah dan bengkok), dan hanya satu ekor yang melekat lurus. Abnormalitas pada kepala spermatozoa memiliki kelainan bentuk seperti: kait tumpul, kepala berbentuk pisang, bentuk kepala tidak teratur, kepala bentuk jarum, dan kepala ganda (Luthfi & Mahanem, 2023). Bagian ekor merupakan bagian yang sering mengalami kerusakan karena memiliki membran plasma yang sangat tipis. Bentuk-bentuk abnormalitas yang terjadi pada ekor spermatozoa yaitu: mengeriting, berlekuk, membengkok, dan melingkar (Claudia *et al.*, 2013).

Morfologi abnormal yang terjadi pada spermatozoa diakibatkan adanya hambatan pada epididimis sehingga menyebabkan sperma memiliki bentuk yang tidak sempurna atau memiliki cacat pada bagian kepala, leher/bagian tengah, dan ekor. Abnormalitas spermatozoa terjadi secara primer dan sekunder. Abnormalitas primer diakibatkan oleh kelainan pada proses spermatogenesis, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi karena proses ejakulasi atau pascaejakulasi yang terganggu sehingga merusak kualitas spermatozoa. Selain itu, abnormalitas sekunder juga dapat terjadi akibat pemanasan yang

berlebihan, pendinginan yang cepat, kontaminasi dengan air, dan urin, dan antiseptik (Tethool *et al.*, 2021). Spermatozoa dengan satu atau lebih cacat morfologi dikategorikan sebagai spermatozoa abnormal. Gambar morfologi normal dan abnormal spermatozoa pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi spermatozoa mencit dengan pewarnaan giemsa. Perbesaran 40x10. Spermatozoa normal (A), Kepala bengkok (B), Kepala tidak terkait (C), Kepala bentuk pisang (D), Leher bengkok (E), Bagian tengah melingkar (F), Bagian tengah terlipat (G), Bagian tengah patah (H), Bagian tengah bengkok (I), Ekor melingkar (J), Ekor terlipat (K), Ekor patah (L), Ekor bengkok (M), Ekor keriting (N).

Abnormalitas spermatozoa adalah spermatozoa dengan kondisi morfologi yang memiliki kelainan. Kelainan pada spermatozoa dapat terjadi pada beberapa bagian, seperti pada bagian kepala yang terlalu besar, terlalu kecil, pipih, ganda, atau tanpa kepala. Bagian leher atau tengah memiliki bentuk kelainan seperti terjadinya lipatan atau lekukan, dan pada bagian ekor bentuk kelainannya seperti melingkar, ekor patah, dan ekor ganda (Julia *et al.*, 2019). Penelitian ini menemukan abnormalitas spermatozoa, seperti bentuk kepala bengkok, kepala tidak terkait, kepala bentuk pisang, leher bengkok, bagian tengah melingkar, bagian tengah terlipat, bagian tengah patah, bagian tengah bengkok, ekor melingkar, ekor terlipat, ekor patah, ekor bengkok, atau ekor keriting (Gambar 1).

Abnormalitas spermatozoa terjadi secara primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi karena adanya penurunan kadar testosteron, yang berdampak terhadap adanya hambatan saat proses pembentukan protein  $\alpha$ -tubulin menjadi komponen dasar mikrotubuli dan mikrofilamen pada proses spermiogenesis. Abnormalitas sekunder terjadi karena adanya gangguan pada proses pematangan sperma di epididimis. Spermatozoa yang dihasilkan oleh testis dan mengalami proses pematangan pada epididimis. Pada epididimis, spermatozoa mengalami perubahan morfologi ukuran, bentuk, ultrastruktur (bagian tengah), DNA, serta perubahan fungsional berupa pola metabolisme dan sifat membran plasma. Pematangan spermatozoa di epididimis bergantung terhadap kadar testosteron. Jika kadar testosteron menurun, akan mengakibatkan spermatozoa abnormal (Indriyani *et al.*, 2021). Testosteron berperan penting dalam pematangan spermatozoa pada epididimis. Seperti dinyatakan oleh Grande *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa testosteron mendukung transformasi sel-sel



spermatogenik menjadi spermatozoa matang dengan memengaruhi berbagai aspek seperti morfologi, motilitas, dan fungsionalitas. Penurunan kadar testosteron dapat mengganggu proses pematangan spermatozoa, yang berpotensi menyebabkan terbentuknya spermatozoa dengan morfologi yang tidak normal serta mengurangi kualitas fungsional seperti motilitas dan kemampuan fertilisasi.

Hormon testosteron merupakan hormon steroid yang berfungsi untuk merangsang perkembangan dan mengontrol produksi spermatozoa pada hewan jantan selama hidup. Jumlah hormon testosteron di dalam tubuh dapat dipengaruhi oleh faktor usia, cahaya, suhu lingkungan, dan makanan (Oematan *et al.*, 2023). Hormon ini juga dipengaruhi oleh senyawa-senyawa seperti tanin, flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, saponin, dan fenol. Senyawa-senyawa ini terkandung dari ekstrak daun sungkai (Latief *et al.*, 2021). Senyawa terpenoid berpengaruh pada proses transportasi spermatozoa (Indriyani *et al.*, 2021). Senyawa fenol berperan dalam mencegah kerusakan pada membran plasma spermatozoa (Ayustina *et al.*, 2022). Senyawa saponin dapat meningkatkan kadar LH dan FSH, selain itu juga meningkatkan produksi androgen melalui jalur langsung dan tidak langsung untuk meningkatkan kadar testosteron (Fahrani *et al.*, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah dan morfologi normal spermatozoa mencit jantan. Berdasarkan pada hasil penelitian yang dilakukan, penelitian ini hanya menguji kualitas spermatozoa dengan parameter jumlah dan morfologi normal spermatozoa mencit jantan. Peningkatan pada kualitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh peningkatan hormon testosteron akibat adanya pengaruh metabolit sekunder. Kekurangan penelitian ini adalah tidak menguji kadar hormon testosteron setelah pemberian ekstrak etanol daun muda sungkai. Selain itu, perlu juga diteliti mengenai efek samping atau dampak yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak etanol daun muda sungkai ini, seperti alergi, gangguan pencernaan, dan sebagainya.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack) berpengaruh dalam meningkatkan jumlah dan morfologi normal spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*). Saran berdasarkan penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian kadar hormon testosteron mencit jantan untuk melihat ada peningkatan yang selaras dengan jumlah dan morfologi normal spermatozoa mencit jantan, serta perlunya dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai efek samping dari pemberian ekstrak etanol daun muda sungkai (*Peronema canescens* Jack).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat dalam proses penelitian ini, orang tua dan sanak keluarga, seluruh Dosen Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat yang terlibat dalam penelitian ini, serta teman-teman terdekat yang selalu menemani, memberikan pendapat, membangun, dan memotivasi. Terima kasih banyak kepada Ibu Dr. Dra. Rusmiati, M.Si. selaku dosen pembimbing yang senantiasa sabar dalam memberikan arahan selama penelitian ini, serta dosen penguji yaitu Dr. Drs Heri Budi Santoso, M.Si dan Ibu Anni Nurliani, S.Si., M.Sc Ph.D. yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan pada penelitian ini. Penulis menyadari bahwa dalam penelitian ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan selanjutnya. Semoga dari penelitian ini dapat memberikan referensi dan bermanfaat bagi semua.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aldo, D., & Riliyanda, D. (2019). Aplikasi sistem pakar dalam mendiagnosa penyakit infertilitas pada pria menggunakan metode *Certainty Factor* berbasis web. *Jurnal TEKNOIF*, 7(1), 20-31.
- Ali, S. R. (2017). *Inventarisasi tumbuhan obat ramuan tradisional untuk reproduksi Suku Dayak Bakumpai di Kecamatan Teweh Baru Kabupaten Barito Utara Provinsi Kalimantan Tengah*. Palangka Raya: Institut Agama Islam Negeri Palangka Raya. 172p.

- Alwendi., & Samosir, K. (2022). Perancangan aplikasi sistem pakar dalam mendiagnosa penyakit infertilitas pada pria menggunakan metode *Certainty Factor* berbasis web. *Jurnal Informatika dan Rekayasa Perangkat Lunak*, 4(1), 24-30.
- Ayustina, P. M., Ni Made, R. S., & Ni Gusti, A. M. E. (2022). Potensi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kualitas spermatozoa dan hormon testosteron tikus putih jantan yang diinduksi meloxicam. *Journal of Biological Science*, 9(2), 9-17.
- Batubara, I. V. D., Benny, W., & Lydia, T. (2013). pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik*, 1(1), 330-337.
- Claudia, V., Queljoe, E. D., & Tendean, L. (2013). Perbedaan kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang diberikan vitamin C setelah pemaparan asap rokok. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 1(1), 629-634.
- Darsini, N., Hamidah, B., Suyono, S. S., Ashari, F. Y., Aswin, R. H., Yudiwati, R. (2019). Human sperm motility, viability, and morphology decrease after cryopreservation. *Fol Med Indones*, 55(3), 198-201.
- Dcunha, H. Hussein, R. S., Ananda, H. *et al.* (2022). Current insights and latest updates in sperm motility and associated applications in assisted reproduction. *Reprod. Sci.* 29, 7-25.
- Efendi, Y., Fauziah, S., & Notowinarto, N. (2021). Pengaruh perbedaan usia terhadap motilitas spermatozoa studi kasus pasien laboratorium infertilitas Rumah Sakit Kasih Sayang Ibu Kota Batam. *Simbiosis*, 10(2), 69-74.
- Ernayanti, N. G. A. M., & Suarni, N. M. R. (2010). Kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) dan pemulihannya. *Jurnal Biologi*, 1(1), 45-49.
- Erris., & Irma, H. (2014). Pengaruh kebisingan terhadap kuantitas dan kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa. *Media Litbangkes*, 24(3), 123-128.
- Fahruni., Rezqi, H., & Susi, N. (2018). Potensi tumbuhan kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F.) Bedd.) asal Kalimantan Tengah sebagai afrodisiaka. *Jurnal Surya Medika*, 3(2), 144-153.
- Fauziyah, A. (2013). Pengaruh radiasi sinar X terhadap motilitas sperma pada tikus mencit (*Mus musculus*). *Under Graduate thesis*, Universitas Negeri Semarang. 60p.
- Franca, L. R., Takehiko, O., Mary, R. A., Ralph, L. B., & Lonnie, D. R. (1998). Germ Cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biology of Reproduction*, 59(6), 1371-1377.
- Garner D. L., & Hafez, E. S. E. (2000). *Spermatozoa and seminal plasma*. In: Hafez E. S. E (ed). *Reproduction in farm animals* 7th Ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Grande, G., Barrachina, F., Soler-Ventura, A., Jodar, M., Macini, F., Marana, R., Chiloiro, S., Pontecorvi, A., Olivia, R., Milardi, D. (2022). The Role of testosterone in spermatogenesis: Lessons from proteome profiling of human spermatozoa in testosterone deficiency. *Front Endocrinol* (Lausanne). Doi: 10.3389/fendo.2022.852661. PMID: 35663320: PMCID: PMC9161277.
- Indriyani., Hendri, B., & Sutyarso. (2021). Penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa mencit setelah pemberian ekstrak rimpang rumput teki. *Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1), 75-85.
- Isnawati, A. (2022). *Gambaran aktivitas spermatogenesis tikus putih jantan (Rattus norvegicus) setelah pemberian ekstrak etanol daun sungkai (Peronema canescens Jack)*. Skripsi. Banjarbaru: Universitas Lambung Mangkurat. 76p.
- Julia, D., Salni, S., & Nita, S. (2019). Pengaruh ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* Linn.) terhadap jumlah, motilitas, morfologi, viabilitas spermatozoa tikus jantan (*Ratus norvegicus*). *Biomedical Journal of Indonesia: Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 5(1), 34-42.
- Latief, M., Tarigan, I. L., Sari, P. M., & Aurora, F. E. (2021). Aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) pada mencit putih jantan. *Pharmacoin: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 23– 37.
- Luthfi, M. J., & Mahanem, M. N. (2023). *Analisis kualitas sperma tikus percobaan (Jumlah, motilitas, dan morfologi)*. Surakarta: UNS Press. 58p.

- Norris, D. O. (1980). *Vertebrate endocrinology*. Philadelphia: Lea & Febiger. 505p.
- Nugraheni, T., Okid, P. A., & Tetri, W. (2003). Pengaruh vitamin C terhadap perbaikan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *Biofarmasi*, 1(1), 13-19.
- Oematan, G., Erna, H., Mullik, M. L., Taratiba, N., Twen, O. D. D., Lestari, G. A. Y., & Grouse, T. S. O. (2023). Konsentrasi hormon testosteron dan profil darah sapi bali yang diberi *Chromolaena odorata*, analog hidroksi metionin dan minyak nabati. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 10(1), 9-20.
- Panjaitan, R. F., & Manurung, E. (2020). Analisis faktor resiko kejadian infertilitas pada perawat di RSU Sembiring. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 3(2), 244-250.
- Permatasari, A. A. A. P., & Widhiantara, I. G. (2017). Terapi testosteron meningkatkan jumlah Sel Leydig dan spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*) yang mengalami hiperlipidemia. *Jurnal Media Sains*, 3(2), 77-83.
- Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. (2017). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kade fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*. 2(1), 16-23.
- Putra, Y. (2014). Pengaruh rokok terhadap jumlah sel spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*, Strain Jepang). *Jurnal Saintek*, 4(1), 30-42.
- Rusdi, N. K., Ni Putu, E. H., Maifitrianti., Yunitas, S. U., & Ayyoehan, T. A. (2018). Aktivitas afrofisiaka fraksi dari ekstrak etanol 70% daun katok (*Sauropus androgynus* (L. Merr) pada tikus putih jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 5(3), 123-132.
- Sherwood, L. (2012). *Fisiologi manusia* (Edisi 6). Jakarta: EGC. 970p.
- Susilawati, D., & Restia, V. (2019). Hubungan obesitas dan siklus menstruasi dengan kejadian infertilitas pada pasangan usia subur di Klinik Dr. Hj. Putri Sri Lasmini SpOG (K) periode Januari-Juli tahun 2017. *Jurnal Kesehatan Mercusuar*, 2(1), 1-8.
- Susilo, B., Akbar, I., & Praningsih. (2018). Pengaruh ekstrak etanol daun sambiloto terhadap jumlah dan motilitas spermatozoa mencit jantan. *Jurnal Biodjati*, 3(2), 166-172.
- Syahputra, T. M. R., Muhammad, I., & Sufitni. (2019). Efek jus semangka terhadap jumlah dan motilitas spermatozoa tikus wistar yang dipapari MSG. *Healthcare: Jurnal Kesehatan*, 8(2), 43-50.
- Tethool, A. N., Abdul, R. O., & Johan, F. K. (2021). Pengaruh sari buah merah (*Pandanus conoideus Lam*) terhadap abnormalitas spermatozoa ayam kampung. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis*, 11(2), 92-98.
- Wongsodiharjo, T. (2017). Analisa karakteristik cairan semen pada pasien varikokel di Rumah Sakit Angkatan Laut dr. Ramelan Surabaya tahun 2015. *HTMJ*, 15(1), 84-92.
- Wuwungan, C., Queljoe, E. D., & Wewengkang, D. F. (2017). Kualitas spermatozoa tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) setelah pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(3), 324-331.
- Yakubu, M. T., & Akanji, A. (2011). Effect of aqueous extract of *massularia acuminata* stem on sexual behavior of male wistar rats. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1(1), 1-10.