

ARTIKEL

## EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus* L.)

*(Effect of Ethanolic Extract of Durian (Durio zibethinus Murr.) Leaves on Spermatozoa Quality in Mice (Mus musculus L.))*

Desita Aulia Maharani, Harlita\*

Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

### ABSTRAK

Daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi mempengaruhi sistem reproduksi jantan, tetapi pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap berat badan mencit dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) meliputi parameter morfologi dan motilitas. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan RAL. Hewan uji mencit jantan galur Balb-c berumur 3-4 bulan dengan rata-rata berat badan  $33 \pm 4$  gram yang dibagi menjadi tiga kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit, yaitu kontrol negatif (K) serta kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun durian dengan dosis 250 mg/kg BB (P1) dan dosis 500 mg/kg BB (P2). Perlakuan diberikan selama 14 hari melalui pemberian oral menggunakan sonde satu kali per hari. Parameter yang diamati meliputi berat badan, kualitas spermatozoa berupa morfologi dan motilitas. Data dianalisis menggunakan Anova dan uji lanjut LSD (*Least Significant Difference*) dan *Games-Howell*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun durian tidak berpengaruh signifikan terhadap berat badan mencit, namun berpengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa. Pemberian ekstrak etanol daun durian menyebabkan penurunan persentase morfologi dan motilitas normal spermatozoa serta peningkatan abnormalitas. Pada dosis tertinggi (500 mg/kg BB), persentase morfologi normal menurun dari 81.33% (kontrol) menjadi 16.00%. Persentase motilitas normal juga menurun dari 69.33% (kontrol) menjadi 5.33% ( $p < 0,05$ ). Kesimpulannya, ekstrak etanol daun durian berpotensi menurunkan kualitas spermatozoa mencit meliputi parameter morfologi dan motilitas dan memiliki aktivitas antifertilitas.

**Kata kunci:** ekstrak etanol daun durian, kualitas spermatozoa, motilitas spermatozoa, morfologi spermatozoa, antifertilitas

## ABSTRACT

*Durian leaves (Durio zibethinus Murr.) contain bioactive compounds that have the potential to affect the male reproductive system; however, their effects on spermatozoa quality have not been extensively studied. This study aimed to determine the effects of ethanol extract of durian leaves on body weight and spermatozoa quality of mice (Mus musculus L.), including morphology and motility parameters. This study was conducted as an experimental research using a Randomized Complete Design. Male mice aged 3-4 months with an average body weight of  $33 \pm 4$  gram were divided into three groups: control (K) and treatment groups administered ethanol extract of durian leaves at doses of 250 mg/kg body weight (P1) and 500 mg/kg body weight (P2). The treatment was administered for 14 days. The observed parameters included body weight and spermatozoa quality, consisting of morphology and motility. Data were analyzed using analysis of variance followed by Least Significant Difference and Games–Howell post hoc tests. The results showed that administration of ethanol extract of durian leaves did not significantly affect body weight but significantly affected spermatozoa quality. The ethanol extract of durian leaves caused a decrease in the percentage of normal spermatozoa morphology and motility and an increase in abnormalities. At the highest dose of 500 mg/kg body weight (P2), the percentage of normal morphology decreased from 81.33% in the control group to 16.00%. The percentage of normal motility also decreased from 69.33% in the control group to 5.33% ( $p < 0.05$ ). In conclusion, ethanol extract of durian leaves has the potential to reduce spermatozoa quality in mice, particularly in terms of morphology and motility parameters, and exhibits antifertility activity.*

**Keywords:** durian leaf ethanolic extract, sperm quality, sperm motility, sperm morphology, antifertility

## PENDAHULUAN

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Berdasarkan kandungan kimianya, daun durian memiliki potensi sebagai agen antifertilitas. Daun durian mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, tanin, glikosida, steroid, triterpenoid, dan saponin (Sonia *et al.*, 2020). Steroid yang ditemukan dalam daun durian, seperti  $\beta$ -sitosterol (Aruan *et al.*, 2019), berpotensi mengganggu biosintesis ATP yang berperan dalam penyediaan energi bagi sperma, sehingga dapat memengaruhi motilitasnya (Kasmeri & Putri, 2020). Selain itu, senyawa triterpenoid dalam beberapa jenis tumbuhan diketahui memiliki sifat antigonadotropin yang dapat mengganggu spermatogenesis serta menghambat pertemuan antara sel telur dan spermatozoa (Indriani *et al.*, 2021). Flavonoid juga diketahui dapat menghambat kerja enzim aromatase yang berperan dalam regulasi spermatogenesis (Zakri *et al.*, 2023).

Tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr.) telah lama dikenal memiliki berbagai manfaat, terutama dalam kaitannya dengan sistem reproduksi. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak dari berbagai bagian tanaman durian memiliki efek terhadap kesuburan dan spermatozoa. Penelitian Rusmiati (2009) menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit kayu durian tidak berpengaruh terhadap kehamilan awal mencit, tetapi pada konsentrasi 20% dapat menyebabkan resorpsi dini pada tapak implantasi. Penelitian Setyorini *et al.* (2012) menemukan bahwa ekstrak biji durian mampu meningkatkan gairah seksual, frekuensi kawin, serta jumlah spermatozoa mencit jantan. Penelitian Nurliani dan Santoso (2010) mengungkapkan bahwa ekstrak kulit kayu durian memiliki efek spermatisida terhadap spermatozoa manusia secara *in vitro*, bahkan mampu menurunkan motilitas hingga nol.

Bagian tanaman durian telah banyak diteliti dalam kaitannya dengan sistem reproduksi, namun hingga saat ini belum ada penelitian yang secara spesifik mengkaji efek ekstrak etanol daun durian terhadap kualitas spermatozoa. Padahal, daun durian memiliki potensi yang belum banyak dieksplorasi, mengingat penggunaannya selama ini lebih sering terbatas sebagai pakan ternak dan antipiretik. Akibat minimnya pemanfaatan ini, daun durian sering kali hanya terbuang begitu saja tanpa dimanfaatkan secara optimal. Walaupun daun durian diketahui mengandung berbagai senyawa aktif yang berpotensi sebagai agen antifertilitas, informasi ilmiah mengenai pengaruh ekstrak etanol daun durian terhadap kualitas spermatozoa masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap berat badan mencit serta kualitas spermatozoa mencit meliputi parameter motilitas dan morfologi.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven (50 °C), blender, ayakan 22 mesh, bejana tertutup, *rotary evaporator*, labu ukur 100 mL, pipet, gelas ukur 10 mL dan 100 mL, cawan petri, pinset, *binophoto microscope* (40x), pipet eritrosit, kaca objek, kaca penutup, mikropipet, dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun durian segar, etanol 70% (3750 mL), larutan Na-CMC 1% (100 mL), aquadest, larutan fisiologis (NaCl 0,9%), larutan eosin 0,2%, larutan giemsa, metanol 96%, pewarna eosin 1%, pewarna nigrosin 10%, serta hewan uji mencit jantan berumur 3-4 bulan dengan rata-rata berat badan  $33 \pm 4$  gram sebanyak 9 ekor.

### **Metode Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental Rancangan Acak lengkap (RAL) menggunakan hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus* L.). Hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol (K) diberikan air RO, kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan ekstrak etanol daun durian dengan dosis 250 mg/KgBB selama 14 hari, dan kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan ekstrak etanol daun durian dengan dosis 500 mg/KgBB selama 14 hari. Ekstrak diberikan sebanyak 0.05 mL per ekor melalui sonde oral.

### **Tahapan Penelitian**

#### **Pembuatan Simplisia**

Daun durian muda segar sebanyak 2 kg dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan cara dicuci menggunakan air bersih yang mengalir lalu ditiriskan. Kemudian daun dipisahkan dari tulang daunnya dan dilakukan penimbangan. Selanjutnya daun dikeringkan dengan oven pada suhu tidak lebih dari 50°C, kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk yang diperoleh selanjutnya diayak menggunakan ayakan berukuran 22 mesh. Serbuk simplisia yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Syafira *et al.*, 2023).

#### **Pembuatan Ekstrak**

Serbuk simplisia sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam bejana, kemudian ditambahkan 75 bagian (3750 mL) etanol 70% sebagai pelarut. Bejana lalu ditutup dan dibiarkan selama 5 hari dalam kondisi terlindung dari cahaya matahari sambil dilakukan pengadukan sesekali. Setelah periode maserasi selesai, campuran beserta ampasnya diperas, kemudian ampas dicuci dengan cairan penyari etanol secukupnya hingga diperoleh maserat sebanyak 5 liter. Maserat dipindahkan ke dalam bejana tertutup dan didiamkan selama 2 hari di tempat sejuk terlindung dari cahaya, kemudian disaring dengan kertas saring sehingga menjadi ekstrak cair. Filtrat hasil maserasi yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga dihasilkan ekstrak kental (Syafira *et al.*, 2023).

#### **Penentuan Dosis Ekstrak**

Penentuan dosis dalam penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang menggunakan bagian tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr.) sebagai bahan uji pada hewan coba mencit. Penelitian yang menjadi dasar penentuan dosis adalah penelitian oleh Lestari *et al.*, (2023) mengenai aktivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) pada mencit yang diinduksi parasetamol. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol daun durian 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB mampu mempertahankan kadar SGPT pada level normal setelah paparan parasetamol. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dosis ekstrak etanol daun durian yang digunakan pada penelitian ini adalah 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Dosis tersebut dipilih karena telah terbukti memberikan efek biologis yang signifikan pada fisiologis hewan coba tanpa menimbulkan efek toksik. Meskipun target organ penelitian berbeda, pemberian ekstrak secara oral bersifat sistemik sehingga senyawa aktif didistribusikan melalui sirkulasi darah ke berbagai organ, termasuk organ reproduksi. Selain itu, belum ditemukan penelitian yang secara spesifik melaporkan dosis ekstrak daun durian terhadap kualitas spermatozoa, sehingga dosis ditentukan berdasarkan penelitian yang relevan.

### **Pembuatan Larutan Uji**

Larutan Na-CMC 1% dibuat dengan cara menimbang 1 gram serbuk Na-CMC, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam 20 mL air hangat (20 kali berat Na-CMC). Larutan dibiarkan selama 15 menit hingga mengembang, kemudian digerus hingga homogen. Selanjutnya, larutan dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan aquadest hingga mencapai volume akhir 100 mL (Lestari *et al.*, 2023).

### **Hewan Uji dan Pemberian Perlakuan**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan berumur 3-4 bulan sebanyak 9 ekor dengan rata-rata berat badan  $33 \pm 4$  gram. Hewan uji diaklimatisasi selama 2 minggu sebelum diberikan perlakuan. Hewan uji dinyatakan dalam kondisi sehat apabila selama masa aklimatisasi tidak menunjukkan deviasi berat badan ( $>10\%$ ) dan secara visual tidak menunjukkan tanda-tanda adanya gangguan kesehatan (Syafira *et al.*, 2023). Hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan masing-masing terdiri atas 3 ekor mencit, yaitu kelompok kontrol (K) diberikan air RO, kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan ekstrak etanol daun durian dengan dosis 250 mg/KgBB selama 14 hari, dan kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan ekstrak etanol daun durian dengan dosis 500 mg/KgBB selama 14 hari. Jumlah hewan uji pada setiap kelompok ditentukan berdasarkan penelitian terdahulu yang menggunakan jumlah minimal hewan uji pada desain eksperimen serupa. Pemeriksaan pakan, kandang, dan kesehatan mencit dilakukan setiap hari selama penelitian berlangsung. Penimbangan berat badan mencit dilakukan setiap hari selama periode perlakuan 14 hari menggunakan timbangan digital, kemudian dihitung rata-rata berat badan tiap minggu. Pada hari ke-15 mencit dibedah dan diambil organ testisnya. Terminasi hewan uji dilakukan dengan dislokasi servikal. Cairan semen dikeluarkan dengan cara memijat testis menggunakan pinset lalu diencerkan dengan larutan fisiologis (Indriani *et al.*, 2021). Semua prosedur eksperimental telah dianalisis dan sebelumnya disetujui oleh Komite Etik RSUD Dr. Moewardi, Surakarta, Indonesia, dengan nomor persetujuan 1.321/VI/HREC/2025.

### **Pembuatan Suspensi Sperma Mencit**

Suspensi sperma mencit dibuat dengan cara mengambil bagian kauda epididimis, kemudian ditempatkan ke dalam cawan petri yang sebelumnya telah ditambahkan 1 mL larutan NaCl 0,9%. Selanjutnya, kauda epididimis dipijat secara perlahan agar spermatozoa keluar. Cairan spermatozoa yang diperoleh kemudian dihomogenkan dengan larutan NaCl 0,9% dengan perbandingan 1:10 melalui proses pipetkan berulang dan pengadukan hingga suspensi merata (Indriani *et al.*, 2021).

### **Pengamatan Motilitas Spermatozoa**

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menyiapkan preparat basah dari suspensi spermatozoa yang telah dibuat sebelumnya, kemudian diencerkan menggunakan larutan NaCl 0,9%. Selanjutnya, preparat basah tersebut diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x. Pada penelitian ini, motilitas spermatozoa dibagi menjadi 4 kategori berdasarkan ketentuan dari WHO (2010), yaitu kategori 3: spermatozoa bergerak maju lurus ke depan (A), kategori 2: spermatozoa bergerak maju berputar (B), kategori 1: spermatozoa bergerak di tempat atau hanya ekor yang bergerak (C), kategori 0: spermatozoa tidak bergerak (D). Menurut penelitian yang dilakukan Fatmawati *et al.*, (2016) perhitungan persentase motilitas spermatozoa normal yaitu:

$$\frac{A + B}{A + B + C + D} \times 100\%$$

### **Pengamatan Morfologi Spermatozoa**

Satu tetes suspensi sperma diteteskan pada kaca objek, kemudian dibuat sediaan oles dengan cara menggeserkan kaca objek lain di atasnya pada sudut  $45^\circ$  hanya sekali geser. Sediaan oles spermatozoa selanjutnya dikeringanginkan, difiksasi dengan metanol 96% selama 5 menit, kemudian

diwarnai dengan larutan giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan air mengalir. Preparat yang telah diwarnai kemudian dikeringanginkan pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x. Penilaian morfologi spermatozoa normal dan abnormal dapat diketahui dengan menghitung 100 spermatozoa menggunakan bantuan bilik hitung. Spermatozoa mencit normal terdiri atas bagian kepala (*caput*) yang bentuknya bengkok seperti kait, bagian tengah (*middle piece*) yang pendek, dan bagian ekor (*cauda*) yang sangat panjang (Fatmawati *et al.*, 2016). Menurut penelitian yang dilakukan Fatmawati *et al.*, (2016) perhitungan persentase morfologi spermatozoa yaitu:

$$\frac{A}{(A + B)} \times 100\%$$

Keterangan:

A: jumlah morfologi normal

B: jumlah morfologi abnormal

Struktur normal spermatozoa memiliki kepala berbentuk sabit atau kait, bagian tengah pendek, dan bagian ekor yang panjang. Setiap ketidaksesuaian bentuk dari struktur normal spermatozoa dianggap sebagai abnormalitas morfologi spermatozoa.

### Analisis Data

Analisis data diawali dengan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test*. Apabila data terdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen, maka dilakukan analisis statistik menggunakan One-Way Anova untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Jika Anova menunjukkan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji lanjut Post Hoc LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan nyata. Namun, jika Anova menunjukkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), maka uji lanjut yang digunakan adalah Post Hoc *Games-Howell*. Analisis perubahan berat badan mencit dilakukan secara terpisah menggunakan uji *One-Way Repeated Measures Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan rata-rata berat badan mencit antar perlakuan berdasarkan selama periode penelitian. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan program SPSS versi 16.0.

## HASIL

### Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap berat badan mencit

Rata-rata berat badan mencit antara kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2) disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rata-rata berat badan mencit selama 14 hari perlakuan (*Mean Body Weight of Mice During the 14-Day Treatment Period*).

Kelompok Perlakuan ( <i>Treatment Group</i> )	Rata-rata BB Mencit (gram) berdasarkan Waktu (Minggu)			Mean ± STD
	<i>(Mean Body Weight of Mice (g) by Week)</i>			
	0	1	2	
K	33.33	35.04	35.90	34.75 ± 1.31
P1	33.33	33.28	33.85	33.44 ± 0.32
P2	31.00	31.80	33.28	32 ± 1.11

Pada Tabel 1 diketahui bahwa terdapat perbedaan rata-rata berat badan mencit antara kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2). Rata-rata berat badan mencit pada kelompok kontrol cenderung meningkat selama periode perlakuan, sedangkan pada kelompok perlakuan (P1 dan P2) relatif lebih rendah. Uji One-way repeated measures Anova digunakan untuk mengetahui apakah rata-rata berat badan mencit berbeda antar perlakuan. Berdasarkan hasil uji Anova, tidak terdapat perbedaan berat badan mencit yang signifikan antar perlakuan ( $F = 1.310$ ;  $p = 0.321$ ).

## Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap morfologi spermatozoa mencit

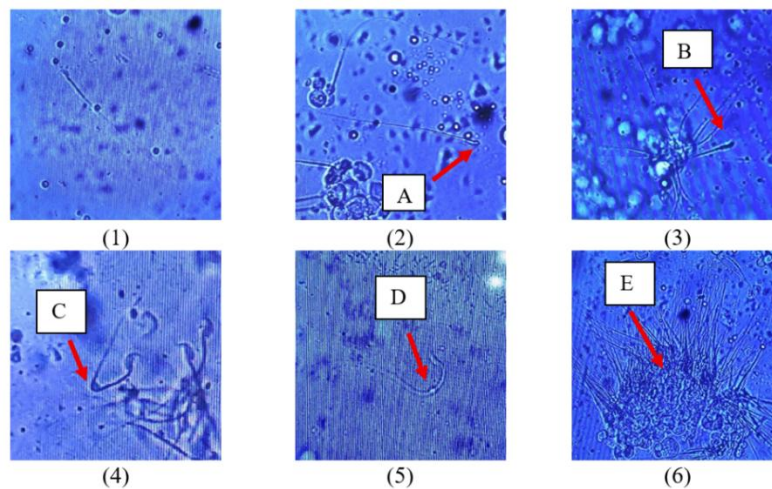
Berikut hasil penelitian efek pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap morfologi spermatozoa mencit. Rata-rata morfologi normal dan abnormal spermatozoa mencit antara kelompok K, P1, dan P2 yang diuji dengan Uji Anova dan Uji Post-Hoc LSD disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rata-rata morfologi spermatozoa mencit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan beserta hasil analisis statistiknya (*Mean Spermatozoa Morphology of Mice in Control and Treatment Groups with Statistical Analysis*).

Kelompok Perlakuan (Treatment Group)	Morfologi Normal Spermatozoa (%) (Normal Spermatozoa Morphology (%))	Morfologi Abnormal Spermatozoa (%) (Abnormal Spermatozoa Morphology (%))
K	81.33 ± 16.92 <sup>a</sup>	18.67 ± 16.92 <sup>a</sup>
P1	43.67 ± 10.50 <sup>b</sup>	63.00 ± 6.06 <sup>b</sup>
P2	16.00 ± 2.65 <sup>c</sup>	84.00 ± 2.65 <sup>c</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata berdasarkan Uji Post-Hoc LSD pada taraf 5% ( $P \leq 0,05$ ). (*Values followed by different letters indicate significant differences according to the LSD post-hoc test at the 5% significance level ( $P \leq 0.05$ ).*)

Pada Tabel 2 diketahui bahwa terdapat perbedaan rata-rata morfologi normal dan abnormal spermatozoa antara kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2). Perbedaan rata-rata morfologi normal dan abnormal spermatozoa antara kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2) tersebut secara statistik dapat diketahui setelah dilakukan uji Anova, kemudian dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD untuk mengetahui adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan. Hasil uji Anova menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada morfologi normal dan abnormal spermatozoa antara kelompok K, P1, dan P2, hal ini ditunjukkan dari nilai  $P < 0,05$ . Hasil analisis uji Post-Hoc LSD terhadap morfologi normal dan abnormal spermatozoa menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (berbeda nyata) antara kelompok K, P1, dan P2 ( $P < 0,05$ ). Morfologi normal dan abnormal spermatozoa kelompok P1 dan P2 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Berdasarkan hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa hipotesa pemberian ekstrak etanol daun durian berbagai dosis yang berbeda berpengaruh terhadap kualitas morfologi spermatozoa mencit diterima. Berikut gambar morfologi normal dan abnormal spermatozoa mencit disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Morfologi spermatozoa mencit, (1) sperma normal, (2-6) sperma tidak normal (bagian kepala mengecil (tanda panah A), bagian kepala membesar (tanda panah B), ekor patah (tanda panah C), butiran sitoplasmik distal (tanda panah D), aglutinasi sperma (tanda panah E)). (*Spermatozoa morphology in mice, (1) Normal sperm; (2-6) Abnormal sperm: (2) head shrinkage (arrow A), (3) head enlargement (arrow B), (4) tail breakage (arrow C), (5) distal cytoplasmic droplets (arrow D), (6) sperm agglutination (arrow E).*)

### Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap motilitas spermatozoa mencit

Pada pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap motilitas spermatozoa mencit. Rata-rata motilitas normal dan abnormal spermatozoa mencit antara kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2) yang diuji dengan uji Anova dan uji Post-Hoc *Games-Howell* disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rata-rata motilitas spermatozoa mencit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan beserta hasil analisis statistiknya (*Mean Spermatozoa Motility of Mice in Control and Treatment Groups with Statistical Analysis*).

Kelompok Perlakuan ( <i>Treatment Group</i> )	Motilitas Normal Spermatozoa (%) ( <i>Normal Spermatozoa Motility(%)</i> )	Motilitas Abnormal Spermatozoa (%) ( <i>Abnormal Spermatozoa Motility (%)</i> )
K	69.33 ± 9.29 <sup>a</sup>	30.67 ± 9.29 <sup>a</sup>
P1	13.33 ± 1.52 <sup>b</sup>	86.67 ± 1.52 <sup>b</sup>
P2	5.33 ± 1.52 <sup>c</sup>	94.67 ± 1.52 <sup>c</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata berdasarkan Uji Post-Hoc *Games-Howell* pada taraf 5% ( $P \leq 0,05$ ). (*Values followed by different letters indicate significant differences according to the Games-Howell post-hoc test at the 5% significance level ( $P \leq 0.05$ ).*)

Pada Tabel 3 diketahui bahwa terdapat perbedaan motilitas normal spermatozoa antara kelompok K, P1, dan P2. Perbedaan rata-rata motilitas normal spermatozoa antara kelompok K, P1, dan P2 tersebut secara statistik dapat diketahui setelah dilakukan uji Anova, kemudian dilanjutkan dengan uji Post-Hoc *Games-Howell* yang sesuai untuk data dengan varians tidak homogen. Uji Post-Hoc *Games-Howell* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan. Hasil uji Anova menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada motilitas normal dan abnormal spermatozoa antara kelompok K, P1, dan P2, hal ini ditunjukkan dari nilai  $P < 0,05$ . Hasil analisis uji Post-Hoc *Games-Howell* terhadap motilitas normal dan abnormal spermatozoa menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (berbeda nyata) antara kelompok K, P1, dan P2 ( $P < 0,05$ ). Motilitas normal dan abnormal spermatozoa kelompok P1 dan P2 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Berdasarkan hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa hipotesa pemberian ekstrak etanol daun durian berbagai dosis yang berbeda berpengaruh terhadap kualitas motilitas spermatozoa mencit diterima.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap berat badan mencit

Penimbangan berat badan mencit dilakukan setiap hari selama periode perlakuan 14 hari menggunakan timbangan digital, kemudian dihitung rata-rata berat badan tiap minggu. Pengukuran berat badan dilakukan sebelum induksi, kemudian pada hari pertama setelah induksi. Selanjutnya, pengukuran berat badan tetap dilakukan selama 14 hari masa perlakuan. Pengukuran berat badan mencit dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap perubahan berat badan mencit selama periode perlakuan (Harlita *et al.*, 2025).

Peningkatan berat badan ditemukan pada seluruh kelompok perlakuan, namun peningkatan tersebut tidak signifikan ( $F=1.683$ ;  $p=0.263$ ). Kelompok K dan P2 menunjukkan rata-rata kenaikan berat badan yang terus meningkat, sedangkan pada kelompok P1 meskipun terjadi kenaikan berat badan, nilainya tidak sebesar kelompok K dan P2. Pemberian ekstrak etanol daun durian secara oral tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan berat badan mencit selama 14 hari pengamatan. Terjadinya penurunan berat badan dalam satu hari yang tidak mencapai 5% menunjukkan adanya pengaruh perilaku pada hewan uji yang merupakan hal umum akibat perlakuan. Perubahan berat badan digunakan sebagai indikator status kesehatan umum hewan (Koriem *et al.*, 2019). Stabilitas berat badan menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan tidak menimbulkan efek toksik yang dapat memengaruhi kondisi fisiologis, termasuk fungsi reproduksi.

Indikator awal adanya efek toksik dari bahan uji adalah terjadinya perubahan berat badan yang nyata pada hewan uji. Pada uji toksisitas, pemberian dosis tinggi pada hewan uji umumnya mengalami penurunan berat badan yang disebabkan oleh menurunnya nafsu makan (Sireeratawong *et al.*, 2010). Berdasarkan hasil penelitian, tidak terjadi penurunan berat badan baik pada kelompok kontrol maupun pada kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun durian hingga dosis yang digunakan dalam penelitian ini tidak menimbulkan efek toksik yang nyata terhadap hewan uji, khususnya yang berkaitan dengan gangguan nafsu makan dan metabolisme.

### **Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap morfologi spermatozoa mencit**

Pengamatan morfologi spermatozoa bertujuan untuk melihat apakah terdapat spermatozoa yang mengalami kerusakan bentuk akibat pemberian ekstrak etanol daun durian. Struktur normal spermatozoa memiliki kepala berbentuk sabit atau kait, bagian tengah pendek, dan bagian ekor yang panjang. Setiap ketidaksesuaian bentuk dari struktur normal spermatozoa dianggap sebagai abnormalitas morfologi spermatozoa. Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun durian meningkatkan persentase morfologi abnormal spermatozoa. Dosis yang lebih tinggi (P2) memberikan efek yang lebih besar terhadap ketidaksesuaian struktur spermatozoa dibandingkan dosis yang lebih rendah (P1).

Penurunan persentase morfologi normal spermatozoa pada kelompok perlakuan berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder daun durian seperti tanin, flavonoid, dan steroid. Senyawa flavonoid dapat menghambat kerja enzim aromatasase, yaitu enzim yang berperan dalam mengubah androgen menjadi estrogen. Ketika pembentukan estrogen terhambat, hipofisis akan menerima sinyal umpan balik negatif sehingga sekresi LH menurun. Penurunan LH akan berdampak terhadap berkurangnya produksi testosteron. Rendahnya kadar testosteron dapat mengganggu proses spermiogenesis di epididimis. Ketidaktimalan pematangan spermatozoa ini menyebabkan spermatozoa yang dilepaskan belum sepenuhnya matang, sehingga pembentukan spermatozoa abnormal semakin meningkat (As'ari & Kurnia, 2019). Senyawa tanin memiliki kemampuan berikatan dengan protein serta ion pada membran spermatozoa. Ikatan tersebut dapat mengganggu proses fosforilasi pada membran, sehingga memicu terjadinya kelainan morfologi spermatozoa (Indriyani *et al.*, 2021). Penurunan morfologi normal spermatozoa akibat senyawa aktif steroid berkaitan dengan terganggunya sekresi FSH. Jika produksi FSH menurun, maka ketahanan sel spermatogonium akan ikut terpengaruh. Hal tersebut menyebabkan proses spermatogenesis dapat terhenti (Susilawati *et al.*, 2022).

Sistem Hipotalamus-Hipofisis-Gonad merupakan sistem vital yang berperan dalam regulasi hormonal reproduksi, yang terdiri atas hipotalamus yang melepaskan hormon pelepas gonadotropin (GnRH), kelenjar hipofisis yang mensekresikan LH dan FSH, serta gonad. Pada pria, GnRH merangsang hipofisis untuk melepaskan LH dan FSH, di mana LH bekerja pada sel Leydig untuk merangsang produksi testosteron dan INSL3, sedangkan FSH bekerja pada sel sertoli untuk mendukung spermatogenesis. Sel sertoli juga mensekresikan inhibin yang mengatur kadar FSH melalui mekanisme umpan balik, serta hormon anti-Müllerian (AMH), sedangkan testosteron berperan penting dalam spermatogenesis dan perkembangan karakteristik seksual sekunder. Ketidakseimbangan hormon dalam sistem ini dapat menyebabkan gangguan kesuburan (Li *et al.*, 2024).

Peningkatan abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer terjadi akibat adanya kegagalan spermatogenesis di tubuli seminiferous yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan kondisi lingkungan yang tidak baik, termasuk gangguan hormonal. Pada penelitian ini, kondisi tersebut berkaitan dengan pemberian ekstrak daun durian yang berpotensi mengganggu keseimbangan hormon reproduksi, khususnya penurunan testosteron. Bentuk abnormalitas primer termasuk kepala spermatozoa yang besar (makrosefalus) atau kecil (mikrosefalus), kepala yang pendek, lebar, atau ekor ganda. Sedangkan abnormalitas sekunder terjadi akibat adanya penyimpangan atau kriopreservasi pada spermatozoa. Bentuk abnormalitas ini termasuk ekor yang melipat, adanya butiran sitoplasmik proksimal atau

distal, lepasnya selubung akrosom dari kepala tanpa ekor, serta ekor yang terputus (Garner & Hafez, 2000).

Pada penelitian ini, bentuk kelainan morfologi spermatozoa yang dapat diamati adalah abnormalitas primer meliputi bagian kepala mengecil (mikrosefalus) dan bagian kepala membesar (makrosefalus), serta abnormalitas sekunder meliputi bagian ekor patah dan butiran sitoplasmik distal. Abnormalitas primer disebabkan oleh penurunan kadar testosteron akibat dari senyawa flavonoid yang terkandung pada daun durian. Penurunan kadar testosteron dapat menghambat pembentukan protein  $\alpha$ -tubulin. Protein tersebut merupakan komponen utama mikrotubulus dan mikrofilamen yang diperlukan dalam spermatogenesis untuk membantu proses pemindahan sitoplasma ke bagian ekor spermatozoa (Harlis *et al.*, 2025). Abnormalitas sekunder disebabkan oleh adanya gangguan aktivitas enzim ATP-ase akibat senyawa alkaloid yang ada pada membran sel spermatozoa bagian tengah ekor (Harlis *et al.*, 2025). Produksi ATP mitokondria yang rendah berdampak pada peningkatan kerusakan struktur *middle piece* dan menyebabkan ekor putus (Ulfa & Amaris, 2022).

Berdasarkan hasil pengamatan ditemukan juga adanya aglutinasi spermatozoa pada kelompok perlakuan (P1 dan P2). Bentuk aglutinasi spermatozoa yang paling banyak diamati adalah sel-sel spermatozoa saling menempel satu sama lain pada bagian kepala dengan kepala. Kondisi tersebut diduga disebabkan oleh senyawa tanin yang terkandung dalam daun durian. Senyawa tanin dapat menghambat proses transportasi spermatozoa dengan cara menggumpalkannya sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Kondisi tersebut akan menghambat pergerakan spermatozoa mencapai sel telur dan menghambat terjadinya pembuahan (Sundari & Winarno, 1997).

### **Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun durian terhadap motilitas spermatozoa mencit**

Pengamatan motilitas spermatozoa bertujuan untuk melihat motilitas spermatozoa berdasarkan tipe pergerakan. Pada penelitian ini, motilitas spermatozoa dibagi menjadi 4 kategori berdasarkan ketentuan dari WHO (2010), yaitu kategori 0: spermatozoa tidak bergerak, kategori 1: spermatozoa bergerak di tempat atau hanya ekor yang bergerak, kategori 2: spermatozoa bergerak maju berputar, kategori 3: spermatozoa bergerak maju lurus ke depan. Kategori 0 dan kategori 1 merupakan motilitas abnormal, sedangkan kategori 2 dan kategori 3 merupakan motilitas normal.

Tabel 3 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun durian meningkatkan persentase motilitas abnormal spermatozoa. Dosis yang lebih tinggi (P2) memberikan efek yang lebih besar terhadap motilitas abnormal spermatozoa dibandingkan dosis yang lebih rendah (P1). Penurunan persentase motilitas normal spermatozoa pada kelompok perlakuan berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder daun durian seperti saponin, tanin, dan alkaloid. Menurut Azhar *et al.*, (2022), tumbuhan dengan kandungan senyawa saponin dapat menghambat katabolisme substrat untuk mensintesis ATP. Sintesis ATP yang terhambat menyebabkan gangguan pada maturasi spermatozoa sehingga motilitas menurun (Fitriana, 2024). Selain itu, motilitas spermatozoa sangat bergantung pada ketersediaan energi yang dihasilkan oleh mitokondria yang terletak pada bagian tengah ekor (*middle piece*). Kerusakan struktur mitokondria pada bagian ini dapat menyebabkan penurunan potensi membran mitokondria dan pemanfaatan ATP yang tidak efisien, yang pada akhirnya menyebabkan penurunan motilitas bahkan kematian spermatozoa (Mai *et al.*, 2024).

Bagian ekor merupakan pusat pergerakan spermatozoa karena di dalamnya terdapat struktur aksonema. Aksonema tersusun atas dua mikrotubulus di bagian tengah yang dikelilingi oleh sembilan pasang mikrotubulus perifer. Masing-masing mikrotubulus perifer terdiri dari subfibril A dan B yang mengandung protein dinein sebagai penyusunnya. Senyawa tanin dapat merusak protein dinein dan menyebabkan gangguan pada mekanisme pembebasan energi untuk motilitas spermatozoa (Nurlely *et al.*, 2022). Gangguan pada struktur mitokondria serta kerusakan komponen aksonema tersebut menyebabkan penurunan efisiensi penggunaan ATP, yang berdampak pada menurunnya motilitas normal spermatozoa pada kelompok perlakuan.

Senyawa alkaloid memiliki sifat toksik terhadap sel, terutama sel yang membutuhkan energi tinggi seperti spermatozoa. Spermatozoa membutuhkan suplai energi besar yang diperoleh melalui proses respirasi supaya dapat bergerak. Namun, keberadaan alkaloid dapat mengganggu

keseimbangan osmotik pada mitokondria, sehingga memicu kerusakan pada bagian ekor. Kondisi tersebut pada akhirnya akan menurunkan motilitas normal spermatozoa (Harlis *et al.*, 2025).

## KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) pada dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB selama 14 hari tidak memengaruhi berat badan mencit (*Mus musculus* L.), namun secara signifikan menurunkan kualitas spermatozoa yang ditandai dengan penurunan morfologi dan motilitas normal, dengan efek lebih besar pada dosis 500 mg/kgBB. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun durian berpotensi sebagai agen antifertilitas. Penelitian ini memiliki keterbatasan pada belum dilakukannya karakterisasi dan pengujian lebih lanjut terhadap ekstrak yang digunakan, serta masih terbatasnya referensi ilmiah terkait pengaruh ekstrak etanol daun durian terhadap kualitas spermatozoa.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada UPT Laboratorium Pusat UNS dan Laboratorium Ekofisiologi FKIP UNS atas fasilitas dan bantuan teknis yang diberikan selama penelitian berlangsung.

## KONTRIBUSI PENULIS

DAM: membuat ide, gagasan, dan konsep penelitian, mengumpulkan data penelitian, melakukan investigasi dan analisis hasil, membuat draft artikel, serta merevisi naskah akhir; H: memberikan bimbingan penelitian, mengoreksi dan mengevaluasi hasil penelitian, menelaah serta memberikan masukan dalam penyusunan dan perbaikan naskah artikel.

## REFERENSI

- Aruan, D. G. R., Barus, T., Haro, G., & Simanjuntak, P. 2024. Characterization and Antidiabetic Potential of Durian Leaf (*Durio zibethinus* Linn.) Ethyl Acetate Extract. *Chimica et Natura Acta*, 12(2), pp.85-90.
- As'ari, H., & Kurnia, T. I. D. 2019. Pengaruh Paparan Tepung Mocaf Terfermentasi terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* L.). *Bioma: Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*, 4(2), pp.101-110.
- Azhar, R., Romdhoni, M. F., Karita, D., & Bahar, Y. 2022. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Peningkatan Kadar Insulin Tikus Putih Model Diabetes Melitus Tipe 2 setelah Induksi STZ-NA. *Muhammadiyah Journal of Geriatric*, 3(2), pp.46-55
- Fatmawati, D., Isradji, I., Yusuf, I., & Suparmi. 2016. Kualitas Spermatozoa Mencit Balb/C Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Buah Kepel (*Stelechocarpus burahol*). *MKB*, 48(3), pp.155-159.
- Harlis, W. O., Septiana, A., Ramdani, A., & Resman. 2025. Efek Antifertilitas Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) dalam Upaya Pengendalian Hama Tikus. *BioWallacea*, 12(1), pp.69–79.
- Indriyani, I., Busman, H., & Sutyarso, S. 2021. Penurunan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1), pp.75–85.
- Kasmeri, R., & Putri, A. 2020. Pengaruh ekstrak pedada merah (*Sonneratia caeolaris* L.) terhadap jumlah dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 6(1), pp.7-13.
- Koriem, K. M. M., Arbid, M. S., & El-Attar, M. A. 2019. Acute and subacute toxicity of Ammi visnaga on rats. *Interdisciplinary Toxicology*, 12(1), pp.26–35 .
- Lestari, I., Pratiwi, P. D., & Tiara, N. 2023. Aktivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) pada mencit yang diinduksi parasetamol. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3), pp.1170-1177.

- Li, L., Lin, W., Wang, Z., Huang, R., Xia, H., Li, Z., Deng, J., Ye, T., Huang, Y., & Yang, Y. (2024). Hormone Regulation in Testicular Development and Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), p.5805.
- Mai, Z., Yang, D., Wang, D., Zhang, J., Zhou, Q., Han, B., Sun, Z. (2024). A narrative review of mitochondrial dysfunction and male infertility. *Transl Androl Urol*, 13(9), pp.2134-2145.
- Nurlely, N., Aslama, A. I., Cahaya, N., & Srikartika, V. M. (2022). Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakan Banyu (*Croton argyratus* Blume) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa sebagai Antifertilitas. *Jurnal Pharmascience*, 9(1), pp.29-36.
- Nurliani, A., & Santoso, H. B. 2010. Efek Spermatisida Ekstrak Kulit Kayu Durian (*Durio Zibethinus* Murr) Terhadap Motilitas dan Kecepatan Gerak Spermatozoa Manusia Secara In Vitro. *Jurnal Berkala Ilmiah Sains dan Terapan Kimia*, 4(1), pp.72-79.
- Rusmiati, R. 2009. Uji efek antifertilitas ekstrak metanol kulit kayu durian (*Durio zibethinus* Murr) pada kehamilan awal mencit (*Mus musculus* L). *BIOSCIENTIAE*, 6(2), pp.26-36.
- Setyorini, N. A., Louisa, V. M., Lestari, N.C., Humaida, N., Rusmiati (2012). Pengaruh Ekstrak Biji Durian (*Durio zibethinus* Murr) Terhadap Peningkatan Gairah Seksual Mencit (*Mus musculus* L) Jantan. *BIOSCIENTIAE*, 9(2), 56-61.
- Sireeratawong, S., Piyabhan, P., Singhalak, T., Wongkrajang, Y., Temsiririrkkul, R., Punsrirat, J., Ruangwises, N., Saraya, S., Lerdvuthisophon, N., & Jaijoy, K. 2010. Toxicity evaluation of sappan wood extract in rats. *J Med Assoc Thai*, 93(7), pp.S50-S57.
- Sonia, R., Yusnelti, Y., & Fitriyaningsih, F. 2020. Efektivitas ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* (Linn.)) sebagai antihiperurisemia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 10(2), pp.130-139.
- Sundari, D., & Winarno, W. 1997. *Informasi Tanaman Obat Untuk Kontrasepsi Tradisional*. Penerbit Cermin Dunia Kedokteran.
- Susilawati, P., Satriyasa, B. K., & Widiyanti, I. G. A. 2022. Pemberian Ekstrak Etanol Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) Menurunkan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Dewasa Muda. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 9(2), p.318.
- Syafira, R., Mambang, D. E. P., Dalimunthe, G. I., & Nasution, H. M. 2023. Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio Zibethinus* L.) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Gizi (JIG)*, 1(3), pp.211-227.
- Ulfa, S. R., & Amaris, B. N. S. 2022. Pengaruh Pemberian Rebusan Batang Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) dengan Paparan Asap Rokok terhadap Morfometri Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Nusantara Hasana Journal*, 1(9), pp.65-69.
- WHO. 2010. *WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen (5th ed.)*. WHO.
- Zakri, D. F., Hasanah, H., Salsabilla, V., Ahda, Y., & Atifah, Y. 2023. Pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap spermatogenesis *Mus musculus*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 10(10), pp.2973-2977.