UNIVERSITAS GUNADARMA

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FARMASI

PENELITIAN ILMIAH

EFEK ANTIFERTILITAS SENYAWA FLAVONOID TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR *SPRAGUE DAWLEY*

NAMA : **SASKIA NUR HIKMAH**

NPM : **20721055**

JURUSAN : **FARMASI**

PEMBIMBING : **HOTLINA NAINGGOLAN, S.Si., M.Biomed.**

Diajukan Guna Melengkapi Sebagian Syarat Dalam Mencapai Gelar Setara Sarjana Muda

JAKARTA

2024

PERNYATAAN ORIGINALITAS DAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama	:	Saskia Nur Hikmah
NPM	:	20721055
Program Studi	:	Farmasi
Fakultas	:	Ilmu Kesehatan dan Farmasi
Judul Karya Ilmiah	:	Efek Antifertilitas Senyawa Flavonoid Terhadap Tikus Putih Jantan Galur *Sprague Dawley*
Tanggal Sidang	:	23 Agustus 2024
Tanggal Lulus	:	23 Agustus 2024

Dengan ini menyatakan bahwa hasil Karya Tulis Ilmiah yang telah saya buat ini merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya. Apabila ternyata dikemudian hari Karya Tulis Ilmiah merupakan hasil plagiat atau penjiplakan terhadap karya orang lain, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sekaligus bersedia menerima sanksi berdasarkan aturan tata tertib di Universitas Gunadarma. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Jakarta, 30 Oktober 2024



(Saskia Nur Hikmah)

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Karya Ilmiah	:	Efek Antifertilitas Senyawa Flavonoid Terhadap Tikus Putih Jantan Galur *Sprague Dawley*
Nama	:	Saskia Nur Hikmah
NPM	:	20721055
Tanggal Sidang	:	23 Agustus 2024
Tanggal Lulus	:	23 Agustus 2024

Menyetujui

Pembimbing	Kasubag. Sidang PI
Hotlina Nainggolan, S.Si., M.Biomed	**apt. Dina Melia Oktavilantika, M. SC**

Ketua Program Studi Farmasi

Prof. Dr. apt. Sugeng Riyanto, M.S.

Saskia Nur Hikmah. 20721055

EFEK ANTIFERTILITAS SENYAWA FLAVONOID TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR *SPRAGUE DAWLEY*

Penulisan Ilmiah Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi, Universitas Gunadarma, 2024

ABSTRAK

Indonesia, sebagai negara dengan populasi terbesar keempat di dunia, mengalami peningkatan jumlah penduduk yang signifikan, mencapai 278,6 juta jiwa pada tahun 2023. Peningkatan ini mempengaruhi berbagai sektor, termasuk lapangan kerja, kesehatan, dan perumahan, sehingga pemerintah berupaya menggalakkan program Keluarga Berencana (KB). Namun, partisipasi pria dalam program ini masih rendah, hanya 5,5%, akibat keterbatasan pilihan kontrasepsi yang aman dan nyaman bagi pria. Kontrasepsi ideal bagi pria harus efektif mencegah kesuburan, aman, serta tidak mempengaruhi potensi seks dan libido. Salah satu solusi yang diteliti adalah senyawa antifertilitas yang berasal dari tumbuhan, seperti flavonoid, yang berpotensi menghambat proses spermatogenesis. Berbagai tanaman herbal telah digunakan sebagai kontrasepsi alami di Indonesia, dengan mekanisme yang mempengaruhi sistem hormonal dan fungsi sperma. Berdasarkan hal ini, penelitian tentang "Efek antifertilitas senyawa flavonoid pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*" dilakukan, dengan harapan dapat menjadi referensi dalam pengembangan kontrasepsi yang aman dan nyaman.

Kata Kunci: Antifertilitas, senyawa flavonoid, tikus

(xv + 50 + 3 lampiran)

Daftar pustaka (2000-2023)

Saskia Nur Hikmah.20721055

ANTIFERTILITY EFFECTS OF FLAVONOID COMPOUNDS ON MALE SPRAGUE DAWLEY WHITE RATS

Scientific Writing of Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences and Pharmacy, Gunadarma University, 2024

ABSTRACT

Indonesia, as the fourth most populous country in the world, is experiencing a significant increase in population, reaching 278.6 million by 2023. This increase affects various sectors, including employment, health, and housing, so the government is trying to promote the family planning program. However, men's participation in the program is still low, at only 5.5%, due to limited contraceptive options that are safe and convenient for men. The ideal contraceptive for men should effectively prevent fertility, be safe, and not affect sexual potency and libido. One solution being investigated is plant-derived antifertility compounds, such as flavonoids, which have the potential to inhibit the spermatogenesis process. Various herbal plants have been used as natural contraceptives in Indonesia, with mechanisms that affect the hormonal system and sperm function. Based on this, research on "Antifertility effects of flavonoid compounds in Sprague Dawley male white rats" was conducted, with the hope of becoming a reference in the development of safe and convenient contraception.

***Keywords**: Antifertility, flavonoid compound, rat*

(xv + 50 + 3 attachment)

References (2000-2023)

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini dengan judul "**EFEK ANTIFERTILITAS SENYAWA FLAVONOID TERHADAP TIKUS JANTAN GALUR *SPRAGUE DAWLEY***". Penulisan ini diajukan guna melengkapi sebagian syarat dalam mencapai gelar sarjana strata satu (S1) jurusan Farmasi Fakultas Ilmu kesehatan dan Farmasi di Universitas Gunadarma.

Dengan segala keterbatasan, penulis sepenuhnya menyadari bahwa dalam penulisan karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan atau masih jauh dari kata sempurna, baik dalam pembahasan maupun tata bahasa. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis berharap agar para pembaca dapat memberikan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan penulisan ini. Dalam menyelesaikan penulisan ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, sumbangan pikiran, serta saran dari berbagai pihak, baik berupa bimbingan, pengarahan, maupun dorongan yang telah diberikan kepada penulis. Maka, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. E.S. Margianti, S.E., M.M, selaku Rektor Universitas Gunadarma
2. Prof. Arini Setiawati, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma
3. Prof. Dr. apt. Sugeng Riyanto, M.S., selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Gunadarma.
4. Dr. Edi Sukirman, S.Si, MM., M.IKom, selaku Kepala Sidang Ujian Universitas Gunadarma.
5. Apt. Dina Melia Oktavilantika, M.Sc. selaku Kepala Sub Bagian Sidang PI Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma.

6. Ibu Hotlina Nainggolan, S.Si., M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing yang telah dengan sabar membimbing, mengarahkan, memberi semangat, serta meluangkan waktunya untuk membimbing peneliti dalam proses penyusunan karya tulis ilmiah ini.
7. Bapak/Ibu Dosen maupun Staff Universitas Gunadarma yang telah turut membantu baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga karya tulis ilmiah ini dapat selesai.
8. Kedua orangtua saya, Bapak Saleh dan Ibu Hususiyah yang selalu memberi kasih sayang, nasihat, doa serta atas kesabarannya yang luar biasa dalam setiap langkah hidup peneliti.
9. Kakak saya Ahmad Sya`ban Firdaus S.SI dan adik saya Sarah Althafunnisa yang selalu memberikan doa, dukungan dan pengertian selama proses penulisan baik moril maupun materil.
10. Teman-teman mahasiswa program studi S1 Farmasi angkatan V Universitas Gunadarma khususnya kelas HB02 yang telah memberikan dukungan, bantuan serta doa sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.
11. Teman-teman saya Ayu, Elinda, Fathah, Resti, dan Citra yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama proses penulisan karya tulis ilmiah ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberi bantuan dan dukungan hingga dapat terselesaikannya penulisan karta tulis ilmiah ini.

Tanpa peran serta semua pihak di atas, penulisan karya tulis ilmiah ini tidak akan pernah terwujud, semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia kepada mereka semua Akhir kata, perkenankan penulis untuk mengucapkan maaf yang sebesar-besarnya apabila dalam penelitian ini terdapat kesalahan maupun kekurangan. Semoga penelitian ini dapat memberi manfaat bagi semua pihak yang bersangkutan, khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Jakarta, 13 Agustus 2024

Penulis

(Saskia Nur Hikmah)

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORIGINALITAS DAN PUBLIKASI ii
LEMBAR PENGESAHAN iii
ABSTRAK iv
ABSTRACT v
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
DAFTAR ISTILAH xv
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
1.5 Batasan Penelitian 3
BAB I I TINJAUAN PUSTAKA 4
2.1 Data Pustaka 4
2.2 Landasan Teoritik 4
2.2.1 Fertilitas 4
2.2.2 Antifertilitas 5
2.2.3 Senyawa Flavonoid 6
2.2.3.1 Klasifikasi Flavonoid **6**
2.2.4 Spermatozoa 8
2.2.4.1 Bagian – Bagian Spermatozoa **9**
2.2.5 Spermatogenesis 10
2.2.6 Faktor Yang Mempengaruhi Spermatogenesis 11
2.2.7 Agen Antifertilitas 13
2.2.8 Hewan Coba Tikus 15

2.2.8.1 Klasifikasi Hewan Uji **15**
2.2.8.2 Karakteristik Tikus *Sprague-Dawley* **16**
2.2.9 Anatomi Reproduksi Tikus Jantan 16
2.3 Kerangka Pemikiran 19
2.3.1 Kerangka Teori 19
2.3.2 Kerangka Konsep 20
2.4 Hipotesis 20
BAB III METODE PENELITIAN 20
3.1 Objek Penilitian 20
3.2 Jenis Penelitian 20
3.3 Alat dan Bahan 20
3.3.1 Alat 20
3.3.2 Bahan 20
3.4 Hewan Uji 20
3.5 Variabel Penelitian 21
3.5.1 Variabel Bebas 21
3.5.2 Variabel Terikat 21
3.6 Prosedur Penelitian 21
3.6.1 Penentuan Jumlah Sampel 21
3.6.2 Dosis Flavonoid 22
3.6.3 Pengelompokan Hewan Uji 22
3.7 Prosedur Penelitian 23
3.7.1 Penyiapan Senyawa Flavonoid 23
3.8 Pengujian Antifertilitas 23
3.8.1 Pengujian Bobot Testis 24
3.8.2 Pengambilan Spermatozoa 24
3.8.3 Penyiapan Suspensi Spermatozoa 24
3.8.4 Pengamatan dan Penilaian Motilitas Spermatozoa 24
3.8.5 Perhitungan Jumlah Spermatozoa 25
3.9 Penanganan Hewan Coba setelah Penelitian 25
3.10 Analisis Data 25

3.11 Waktu dan Tempat Penelitian 26
3.11.1 Waktu Penelitian 26
3.11.2 Tempat Penelitian 26
DAFTAR PUSTAKA 27

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Pembagian kelompok perlakuan 23

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Bagian – bagian spermatozoa..... 9
Gambar 2. 2 Tahapan pembentukan spermatogenesis 11
Gambar 2. 3 Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague Dawley 15
Gambar 2. 4 Anatomi Reproduksi Tikus Jantan 18
Gambar 2. 5 Kerangka Teori..... 19
Gambar 2. 6 Kerangka Konsep 20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian 33
Lampiran 2. Waktu Perencanaan Penelitian 34
Lampiran 3. Rancangan Anggaran Biaya 34

DAFTAR ISTILAH

KB : Keluarga Berencana

BPS : Badan Pusat Statistik

MOB : Metode Ovulasi Biling

MSB : Metode Suhu Basal

MAL : Metode Amenore Laktasi

AKRD : Alat Kontrasepsi Dalam Rahim

IUD : *Intra Uterine Device*

MOW : Metode Operasi Wanita

MOP : Metode Operasi Pria

DMPA : *Depo Medroxyprogesterone Acetate*

VEGF : *Vascular endotheliat growth factor*

HSD : *Hydroxysteroid dehydrogenase*

T : Testosteron

LH : *Luteinzing Hormone*

FSH : *Stimulating Hormone*

Na CMC : *Natrium Carboxymethyl Cellulose*

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan data penduduk terbanyak di dunia, indonesia berada di urutan keempat, hal ini terlihat berdasarkan sensus penduduk pada tahun 2022 terdapat 275.773,8 jiwa (BPS, 2022). Jumlah ini meningkat pada tahun 2023 yaitu terdapat 278.696,2 jiwa (BPS, 2023). Peningkatan jumlah penduduk tersebut tidak hanya berdampak pada kesejahteraan masyarakat di sektor pertanian namun juga akses mereka terhadap lapangan kerja, layanan kesehatan, pendidikan dan perumahan, sehingga pemerintah tertarik untuk menggalakkan program keluarga berencana (KB) untuk membantu masyarakat mengatur jarak kelahiran melalui berbagai bentuk kontrasepsi yang disediakan pemerintah baik untuk pria maupun wanita (Komang et al., 2017).

Upaya program keluarga berencana yang diselenggarakan pemerintah belum berjalan sebagaimana mestinya karena partisipasi laki-laki masih lebih rendah dibandingkan perempuan, karena kurangnya pilihan kontrasepsi yang nyaman dan aman bagi pria, dimana hanya 5,5% pria Indonesia yang ikut serta dalam keluarga berencana (Askrening et al., 2017). Jika dibandingkan jumlah metode kontrasepsi wanita lebih banyak dibandingkan dengan pria, sehingga penggunakan alat kontrasepsi masih dominan dilakukan oleh perempuan (Kementrian Kesehatan, 2014).

Pada dasarnya alat kontrasepsi yang sempurna harus memenuhi persyaratan sebagai berikut: dapat diandalkan, tidak mempunyai risiko kesehatan, kekuatan fungsinya dapat disesuaikan, tidak mengganggu hubungan intim, mudah digunakan dan harga yang terjangkau sehingga dapat diakses oleh masyarakat umum. (Ratu dkk, 2018). Sementara itu, metode kontrasepsi pria yang sempurna harus mampu mencegah terjadinya fertilitas, aman, mempunyai kinerja cepat, tanpa efek samping, dan tidak mempengaruhi potensi seks dan libido, sehingga perlu dilakukan identifikasi alat kontrasepsi pria yang aman digunakan dalam jangka waktu lama (Lolok et al., 2020).

Antifertilitas merupakan istilah yang digunakan untuk senyawa atau bahan yang dapat mengganggu sistem reproduksi atau menghambat terjadinya pembuahan (Oktavia, 2020). Beberapa pilihan metode kontrasepsi yang tersedia dan yang biasa digunakan dikelompokkan menjadi dua cara yaitu 1). Cara Tradisional meliputi: Senggama Terputus, Pantang Berkala atau Sistem Kalender, Metode *Ovulasi Billing* (MOB), Metode Suhu Basal (MSB) dan 2). Cara Modern meliputi Non Hormonal (MAL, Kondom, Diafragma, Alat Kontrasepsi Dalam Rahim (AKRD) *Intra Uterine Device* (IUD), Hormonal (Pil, Suntikan, Implan) dan Sterilisasi (Metode Operasi Wanita (MOW) dan Metode Operasi Pria (MOP) (Fitriani et al., 2019).

Di Indonesia, penggunaan pengobatan herbal sebagai obat tradisional telah berkembang selama beberapa dekade terakhir (Febrianti et al., 2015). Banyak Banyak jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal yang memiliki efek kontrasepsi, seperti buah pare hijau, daun papaya, daun ekor naga, biji mimba, (Wadun, 2019; Dewanti et al., 2020; Oktavia et al., 2020; Usman et al., 2022. Tanaman-tanaman tersebut sebagian besar terdapat kandungan flavonoid. Kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid yang diduga dapat menyebabkan lemahnya fungsi sperma. Senyawa antifertilitas pada ekstrak tumbuhan bekerja melalui efek hormonal, efek sitotoksik, dan sitostatik yang menghambat laju metabolisme sel spermatozoa dengan cara mengganggu keseimbangan sistem hormonal (Avycena dkk., 2020). Kandungan flavonoid pada tumbuhan memiliki efek estrogenik yang dapat memengaruhi sistem hormonal, efek ini berpotensi menyebabkan gangguan pada proses ovulasi dan fertilitas. (Safe et al., 2021)

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa tumbuhan yang memiliki senyawa flavonoid memiliki efek antifertilitas, antaralain ekstrak biji saga, teh hitam, daun papaya serta lidah buaya (Delfita, 2014; Lolok, 2017; Dewanti, 2020; Vera, 2022). Selain itu, ekstrak *Arbutus pavarii* (*A. Pavarii)* yang mengandung flavonoid, antosiadin dan proantosianidin, diberikan setiap hari dengan dosis 250 dan 500 mg/kg bb dapat menyebabkan penekanan spermatogenesis pada tikus albino Swiss Jantan (Rabia, 2020).

Hal inilah yang mendasari peneliti untuk melakukan pengujian mengenai "Efek antifertilitas senyawa flavonoid pada tikus putih jantan galur *Sprague*

Dawley". Maka penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi peneliti selanjutnya dalam mengembangkan kontrasepsi yang aman dan nyaman.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada pengaruh pemberian senyawa flavonoid terhadap efek antifertilitas pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley?*
2. Berapa dosis optimal senyawa flavonoid terhadap efek antifertilitas pada tikus putih Jantan galur *Sprague Dawley?*

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk membuktikan pengaruh pemberian senyawa flavonoid terhadap efek antifertilitas pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*
2. Menentukan dosis optimal senyawa flavonoid terhadap efek antifertilitas pada tikus putih Jantan galur *Sprague Dawley*

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

   Penelitian ini dapat digunakan sebagai bukti ilmiah efek antifertilitas senyawa flavonoid pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley.*
2. Manfaat Praktis

   Penelitian ini dapat memberi informasi kepada Masyarakat tentang efek antifertilitas senyawa flavonoid pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dan meningkatkan pemanfaatan senyawa flavonoid atau tumbuhan yang mengandung senyawa flavonoid sebagai alternatif zat kontrasepsi yang bersifat alami.

1.5 Batasan Penelitian

Peneliti hanya menentukan pengaruh senyawa flavonoid dengan parameter penelitian menimbang bobot testis serta mengamati motilitas spermatozoa dan jumlah spermatozoa.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Data Pustaka

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak Kulit Batang Mangrove (*Avicennia Marina)* mempunyai potensi aktivitas sebagai antifertilitas pada tikus Jantan yang dibuktikan dengan penurunan bobot epidedimis, jumlah sparmotozoa, motilitas dan viabilitas tikus (Lolok et al., 2020).

Sedangkan hasil penelitian lainnya, dimana kesimpulan dari penelitian tersebut adalah pemberian ekstrak daun pepaya selama 20 hari pada tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dapat menurunkan jumlah spermatozoa dan viabilitas spermatozoa serta dapat menurunkan bobot testis dan vesika seminalis. Ekstrak daun pepaya yang paling baik dalam menurunkan jumlah spermatozoa, viabilitas spermatozoa, bobot testis, dan vesikula seminalis adalah ekstrak etanol dengan dosis 150 mg/kgBB (Dewanti et al., 2020).

Dan dari penelitian lainnya, dilaporkan bahwa fertilitas tikus jantan mengalami penurunan setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba sampai dosis 100 mg/kgBB selama 14 hari (Janika et al., 2023).

2.2 Landasan Teoritik

2.2.1 Fertilitas

Fertilitas didefinisikan sebagai peristiwa melahirkan anak lahir hidup dari seorang perempuan. Istilah ini sama dengan kelahiran hidup, yaitu terlepasnya bayi dari rahim seorang perempuan dengan ada tanda-tanda kehidupan eperti bernafas, berteriak atau menangis, terdapat denyut jantung, dan gerakan otot terlepas dari berapa lama di dalam kandungan (Suartha, 2016).

Teori Ronald Freedman dalam *The Sociology of Human Fertility* (1975) dijelaskan bahwa fertilitas dipengaruhi oleh faktor langsung dan tidak langsung, yang termasuk dalam faktor tak langsung yaitu: 1). Demografi: umur dan tempat

tinggal. 2). Sosial ekonomi: tingkat pendidikan, status pekerjaan, jenis pekerjaan, dan kuintil kekayaan. 3). Kematian : kematian anak (dibawah 5 tahun). 4). Norma: jumlah anak yang diinginkan, jenis kelamin yang diinginkan, keinginan suami terhadap jumlah anak, dan pendapat suami terhadap Keluarga Berencana. 5). Lingkungan (program): akses terhadap media dan jenis media, kontak terhadap petugas KB/kesehatan, dan keputusna untuk ber-KB. Sedangkan Faktor langsung yang mempengaruhi fertilitas dikelompokkan menjadi tiga yaitu: 1). Faktor yang mempengaruhi kemungkinan hubungan kelamin *(intercouise variables)*: Umur kawin pertama, umur hubungan seksual pertama, dan status perkawinan. 2). Faktor yang mempengaruhi kemungkinan terjadinya konsepsi (*conception variables*): alat kontrasepsi, ASI ekslusif, segera haid setelah melahirkan, segera melakukan hubungan seksual setelah melahirkan, dan infertilitas. 3). Faktor yang mempengaruhi kehamilan dan kelahiran (*gestasion variables*): umur pertama melahirkan (Yustika & Wibowo, 2023).

Selain pendidikan, umur ibu merupakan faktor yang berpengaruh pada fertilitas. Semakin tua umur ibu, maka fertilitas atau jumlah anak yang dilahirkan akan semakin tinggi. Teori ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya bahwa jumlah anak yang dilahirkan meningkat seiring dengan bertambahnya umur ibu. Umur wanita lebih tua memiliki kecenderungan fertilitas yang lebih besar. Fertilitas juga dipengaruhi oleh umur kawin pertama. Wanita dengan umur kawin pertama lebih muda cenderung memiliki fertilitas yang lebih tinggi (Yustika & Wibowo, 2023).

Status pekerjaan mempengaruhi jumlah anak yang dilahirkan, baik perempuan, baik mereka bekerja atau tidak. Wanita yang bekerja umumnya memiliki tingkat fertilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan wanita yang tidak bekerja (Rahman & Syakir, 2018).

2.2.2 Antifertilitas

Antifertilitas merupakan istilah yang digunakan untuk senyawa atau bahan yang dapat mengganggu sistem reproduksi. Hal ini dilakukan dengan menghambat proses pra-ovulasi atau pra-implantasi embrio (Dabhadkhar et al., 2015).

Salah satu sumber senyawa antifertilitas adalah senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Senyawa aktif dalam tumbuhan secara alami memiliki sifat estrogenik yang ringan serta sifat anti-estrogenik yang cukup kuat sehingga berpeluang digunakan sebagai bahan pengatur fertilitas, (Joshi et al., 2011). Ekstrak tanaman obat mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai antifertilitas dengan efek antiovulasi dan atau antiimplantasi sehingga dapat digunakan sebagai bahan kontrasepsi herbal (Bala et al., 2014).

2.2.3 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok polifenol yang diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia dan biosintesisnya (Alfaridz, 2018) Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang terdapat di alam, yang terdiri dari 15 atom karbon dan dua cincin benzena (C6) yang melekat pada rantai propana (C3), membentuk konfigurasi C6-C3-C6. Sebagian besar senyawa flavonoid alami berbentuk glikosida, dimana bagian flavonida terikat pada gula. Glikosida adalah kombinasi gula dan alkohol yang dihubungkan melalui ikatan glikosidik, (Lenny, 2006). Flavonoid diklasifikasikan menjadi flavon, flavanon, flavonol, flavanol atau bisa disebut katekin, kalkon, dan antosianin. Pengklasifikasian gugus flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur khususnya substitusi karbon pada gugus aromatik pusat sehingga memberikan hasil aktivitas farmakologi yang bervariasi (Alfaridz, 2018).

2.2.3.1 Klasifikasi Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok polifenol dan diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia serta biosintesisnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Dimana dua cincin benzena (C6) terikat oleh rantai propana (C3)(Noer, 2018).

1. **Flavon**

   Flavon merupakan senyawa flavonoid yang banyak ditemukan dalam bentuk glukosida pada daun, buah, dan bunga. Contoh senyawa flavon adalah: Apigenin, Luteolin, Luteolin-7- Glukosida, Acatechin, Baicalin Struktur flavon

itu sendiri terdiri atas ikatan rangkap antara posisi 2' dan 3' serta mempunyai keton pada posisi 4. Kebanyakan flavon memiliki gugus hidroksil pada posisi 5. Tanaman yang kaya akan flavon antara lain seledri, kamomil, daun mint, dan ginkgo biloba (Brodowska, 2017).

2. **Flavonol**

Flavonol merupakan senyawa flavonoid dengan gugus keton. Senyawa flavonol antara lain yaitu kuersetin, mirisetin, fisetin, galangin, morin, rutin, dan robinetin. Perbedaan antara flavonol dan flavon terletak pada gugusnya pada posisi 3 pada cincin C, yang memungkinkan terjadinya glikosilasi.. Aktivitas farmakologi yang dimiliki flavonol adalah antioksidan. Gugus aromatik pada cincin B adalah gugus, dan ikatan rangkap terkonjugasi 2' dan 3' bertanggung jawab atas aktivitas flavonol karena kemampuannya mentransfer elektron dari cincin B ke radikal bebas. Tanaman yang tinggi flavonol antara lain: tomat, apel, anggur, bawang bombay, beri, dan lain sebagainya (Panche, 2016).

3. **Flavanol**

Flavanol atau disebut juga katekin, merupakan derivat dari flavanone dengan penambahan gugus hidroksi. Perbedaan yang mencolok yaitu tidak adanya ikatan rangkap pada posisi 2 dan 3 serta gugus hidroksi yang selalu menempel di posisi 3 pada cincin C (Panche, 2016). Flavanol banyak ditemukan pada tumbuhan seperti teh, kiwi, apel, kokoa, dan anggur merah. Mengkonsumsi flavanol sebanyak 176-185 mg terbukti menstimulasi kadar nitrit oksida pada darah perokok dengan mekanisme meningkatkan dilatasi pembuluh darah. Senyawa flavanol diantaranya adalah katekin, epikatekin, dan galokatekin yang dapat dibagi lagi menjadi turunan yang lebih kompleks (Brodowska, 2017).

4. **Flavanon**

Flavanon merupakan senyawa yang tidak berwarna yang tidak dapat dideteksi pada pemeriksaan kromatografi kecuali jika menggunakan penyemprot kromogen. Flavanon dan kalkon adalah dua jenis flavonoid yang isomerik dan jenis yang satu dapat diubah menjadi jenis yang lain. Flavanon biasanya lebih mudah terbentuk dalam suasana asam sedangkan kalkon lebih mudah terbentuk dalam suasana basa. Naringenin dan pinocembrin merupakan sejenis flavanon

yang tersebar pada tanaman dan bioaktivitasnya dapat mengurangi aritmia jantung, anti bakteri dan anti jamur (Nicolas Valette dkk, 2017).

5. **Antosianidin**

   Merupakan pigmen yang bertanggung jawab terhadap warna pada tumbuhan. Antosianidin ini banyak ditemukan pada kokoa, sereal, kacang-kacangan, madu, teh dan beri-berian (Panche, 2016). Antosianidin yang umum ditemukan adalah aglikon dengan struktur dasarnya flavylium. Senyawa yang paling banyak ditemukan adalah cyanidin, pelargonidin, delphinidin, malvidin, petunidin, dan peonidin (Brodowska, 2017). Akvitas farmakologi antosianidin berperan penting pada penyakit kardiovaskular dengan mekanisme menekan ekspresi pada *vascular endotheliat growth factor* (VEGF) (Panche, 2016).

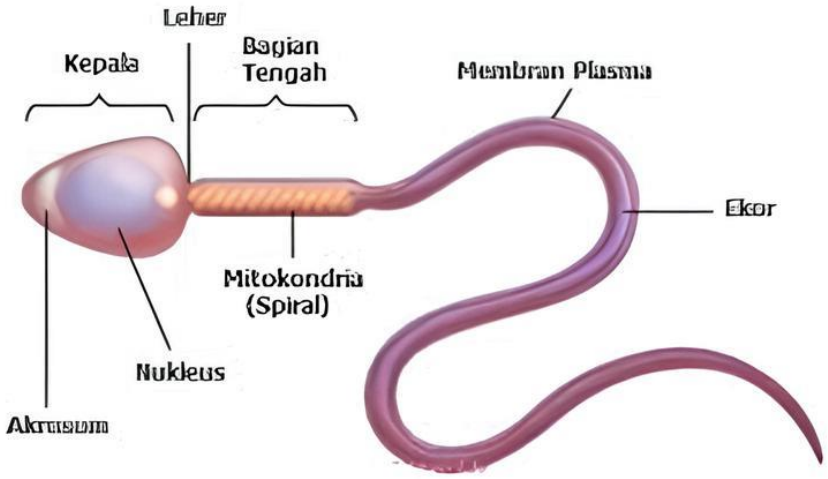
6. **Kalkon**

   Merupakan flavonoid yang unik karena dibedakan dengan tidak adanya cincin aromatik Cyang merupakan basis rangka dari flavonoid itu sendiri. Senyawa kalkon diantaranya adalah phloridzin, arbutin, phloretin, dan chlarconaringenin (Panche, 2016). Aktivitas farmakologi yang telah diteliti Hatti et al. (2009) menunjukan potensi sebagai steroid-genesis modulator pada enzim 3β-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD), dan 17β-HSD. Umumnya kalkon ditemukan pada tumbuhan seperti tomat, stroberi, pir, beri-berian dan gandum (Panche, 2016).

2.2.4 Spermatozoa

Spermatozoa merupakan hasil spermatogenesis yang berisi informasi genetik. Awalnya pada tubulus seminiferus terdapat spermatogonium yang berubah menjadi spermatosit, kemudian melalui proses meiosis spermatosit berubah menjadi spermatid, lalu spermatid melewati proses differensiasi sehingga menjadi spermatozoa (Dorland, 2013).

2.2.4.1 Bagian – Bagian Spermatozoa



Gambar 2. 1 Bagian – bagian spermatozoa

(Guyton & Hall, 2014)

1. **Kepala**

   Terdiri dari nukleus didalamnya membawa materi dan informasi genetik yang akan diwariskan. Pada daerah kepala terdapat juga akrosom yang berisi akrosin, hyaluronidase dan bebrapa enzim proteolitik yang berperan dalam proses fertilisasi yakni untuk menembus sel ovum (Sherrwood, 2015). Hyaluronidase berperan dalam mencerna filamen proteoglikan pada jaringan sedangkan enzim proteolitik berperan dalam mencerna protein (Guyton dan Hall, 2014).

2. **Bagian Tengah**

   Pada bagian ini terdapat mitokondria yang berperan dalam menghasilkan energi atau ATP, berfungsi dalam kelangsungan hidup serta alat gerak spermatozoa yang bekerja sama dengan ekor dalam pergerakannya (Wibisono, 2010).

3. **Ekor**

   Berperan penting dalam motilitas sperma yang dipengaruhi oleh ATP hasil produksi dari mitokondria (Sherwood, 2015). Ekor disusun oleh 3 komponen utama yakni : (1) kerangka utama yang dibentuk oleh 11

mikrotubulus dan disebut sebagai aksonema (2) membrane sel yang tipis dan menutupi aksonema (3) beberapa mitokondria yang berkumpul dan mengelilingi dari aksonema. Gerakan yang dihasilkan secara normal adalah 1 – 4 mm/menit didalam medium fluida (Guyton & Hall, 2014).

2.2.5 Spermatogenesis

Proses spermatogenesis pada tikus terjadi di dalam tubulus seminiferus dan dibutuhkan 12 hari untuk menyelesaikan satu tahapan proses spermatogenesis. Spermatogonium tikus membutuhkan empat tahapan proses sampai akhirnya membentuk spermatozoa, dan diperlukan 48 hari untuk menyelesaikan seluruh tahap spermatogenesis (Krinke, 2000).

Menurut Akbar (2010) spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di dalam tubulus seminiferus testis. Spermatogenesis dibagi menjadi 3 fase yaitu:

1. **Spermatositogenesis**

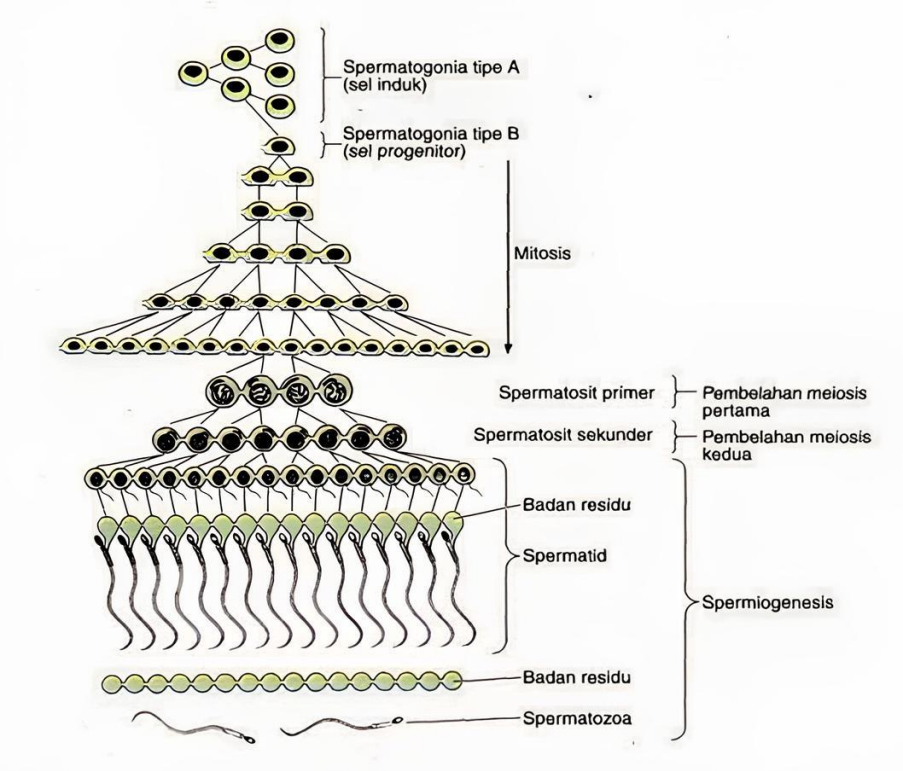
   Di dalam tubulus seminiferus terdapat sel-sel spermatogonium (jamak: spermatogonia) yang selama hidupnya aktif membelah secara mitosis. Spermatogonia dibagi dalam dua populasi, yaitu spermatogonia tipe A dan tipe B. Spermatogonia tipe A ada yang tergolong sel gelap (*dark cell*) yang tidak aktif membelah dan bersifat stem sel (sel-sel persediaan dalam waktu panjang). Sel pucat (*pale cell*) merupakan jenis spermatogonium A yang aktif membelah dan berasal dari sel gelap. Spermatogonium tipe B berasal dari tipe A yang membelah dan meningggalkan kemampuannya untuk membelah secara mitosis, untuk kemudian menyelesaikan proses spermatogenesis.

2. **Meiosis**

   Pada fase meiosis ini terjadi pembelahan sekunder dari spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder dan diikuti dengan terjadinya reduksi jumlah kromosom. Selama pembelahan meiosis I, setiap spermatosit primer membelah menjadi 2 sel yang disebut spermatosit sekunder. Masing-masing spermatosit sekunder, selanjutnya akan melakukan pembelahan meiosis II yang akan menghasilkan 4 spermatid.

3. Spermiogenesis

Pada fase spermiogenesis ini akan terjadi perubahan morfologi dari spermatid menjadi spermatozoa.



Gambar 2. 2 Tahapan pembentukan spermatogenesis

(Junqueira et al., 2007).

2.2.6 Faktor Yang Mempengaruhi Spermatogenesis

Berdasarkan Guyton & Hall (2014) terdapat beberapa hormon yang dapat merangsang spermatogenesis diantaranya:

1. Testosteron

Testosteron (T) adalah androgen dalam testis yang diperlukan untuk memulai dan mempertahankan spermatogenesis, dan produksi sperma matang sangat bergantung pada aksi androgen dalam testis. Oleh karena itu, dalam skenario tidak adanya T, atau reseptornya, spermatogenesis tidak berlanjut melampaui tahap meiosis dan mengakibatkan infertilitas pria. Pada pria, sel Leydig

bertanggung jawab untuk memproduksi T setelah dirangsang oleh hormon luteinisasi (LH), hormon glikoprotein yang disekresikan dari kelenjar pituitari sebagai respons terhadap pelepasan hormon pelepas gonadotropin (GnRH) yang berdenyut dari hipotalamus

2. ***Luteinizing Hormone*** **(LH)**

   Karena organ targetnya adalah sel interstisial testis, LH sering disebut sebagai hormon perangsang sel interstisial (ICSH). Peningkatan aktivitas adenil siklase dan kadar AMP siklik dirangsang oleh kehadiran -LH setelah hormon ini berikatan dengan reseptor di dinding sel Leydig. Di bawah pengaruh LH, sel Leydig mensintesis testosteron. Testosteron dan FSH bekerja secara sinergis untuk mendorong konversi spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder, yang memasuki meiosis untuk menghasilkan spermatid, diikuti dengan proses spermatogenesis. Oleh karena itu, spermatogenesis dikendalikan oleh interaksi hormon testosteron, FSH, dan LH. Setiap gangguan pada interaksi hormon testosteron, FSH , dan LH mengganggu proses spermatogenesis. Gangguan pada proses spermatogenik merupakan salah satu dari penyebab infertilitas.

3. ***Stimulating Hormone*** **(FSH)**

   Folicle Stimulating Hormone (FSH) memegang peranan penting di dalam mengatur fungsi testis. Terhadap sel sertoli, adenilsiklase dirangsang hormon gonadotropin ini sehingga sintesis siklik AMP (cAMP) dari ATP meningkat. Selanjutnya cAMP merangsang protein kinase dan proses fosforilasi protein pengikat androgen (ABP).

4. **Estrogen**

   Dibentuk oleh sel-sel sertoli ketika sedang di stimulasi oleh FSH. Hormon ini kemungkinan diperlukan pada proses spermiasi. Sel-sel sertolijuga mengsekresikan suatu protein pengikat androgen. Yang mengikatbaik testosteron dan estrogen maupun keduanya ke dalam cairan tubulusseminiferus, yang di perlukan untuk maturasi sperma.

5. ***Growth Hormone***
   Berperan untuk mengatur fungsi metabolik dari testis, selain itu juga berperan dalam pembelahan awal spermatogonia.Bila hormon ini kadarnya berkurang bisa mencetuskan suatu keadaan yang disebut infertil.

2.2.7 Agen Antifertilitas

Agen antifertilitas adalah obat yang mengontrol kesuburan dan disebut juga kontrasepsi oral. Obat ini mempengaruhi dan berpartisipasi dalam siklus menstruasi dan ovulasi wanita. Sebagai kontrasepsi oral, obat ini diberikan sebagai kombinasi estrogen dan progesteron. Agen antifertilitas dianggap efektif pada wanita jika mencegah pembuahan, mencegah ovulasi dan implantasi, menghancurkan sel telur yang telah dibuahi, atau menyebabkan aborsi. Pada pria, zat ini mengganggu spermatogenesis, menghambat testosteron, mempengaruhi organ gonadotropin dan kematian sperma.

Agen antifertilitas dapat dihasilkan dari berbagai sumber, salah satunya adalah bahan alam yang tersedia (Sundar Rajan et al, 2012). Tumbuhan obat telah banyak diteliti untuk aktivitas antifertilitasnya, dan pentingnya tumbuhan sebagai sumber agen antifertilitas telah ditekankan oleh banyak peneliti. Agen antifertilitas yang berasal dari tanaman obat asli akan sangat bermanfaat, terutama bagi masyarakat di negara berkembang, karena biayanya yang lebih terjangkau. Tumbuhan yang memiliki aktivitas estrogenik dapat berperan sebagai agen antifertilitas dengan memengaruhi aksi kelenjar pituitari melalui modulasi perifer hormon FSH dan LH. Hal ini dapat menurunkan sekresi hormon-hormon tersebut dan menghambat ovulasi. Selain itu, tumbuhan tersebut mungkin juga dapat mencegah perkembangan ovum dan endometrium, serta memiliki efek penghambatan terhadap spermatogenesis pada pria. Agen antifertilitas dari tumbuhan diharapkan dapat memenuhi kriteria sebagai metode kontrasepsi yang ideal.

Berdasarkan (Ratu dkk, 2018) persyaratan suatu alat kontrasepsi sebagai berikut:

1. Aman digunakan dan terpercaya.
2. Tidak ada efek samping yang berbahaya.

3. Cara kerjanya dapat diatur sesuai keinginan
4. Tidak ikut campur dalam hubungan seksual.
5. Tidak memerlukan perhatian medis atau pengawasan ketat selama penggunaan
6. Mudah digunakan
7. harganya murah sehinggadapat dijangkau oleh masyarakat luas.
8. Dapat diterima oleh pasangan.

Metode kontrasepsi secara garis besar dibagi menjadi 2 bagian, yaitu metode sederhana dan metode modern (Hartanto 2010).

1. Metode kontrasepsi sederhana.

   Terdiri dari metode kontrasepsi tanpa alat (KB alamiah) dan mekanik. Metode kontrasepsi tanpa alat, pada wanita terdiri dari: metode kalender, metode suhu badan basal, metode lendir serviks, metode simpto-termal. Metode kontrasepsi tanpa alat pada pria adalah coitus interruptus. Metode kontrasepsi dengan alat terdiri dari mekanis (barier) serta kimiawi. Metode mekanis pada wanita diantaranya: diafragma, kap serviks, spons, dan kondom wanita, sedangkan pada pria metode mekanisnya dengan memakai kondom. Untuk metode kimiawi pada wanita dengan menggunakan spermisid (vaginal cream, vaginal foam, vaginal jelly, vaginal suppositoria, vaginal tablet, vaginal solube film). (Ratu dkk, 2018)

2. Metode kontrasepsi modern.

   Metode kontrasepsi modern terdiri dari: kontrasepsi hormonal, Intra Uterine Devices (IUD, AKDR) hanya untuk wanita, dan kontrasepsi mantap. Kontrasepsi hormonal hanya digunakan pada wanita, terdiri dari: Per-oral yaitu pil oral, mini pil, morning after pill. injeksi yaitu DMPA, NET-EN, Microspheres. Untuk implant dibagi menjadi 2 golongan yaitu: implant non-biodegradable (Norplant, Norplant, ST-1435, Implanon) & implant biodegrable (capronor, pellets). Kontrasepsi mantap pada wanita terdiri dari: penyinaran (radiasi sinar-X, radium, cobalt dan lain-lain), operatif (tubektomi), penyumbatan tuba faloppi dan vas deferens secara mekanik. Pada pria terdiri dari operatif (vasektomi) dan penyumbatan vas deferens (Ratu dkk, 2018).

2.2.8 Hewan Coba Tikus

Hewan coba merupakan hewan yang dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba. Tikus sering digunakan sebagai hewan coba selama bertahun-tahun. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik dan fisiologi yang hampir sama dengan manusia. Tikus perkembangbiakannya cepat dan memiliki jumlah keturunan yang banyak (Dju, 2020).

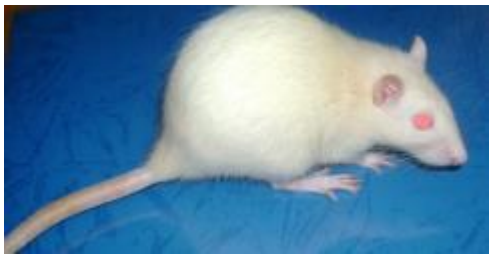
Karakteristik morfologi dari tikus putih antara lain memiliki hidung tumpul seberat 150- 600 gram dan tubuh besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan batang bawah ekor dan telinganya relatif kecil, tidak lebih besar dari 20–23 mm (Masala, 2020).

Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian. Galur-galur tersebut, yaitu : Wistar, Srague-Dawley, Long Evans, dan Holdzaman. Dalam penelitian ini digunakannya galur Sprague-Dawley dengan ciri-ciri tikus berwarna putih, ekor lebar Panjang daripada badannya, berkepala kecil, (Sage, 2015).

2.2.8.1 Klasifikasi Hewan Uji

Klasifikasi Taksonomi, Menurut (Aisyah, 2023)

Kingdom : Animal
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : Rattus norvegicus



Gambar 2. 3 Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague Dawley (Akbar, 2010)

2.2.8.2 Karakteristik Tikus *Sprague-Dawley*

Sprague Dawley adalah salah satu jenis tikus yang digunakan untuk penelitian. Tikus Sprague Dawley dipilih karena memiliki sifat yang tenang dan mudah penanganannya dibandingkan dengan tikus jenis yang lain. (Fauzi Mohd, 2009). Jumlah rata-rata anak 6-12 ekor dengan berat anak 5-6 gram saat lahir. Berat tikus ini adalah 250-3300 gram (betina), 450-520 gram (jantan). Rentang hidup 2,5-3,5 tahun. Laju pernapasan : 70-115 nafas/menit, denyut jantung : 250-450 denyut/menit, gigi seriopen-rooted dan tumbuh terus-menerus, (Sage, 2015).

2.2.9 Anatomi Reproduksi Tikus Jantan

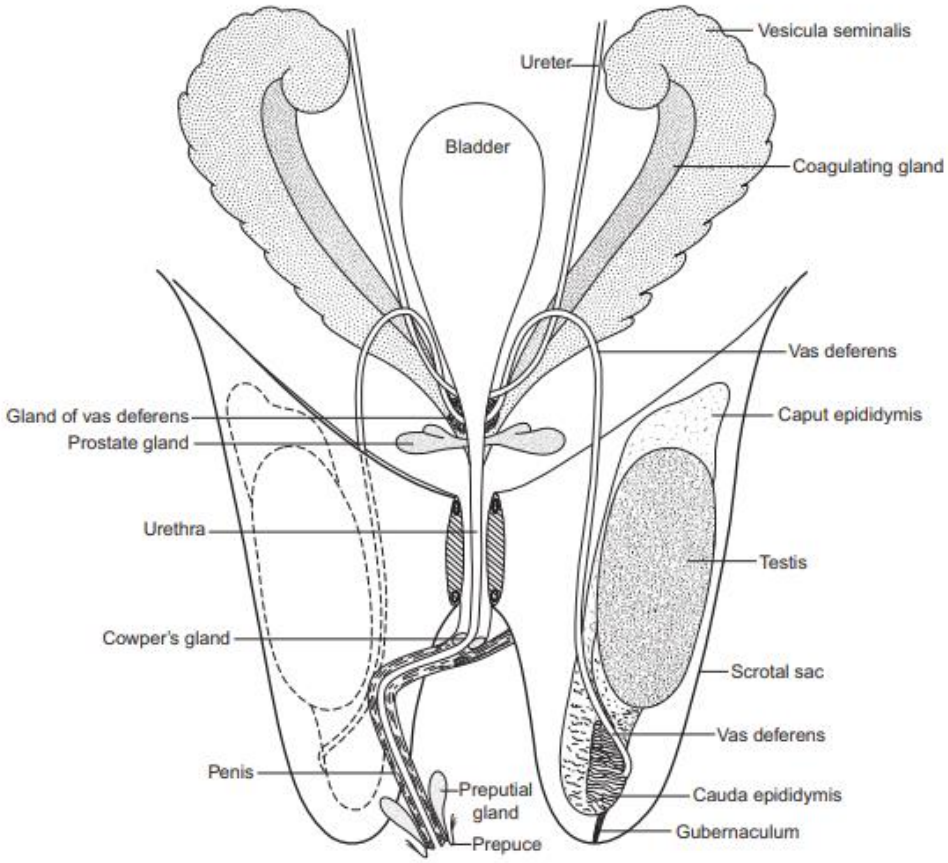
Pada tikus dewasa scrotum mudah terlihat ventrolateral ke anus. Kulit scrotum tipis dan ditutupi dengan rambut halus. Kanal inguinal tetap terbuka sepanjang hidup dan memiliki diameter 8–12 mm, yang memungkinkan testis memiliki posisi scrotal atau inguinal. Testis turun antara 30–40 hari (Malley, 2005).

Testis tikus berbentuk ovoid yang memiliki panjang sekitar 20 mm dan 14 mm diameter, dengan lapisan terluar yang padat, collagenous serta berwarna biru keputihan dengan tebal sekitar 20-40 μm yaitu tunica albuginea. Lapisan visceral dari tunica vaginalis (bagian dari processus vaginalis yang membungkus sekitar testis berhubungan dengan tunica albuginea tapi tidak sepenuhnya membungkus testis. Pada aspek dorsal, terdapat jaringan batang penghubung yang dinamakan mesorchium yang mengandung pembuluh darah dan ductus efferent mengarah dari tubulus seminiferous ke epididimis. Dibawah tunica albuginea terdapat lapisan vaskular yang dinamakan tunica vascularis. Epididimis ialah sepasang struktur tubular panjang yang melekat ke permukaan dorsal testis. Terdapat satu epididymis per testis. Masing-masing terbagi menjadi kepala (caput), badan (corpus) dan ekor (cauda). Kelenjar aksesori menyediakan sebagian besar kandungan cairan ejakulasi. Pada tikus, cairan koagulasi dan membentuk konektor persetubuhan yang menyegel saluran reproduksi betina setelah kawin. Kelenjar aksesorius tikus Jantan terdiri dari vesica seminalis, kelenjar prostat, kelenjar *bulbourethral* atau *cowper*, kelenjar urethral dan kelenjar preputial dari penis (Maynard & Downes, 2019).

Kelenjar preputial berada di lemak subkutaneus dekat penis dan terbuka ke *prepuce*. Kelenjar ini ialah kelenjar sebaseous yang mengsekresikan feromon yang

digunakan sebagai penanda bau khas (O'Malley, 2005). Penis tikus memiliki ukuran sekitar 7,5 mm panjang dengan diameter 1 mm. didalam penis terdapat satu atau dua tulang os. penis atau baculum (Maynard & Downes, 2019).

Testis memiliki 2 fungsi utama yaitu spermatogenesis dan produksi hormon. Diantara tubulus seminiferous terdapat interstitial sel yang berfungsi untuk menghasilkan sex hormon jantan atau disebut androgen. Androgen akan menghasilkan testosteron. Testosteron bertanggung jawab untuk pembentukan karakteristik sekunder jantan, libido dan juga memiliki efek anabolik umum (protein-building) pada tubuh, yang menghasilkan peningkatan perkembangan otot dan tulang (Colville & Bassert, 2016). Hormon yang memiliki peran dalam regulasi dari fungsi reproduksi ialah *follicle stimulating hormon*, *luteinizing* hormon dan testosteron (Karaduman et al. 2019). Testosteron mempengaruhi perkembangan jantan, pendewasaan atau maturasi dan penuaan. Dampak testosteron pada ginjal ialah dapat mengecilkan massa ginjal dan glomerulus jumlahnya akan menurun tetapi ukurannya akan membesar (Shortliffe & Cimino, 2014).



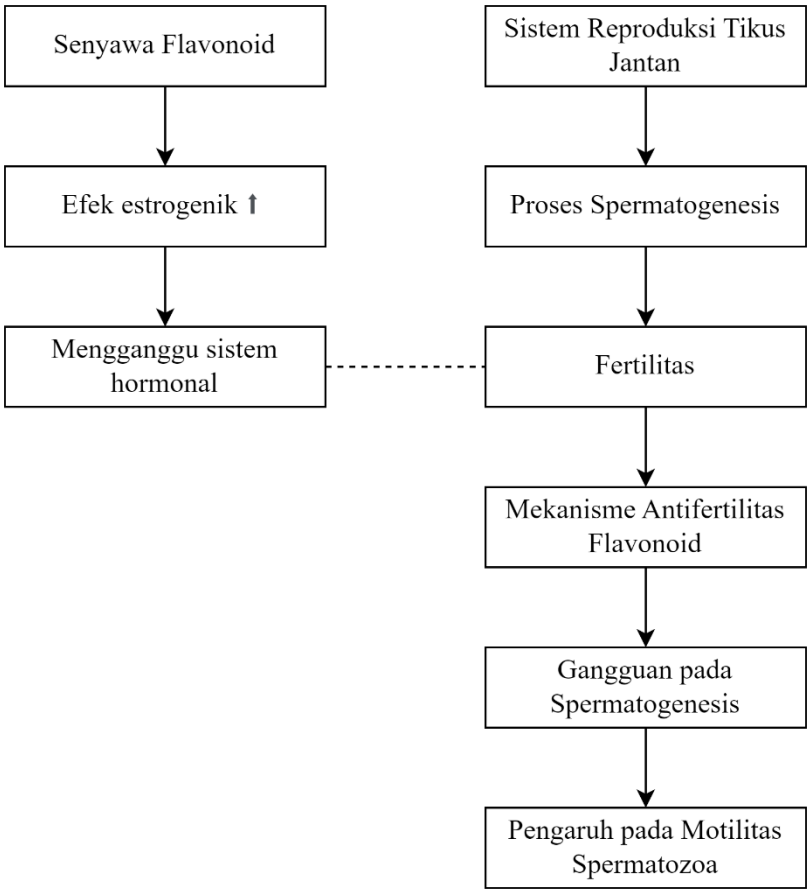
Gambar 2. 4 Anatomi Reproduksi Tikus Jantan

(Maynard R.L & Dawnes, 2019)

2.3 Kerangka Pemikiran

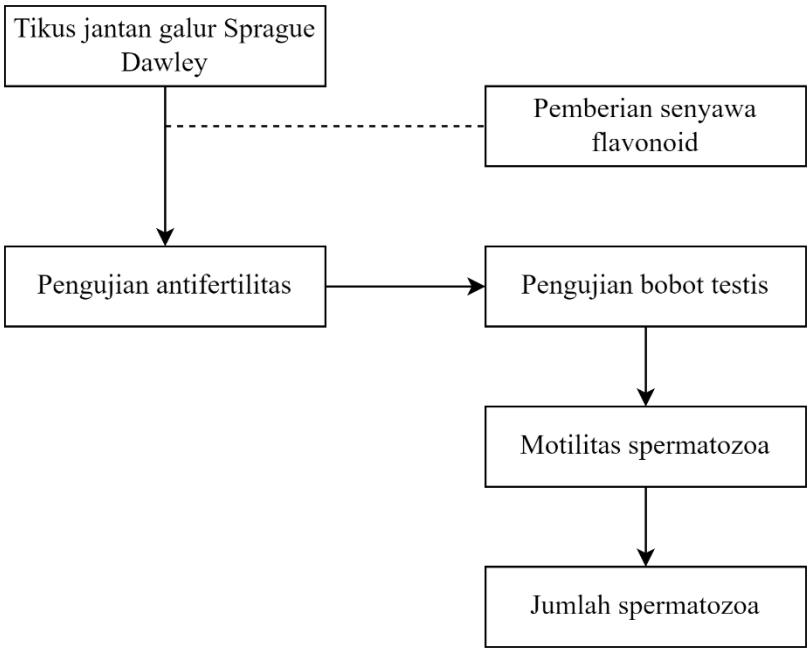
2.3.1 Kerangka Teori

Kandungan flavonoid pada tumbuhan memiliki efek estragonik yang dapat mempengaruhi system hormonal, efek ini berpotensi menyebabkan gangguan pada proses ovulasi dan fertilitas.



Gambar 2. 5 Kerangka Teori

2.3.2 Kerangka Konsep



Gambar 2. 6 Kerangka Konsep

2.4 Hipotesis

Berdasarkan kajian pustaka yang telah dilakukan, maka dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut :

H_0 : Tidak ada efek antifertilitas pada senyawa flavonoid terhadap tikus jantan galur *Sprague Dawley*

H_1 : Ada efek antifertilitas pada senyawa flavonoid terhadap tikus jantan galur *Sprague Dawley*

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penilitian

Objek penelitian ini yaitu mengamati efek antifertilitas dari senyawa flavonoid terhadap tikus putih jantan (*Rattus novegicus* L. *)* galur *Sprague Dawley* yang sehat dengan usia 2-3 bulan dengan berat 150 - 250 gram.

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental dengan tahapan penelitian senyawa aktif flavonoid, pengelompokan hewan uji, pembuatan Na CMC 0,5%, pembuatan senyawa senyawa flavonoid, perlakuan terhadap hewan uji, pengambilan data, penyiapan data, dan pengolahan data.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *improved neubauer haemocytometer,* kaca alroji, alat bedah, pinset, cawan petri, mikopipet, vortex, hotplate, batang pengaduk, timbangan analitik, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas beker, gelas ukur, pipet tetes, sonde oral tikus, spuit, timbangan hewan tempat makan dan minum tikus.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penlitian ini yaitu senyawa aktif flavonoid, *Natrium Carboxymethyl Cellulose Sodium* (Na-CMC), ketamine, aqua destilata, alcohol.

3.4 Hewan Uji

Hewan percobaaan yang digunakan pada penelitian uji efek antifertilitas adalah tikus putih jantan (*Rattus novegicus* L.) galur *Sprague Dawley*. Tikus berumur 2-3 bulan dengan berat sekitar 150-250 gram. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak

24 ekor dan sebelum diberi perlakuan di adaptasikan terlebih dahulu selama 2 minggu di Laboratorium.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini, yaitu dosis senyawa flavonoid yang diberikan pada hewan uji tikus Jantan galur *Sprague Dawley*.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini, yaitu bobot testis, motilitas spermatozoa dan jumlah spermatozoa pada hewan uji tikus Jantan galur *Sprague Dawley*.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Penentuan Jumlah Sampel

Penentuan jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 24 ekor. Dimana 24 ekor tikus putih jantan dibagi dalam 4 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor, yang dihitung berdasarkan rumus minimum-maksimum (Arifin & Zahiruddin, 2017; Hafita Dinda Maryana et al., 2024) sebagai berikut :

Untuk analisis ANOVA satu arah, derajat kebebasan untuk kesalah antar subjek dihitung dengan rumus:

$$DF = N - k = kn - k = k\,(n - 1)$$

$$n = \frac{DF}{k} + 1$$

Ket :

N = Jumlah total subjek

k = Jumlah kelompok

n = Jumlah subjek per kelompok

kisaran DF yang diterima, DF dalam rumus diganti dengan DF minimum (10) dan maksimum (20) untuk mendapatkan jumlah hewan uji minimum dan maksimum perkelompok :

$$\text{minimim } n = \frac{10}{k} + 1 = \frac{10}{4} + 1 = 3{,}5 \sim 4 \text{ ekor per kelompok}$$

$$\text{maksimum n} = \frac{20}{k} + 1 = \frac{20}{4} + 1 = 6 \text{ ekor per kelompok}$$

maka, jumlah hewan maksimum-minimum yang dibutuhkan :

Minimum N = Minimum n × k = 4 × 4 = 16 ekor

Maksimum N = Maksimum n × k = 6 × 4 = 24 ekor

Hewan uji yang diperlukan yaitu 4-6 ekor per kelompok dengan jumlah keseluruhan hewan uji 16- 24 ekor.

Rumus minimum-maksimum memiliki kelebihan dalam menghemat sumber daya serta menjaga etika penggunaan hewan dalam penelitian. Rumus ini juga fleksibel untuk studi eksploratif, terutama ketika data deviasi standar dan ukuran efek belum tersedia. Selain itu, rumus ini dapat diterapkan pada berbagai desain ANOVA dan membantu dalam pengambilan keputusan etis mengenai jumlah hewan yang digunakan. Namun, rumus ini memiliki kekurangan, seperti kurang ideal jika informasi statistik sudah tersedia dan terbatas pada rentang derajat kebebasan tertentu, yaitu antara 10 hingga 20. Pendekatan ini juga terlalu menyederhanakan eksperimen yang lebih kompleks dan rentan terhadap kesalahan penafsiran jika tidak diterapkan dengan benar.

3.6.2 Dosis Flavonoid

Perlakuan yang digunakan adalah tikus normal (hanya diberikan makan dan minum), dan tikus yang diberi senyawa Flavonoid dengan 3 dosis yang berbeda yaitu 100 mg/kg BB, 150 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Acuan dosis yang digunakan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Dewanti et al., 2020).

VAO = 1% dari BB

$= \frac{1}{100}$ x 200 mg/kgBB

= 2 mL

3.6.3 Dosis Ketamin

Induksi ketamin dilakukan dengan dosis 50-75 mg/kgBB pada tikus. Ketamin dapat diberikan secara intraperitoneal atau intramuskular. Ketamin dianggap paling aman, paling banyak digunakan, tidak menimbulkan depresi napas dan kardiovaskuler, juga memiliki efek analgesia (BPOM RI, 2020).

3.6.4 Pengelompokan Hewan Uji

Tikus putih galur *Sprague Dawley* sebanyak 24 ekor ditempatkan di tempat yang berbeda menjadi 4 kelompok perlakuan yang berbeda (K1,K2, K3 dan K4). Sebelum diberikan perlakuan, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dengan diberi pakan komersial pelet standar laboratorium perkelompok dan pemberian minum setiap hari

Tabel 3. 1 Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok I	Kelompok Normal hanya diberikan makan dan minum (adlibtum)
Kelompok II	Diberikan senyawa flavonoid dengan dosis 100 mg/kg BB
Kelompok III	Diberikan senyawa flavonoid dengan dosis 150 mg/kg BB
Kelompok IV	Diberikan senyawa flavonoid dengan dosis 200 mg/kg BB

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Penyiapan Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid sebanyak 450 mg dibuat suspensi yang dilarutkan dengan aquadest, karena senyawa flavonoid temasuk dalam famili polifenol yang larut dalam air (Susila Ningsih et al., 2023).

3.8 Pengujian Antifertilitas

Tikus akan diberi sediaan uji (sesuai kelompok) 1 kali sehari secara oral selama 21 hari. Tikus pada K1 (kontrol positif) hanya diberikan makan dan minum (adlibtum). Tikus pada K2, K3, K4 diberikan senyawa flavonoid masing-masing dengan dosis 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB, pada hari ke 22 hewan uji dianastesi dengan ketamin dan dilakukan pembedahan untuk menimbang bobot testis, jumlah spermatozoa dan motilitas spermatozoa (Dewanti et al., 2020)..

3.8.1 Pengujian Bobot Testis

Bagian testis dan vesikula seminalis diambil dan diletakan di atas kaca alroji kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Berat testis dihitung dengan rumus (Dewanti et al., 2020):

% bobot testis = $\frac{Bobot\ testis}{Berat\ badan}$ x 100%

3.8.2 Pengambilan Spermatozoa

Pengambilan spermatozoa dilakukan dengan cara bagian epidimis kiri dan kanan disayat untuk mengeluarkan spermatozoa.

3.8.3 Penyiapan Suspensi Spermatozoa

Setelah pengambilan spermatozoa, kemudian diletakkan dalam cawan petri dipotong kecil-kecil dan diinkubasi dalam 15 mL larutan media NaCl fisologis selama 30 menit dalam suhu 37°C dalam inkubator 5% CO2 untuk membiarkan sperma berenang di media (teknik berenang) (Luthfi & Noor, 2021).

3.8.4 Pengamatan dan Penilaian Motilitas Spermatozoa

Sebanyak 10 µL suspense sperma hasil preparasi diambil dengan mikropipet kemudian diteteskan pada *hemasitometer* dan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan pembesaran 200 x atau 400x. Motilitas spermatozoa yang diperiksa secara berurutan 5 lapangan pandang (A, B, C, D, dan E) dengan menggerakan bidang pandang dari kiri ke kanan, atas dan bawah untuk memperoleh 200 spermatozoa. Presentase motilitas spermatozoa kemudian dihitung dengan menggunakan rumus yang dipakai menurut WHO berdasarkan kategori gerakan spermatozoa sebagai berikut:

Presentase jumlah sperma yang motil ditentukan dengan jumlah spermatozoa yang progresif, dibagi 200 setelah itu dikalikan 100%. Angka 200 merupakan jumlah semua kategori spermatozoa yaitu P: Gerakan progresif yaitu gerakan maju ke depan, C: Gerakan circular yaitu gerakan melingkar, N:

Necrospermia yaitu tidak ada gerakan dan R: Gerakan reverse yaitu gerakan mundur (Luthfi & Noor, 2021).

3.8.5 Perhitungan Jumlah Spermatozoa

Presentase motilitas spermatozoa kemudian dihitung dengan menggunakan rumus yang dipakai menurut WHO berdasarkan kategori gerakan spermatozoa (Dewanti et al., 2020)sebagai berikut:

$$\text{Jumlah Spermatozoa (\%)} = \frac{Spermatozoa\ hidup}{Jumlah\ spermatozoa} \text{ x } 100\%$$

Presentase jumlah sperma yang motil ditentukan dengan jumlah spermatozoa yang progresif, dibagi 200 setelah itu dikalikan 100%. Angka 200 merupakan jumlah semua kategori spermatozoa yaitu P: Gerakan progresif yaitu gerakan maju ke depan, C: Gerakan circular yaitu gerakan melingkar, N: Necrospermia yaitu tidak ada gerakan dan R: Gerakan reverse yaitu gerakan mundur (Rahayu et al., 2019).

3.9 Penanganan Hewan Coba setelah Penelitian

Pemusnahan hewan coba dilakukan dengan cara penguburan. Pada metode ini seluruh hewan coba dikubur dalam tanah dengan kedalaman yang cukup aman untuk mencegah penggalian oleh hewan liar di sekitar area tersebut. Pada metode ini dapat dilakukan dilokasi sekitar penelitian sehingga tidak memerlukan transportasi tambahan dan penyebaran penyakit lebih terkendali. Namun, metode ini memerlukan pengawasan lingkungan karena berpotensi mengkontaminasi air tanah (BPOM RI, 2020).

3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa bobot testis, bobot vesikula seminalis, jumlah dan viabilitas spermatozoa dianalisa dengan uji analisis varian (ANOVA) satu arah dengan taraf signifikansi 95% (0,05) kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk membandingkan perbedaan antar kelompok uji (Dewanti et al., 2020).

3.11 Waktu dan Tempat Penelitian

3.11.1 Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Maret 2025 sampai dengan Juni 2025.

3.11.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Gunadarma.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Aisyah, dkk. (2023). Identification of Mammals Vertebrate Animal Characteristics of White Rat (Rattus norvegicus) Based on Their Morphology and Anatomy. *Prosiding SEMNAS BIO 2023*.

[2] Akbar, B. (2010). *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press.

[3] Alfaridz, A. (2018). Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid. Farmaka. *Farmaka*, *16*(3).

[4] Arifin, W. N., & Zahiruddin, W. M. (2017). Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, *24*(5), 101–105. https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.11

[5] Askrening, A., & Yulita, H. (2017). The Effectiveness of Counseling through Vasectomy Module in North Kolaka, Indonesia. *International Journal of Public Health Science (IJPHS)*, *6*(3), 231. https://doi.org/10.11591/ijphs.v6i3.7614

[6] Bala, K. , M. Arya, & D.P. Katare. (2014). Herbal Contraceptive: An Overview. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, *3*(8), 1309–1326.

[7] BPOM RI. (2020). *Draf_PerBPOM_tentang_Pedoman_Farmakodinamik__23_Nov_20*.

[8] BPS. (2022). *Penduduk Indonesia Menurut Povinsi* . Diakses 13 Mei 2024

[9] BPS. (2023). *Jumlah Penduduk Pertengahan Tahun (Ribu Jiwa), 2022-2024*. Diakses 1 Juli 2024

[10] Brodowska, K. M. ,. (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. Eur. J. Bioological Res. *Eur. J. Bioological Res*, 108–123.

[11] Colville, T., & Bassert, J. M. (2016). *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians* (3rd ed.). Elsevier.

[12] Dabhadkhar et al., 2015. (2015). Review on some ethnomedicinal plants having antifertility activity in female albino rats. *Int. Res. J. of Science & Engineering*, *3*(2), 41–46.

[13] Delfita, R. (2014). *Potensi Antifertilitas Ekstrak Teh Hitam Pada Mencit (Mus musculus L.) Jantan*. *VI*(2), 181–188.

[14] Dewanti, E., Viviandhari, D., Lonica, N., & Mutia, S. (2020). Efek Antifertilitas dari Ekstrak Daun Pepaya (Carica papaya L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley. *Jurnal Jamu Indonesia* , *5 Nomor 1*.

[15] Dju, F. (2020). Aktivitas Analgesik Tunggal Dan Kombinasiekstrak Etanol Daun Jambu Biji (Psidiumguajava L) Dan Daun Sirsak (Annonamuricatal) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Asam Asetat. *(Doctoral Dissertation, Universitas Citra Bangsa*.

[16] Dorland, W. A. N. (2013). *Dorland's Pocket Medical Dictionary* (29th ed.). Elsevier Saunders.

[17] Febrianti dan Sukarjati. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bunga, Daun, Dan Akar Kembang Sepatu (Hibiscus rosasinensis) Terhadap Histologis Dan Testis Mencit (Mus muscullus). *Febrianti Dan Sukarjati*, *65*.

[18] Fitriani, Asri, & Mutmainna, N. (2019). Use Of Injection Contraception With Changes Menstrual Cycle In Injection Kb Acceptor. *Jurnal Life Birth*, *3*.

[19] Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2014). *Textbook of Medical Physiology* (12th ed.). Elsevier Saunders.

[20] Hafita Dinda Maryana, Nainggolan, H., & Nadia Rusyda Hanifa. (2024). Effect of Suruhan Leaves (Peperomia pellucida L. Kunth) Extract on Triglyceride Blood Level in Diabetic Rats. *JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, *11*(1), 53–60. https://doi.org/10.20473/jfiki.v11i12024.53-60

[21] Janika, A., Rini, T., & Mahmud, F. (2023). *Uji Fertilitas Tikus (Rattus norvegicus) Jantan Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (Azadirachta indica)*.

[22] Joshi, M. , K., Gaonkar, S., Mangoankar, & S. Satarkar. (2011). Pharmacological Investigation of Areca catechu Extracts for Evaluation of Learning, Memory, and Behaviour in rats. *International Current Pharmaceutical Journal*, *1*(6), 128–132.

[23] Junqueira, L. C., Cameiro, J., & Robert, O. K. (2007). *Histologi Dasar* (8th ed.). EGC.

[24] Kementrian Kesehatan. (2014). *Perbandingan penggunaan kontraspsi pada wanita dan pria*.

[25] Komang, Surjana, N., & Luh Kadek Alit Arsini, N. (n.d.). *Young Papaya Seeds Ethanol Extract (Carica Papaya Seed) Inhibit Testosterone Hormone and Leydig Cells of Male Mice (Mus Musculus)*. www.jgpt.co.in

[26] Krinke, G. J. (2000). *The Laboratory Rat*. Academic Press.

[27] Lenny, S. . (2006). Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah, FMIPA, USU, Medan*.

[28] Lolok, N., Ikawati, N., & Siharis, F. (2020). *The Potency of Antifertility Effect of Stem Bark Extract of Mangrove (Avicennia Marina) on Male White Rats (Rattus Novergicus)*. 141–146. https://doi.org/10.5220/0009587701410146

[29] Luthfi, M. J., & Noor, M. M. (2021). A Simple Technique for Rapid Assessment of Rat (Rattus norvegicus) Sperm Motility. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, *9*(2), 105–107. https://doi.org/10.14421/biomedich.2020.92.105-107

[30] Masala, J. , W. I. , R. S. C. , & L. H. F. N. (2020). Karakteristik Morfologi Tikus Hutan Ekor Putih (Maxomys Hellwandii) Di Tangkoko Batuangus Bitung. *Zootec*, 207–213.

[31] Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*. Academic Press.

[32] Maynard R.L, & Dawnes, N. (2019). *Downes Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*. Elsevier.

[33] Noer, S. , R. D. P. , dan E. G. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (Ruta angustifolia L.). *Jurnal Eksata*.

[34] Oktavia, S. (2020). Uji Efek Antifertilitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (Epipremium pinnatum (L.) Engl.) pada Mencit Betina. In *Jurnal Farmasi Higea* (Vol. 12, Issue 1).

[35] Oktavia, S., Ifora, & Aprianto. (2020). Uji Efek Antifertilitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (Epipremium pinnatum (L.) Engl.) pada Mencit Betina. *Jurnal Farmasi Higea*.

[36] O'Malley, B. (2005). *Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species*. Elsevier.

[37] Panche, A. N. , D. A. D. , C. S. R. ,. (2016). Flavonoids: an overview. *J. Nutr. Sci. 5, E47.*

[38] Rahayu, I., Usman, E., & Reza, M. (2019). Effect of vitamin C on testosterone level, sperm count and sperm morphology in gentamicin-induced Wistar rats. *International Journal of Research in Medical Sciences*, *7*(2), 451. https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20190352

[39] Rahman, A., & Syakir. (2018). Menelusur Determinan Tingkat Fertilitas Jurnal EcceS'. *Jurnal Economics, Social, and Development STudies*.

[40] Ratu dkk. (2018). *Buku ajar Keluarga Berencana dan Kontrasepsi*.

[41] Safe, S., Jayaraman, A., & Shrestha, R. (2021). *Flavonoids: structure–function and mechanisms of action and opportunities for drug development*. *37*, 147–162.

[42] Sage, L. (2015). *Tikus Sprague Dawley*.

[43] Sherrwood, L. (2015). *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem* (8th ed.). EGC.

[44] Shortliffe, E. H., & Cimino, J. J. (2014). *Biomedical Informatics* (4th ed.). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-4474-8

[45] Suartha, N. (2016). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Tingginya Laju Pertumbuhan dan Implementasi Kebijakan Penduduk di Provinsi Bali. *Jurnal Harian Regional*, *XII No. 1 : 1-7*.

[46] Usman, F., Guntur, M., & Zulkifli. (2022). Uji Efek Antifertilitas Ekstrak Etsnol Biji Mimba (Azadirachta indica Juss) Terhadap Mencit (Mus musculus). *Journal Pharmacy and Sciences*.

[47] Wadun, Y. R. (2019). *Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (Momordica Charantia Less) Terhadap Infertilitas Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Jantan Berdasarkan Jumlah Sel Sertoli Dan Viabilitas Spermatozoa*. Universitas Brawijaya.

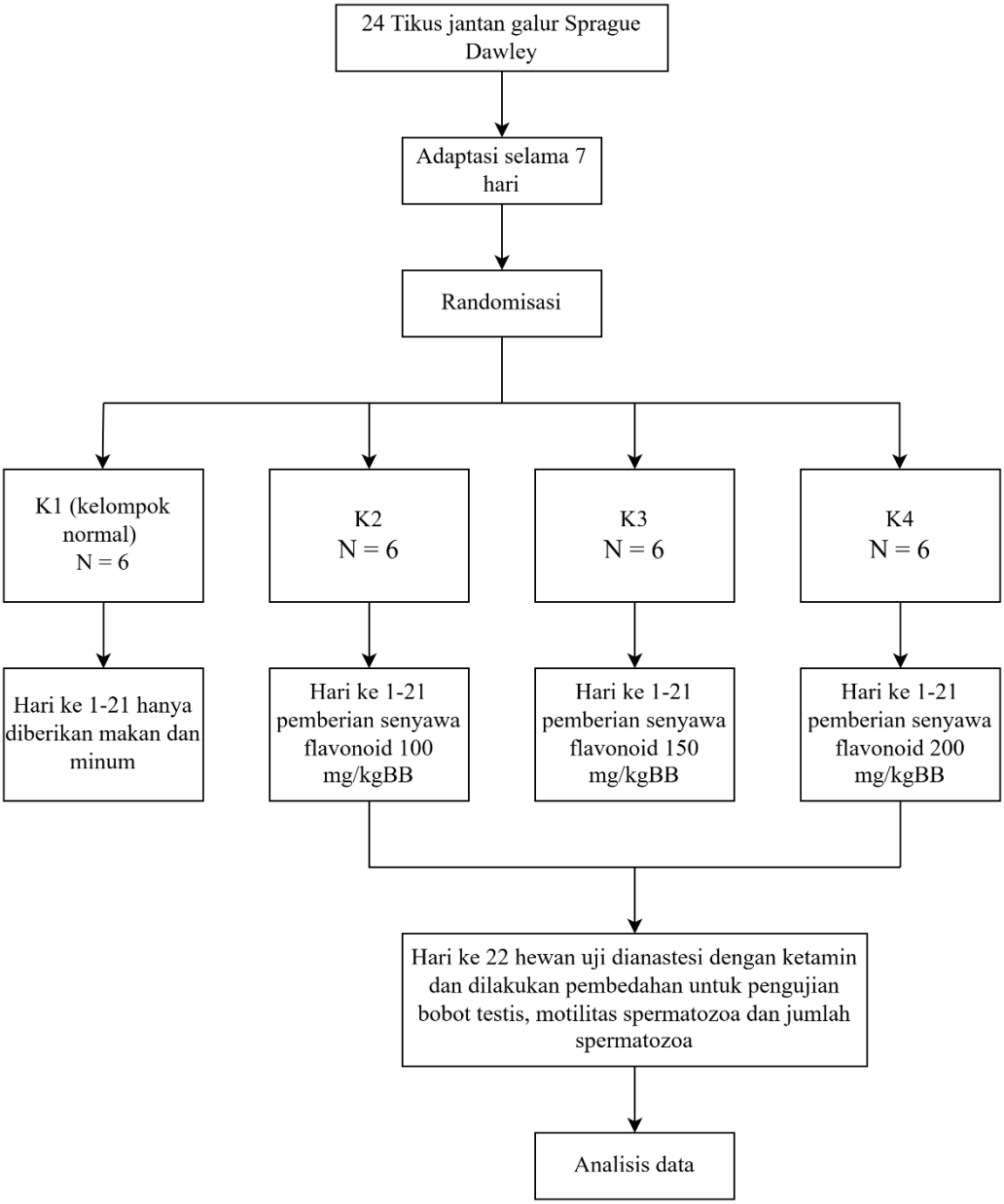
[48] Wibisono, H. (2010). *Panduan Laboratorium Andrologi Buku Pertama*. Refika Aditama.

[49] Widyawati. (2010). *Kandungan flavonoid sebagai antifertilitas*.

[50] Yustika, W., & Wibowo, A. (2023). Faktor yang Mempengaruhi Tingkat Fertilitas di Indonesia : Review Literatur. *Media Gizi Kesmas*, *12, No. 1*.

L A M P I R A N

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Waktu Perencanaan Penelitian

No.	Kegiatan	2024	2025				
		Agu	Maret	April	Mei	Juni	Juli
1	Pengajuan Kode Etik						
2	Penyiapan Bahan dan Hewan Uji						
3	Pelaksanaan Penelitian						
4	Pengumpulan Data						
5	Analisis Data						
6	Penyusunan						

Lampiran 3. Rancangan Anggaran Biaya

No	**Nama Barang**	**Volume**	**Satuan**	**Harga Satuan (Rp)**	**Jumlah (Rp)**
1.	Kode etik	1	-	300.000	300.000
2.	Senyawa flavonoid	1	gram	2.000.000	2.000.000
3.	Tikus	24	Ekor	40.000	960.000
4.	Serbuk kayu	10	Kg	20.000	20.000
5.	Pakan	5	Kg	12.000	60.000
6.	Spuit	1	pcs	5000	5.000
7.	Sonde tikus	1	pcs	25.000	25.000
8.	Ketamin	1	liter	200.000	200.000
9.	Na-CMC	100	mg	50.000	50.000
10.	Aquadest	1	liter	10.000	10.000
Total					3.630.000