

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Zink adalah kofaktor lebih dari 100 enzim yang penting untuk metabolisme asam nukleat dan sintesis protein. Zink (Zn) disebut juga dengan seng yang merupakan zat gizi yang esensial. Zink berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan, respon kekebalan, fungsi neurologis dan reproduksi. Zink banyak berperan dalam fungsi reproduksi yakni mineral zink yang berhubungan dengan stimulasi hormon androgen. Apabila mineral zink dalam darah tinggi maka stimulasi hormon androgen akan meningkat. Yang mana hormon androgen (testosteron) berfungsi dalam proses spermatogenesis (Tandung et al., 2015). Konsentrasi Zink dalam darah sangat erat mempengaruhi spermatogenesis, karena kekurangan zink dapat menyebabkan disfungsi gonad seperti penurunan berat testis dan penyusutan tubulus semiferus. Dimana zink (Zn) dapat berperan dalam pematangan spermatozoa selama proses spermatogenesis (Suripta et al., 2021).

Reproduksi merupakan aspek penting dalam mempertahankan kelangsungan spesies, di mana kualitas sperma memainkan peran utama dalam menentukan tingkat fertilitas jantan. Kualitas sperma dinilai berdasarkan berbagai parameter, baik secara makroskopik maupun mikroskopik yang paling berpengaruh adalah morfologi dan viabilitas sperma. Parameter kualitas sperma seperti morfologi dan viabilitas sangat krusial untuk mengetahui tingkat kualitas dari sperma. Morfologi sperma mengacu pada bentuk dan struktur sperma, yang mencakup bagian kepala, leher, dan ekor. Abnormalitas sperma adalah hal penting dalam menentukan kualitas sperma, karena jika sperma memiliki persentase abnormalitas di atas 20% dapat diartikan bahwa tingkat fertilitasnya rendah sehingga dapat tidak terjadi fertilisasi pada saat kopulasi. Sementara itu, viabilitas sperma menunjukkan persentase sperma yang hidup dalam suatu sampel semen. Semakin tinggi viabilitas sperma, semakin besar kemungkinan terjadinya pembuahan (Rhizky et al., 2023). Zink diduga dapat meningkatkan parameter-parameter ini melalui perannya yang sebagai antioksidan yang melindungi sperma dari stres oksidatif, salah satu penyebab utama kerusakan morfologi sperma, dimana pada proses spermatogenesis mineral zink berperan dalam aktivitas ribonuklease, pematangan spermatozoa dan mempertahankan epitel germinatif dan tubulus seminiferus (Suripta et al., 2021). Selain itu, mineral ini juga berperan dalam menjaga stabilitas membran sperma, yang berkontribusi dalam mempertahankan viabilitas sperma. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa defisiensi zink dapat menyebabkan peningkatan jumlah sperma abnormal dan penurunan viabilitas sperma, yang berakibat pada menurunnya tingkat kesuburan jantan. Oleh karena itu, suplementasi zink diduga dapat memberikan manfaat dalam meningkatkan kualitas sperma, salah satu hal morfologi dan viabilitasnya (Allouche et al., 2020).

Suriah (*Syrian golden hamster*) atau dikenal dengan nama latin *Mesocricetus auratus* telah lama digunakan sebagai hewan model untuk mengetahui



penyakit yang terjadi pada manusia sejak 60 tahun yang lalu. Pada beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa hamster Suriah memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan subfamili murine dalam hal penelitian untuk mengetahui gejala penyakit, patogenesis dan respon kekebalan tubuh. Selain itu, kelebihan lainnya adalah hamster Suriah memiliki laju reproduksi yang cepat dan proses penanganannya yang lebih mudah. Sehingga berdasarkan beberapa kelebihan tersebut, hamster Suriah merupakan pilihan utama dibandingkan dengan hewan kecil lainnya seperti tikus dan mencit dalam penelitian menggunakan hewan sebagai model penyakit (Roberts et al., 2005; Imai et al., 2020 dikutip Novita 2020). Studi pada hewan lain menunjukkan bahwa suplementasi zink dapat meningkatkan kualitas spermatozoa. Semakin besar dosis zink yang diberikan semakin besar efek peningkatan kualitas spermatozoa. Pemberian zink menyebabkan peningkatan kualitas spermatozoa secara nyata yang meliputi konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa, dan morfologi spermatozoa normal (Payaran et al., 2014). Meskipun zink diketahui bermanfaat untuk kesehatan reproduksi pada banyak hewan. Namun, penelitian khusus serupa pada hamster Suriah masih terbatas. Oleh karena itu dilakukan penelitian ini untuk mengeksplorasi efek suplementasi zink terhadap kualitas sperma, khususnya morfologi dan viabilitas, pada hamster Suriah.

1.2 Teori

1.2.1 Zink dan Peranannya dalam Reproduksi

Zink merupakan unsur penting dengan berbagai fungsi biologis. Lebih dari 200 metalloenzim Zn diatur oleh Zn^{2+} . Zink berperan penting dalam pengaturan DNA, RNA, dan protein, serta dalam stabilitas membran sel dan pembelahan sel. Ion zink membantu menjaga kesehatan prostat dan seksual. zink berperan penting dalam sistem reproduksi jantan, yang mana kelompok fertil memiliki kadar zink yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok infertil. Kadar Zn^{2+} pada pria fertil adalah $14,08 \pm 2,01$ dan pada kelompok infertil adalah $10,32 \pm 2,98$ (mg/100mL). Kekurangan Zn^{2+} dapat dikaitkan dengan penurunan volume testis dan berat testis serta kegagalan spermatogenesis. Adanya kontaminasi bakteri pada saluran reproduksi dapat berdampak negatif pada fungsi sperma. Zink (Zn) memiliki aktivitas antibakteri yang mana Nanopartikel zink oksida membunuh bakteri Gram- positif dan Gram-negatif dan juga efektif melawan spora, yang tahan terhadap suhu tinggi dan tekanan tinggi. Kekurangan nutrisi zink menyebabkan kualitas sperma rendah dan infertilitas pria. Tikus yang diberi zink menunjukkan peningkatan jumlah sperma, motilitas sperma, dan kadar testosteron serta perbaikan struktur testis dan kelainan spermatogenesis yang disebabkan oleh obesitas (Allouche et al., 2020).

Defisiensi zink dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan organ reproduksi,



Optimized using
trial version
www.balesio.com

ngguan fungsi sel leydig dapat menyebabkan turunannya produksi
manya adalah androgen, yang utamanya adalah testosteron.
akibat kekurangan zink dapat berupa rendahnya volume semen
esi vesika seminalis, gangguan kualitas sperma dan gangguan
ena menurunnya sekresi testosteron yang berperan dalam proses
maturasi sperma di epididimis (Ferial, E. W. 2016). Penelitian yang
ya pada hewan pengerat, menunjukkan bahwa zink dapat
s spermatozoa dalam sistem reproduksi yang berfungsi sebagai
stimulasi hormon androgen (testosteron) pada sel leydig dalam
meningkatkan proses spermatogenesis yang normal (Triola et al., 2019).

1.2.2 Spermatogenesis dan Faktor yang Mempengaruhinya

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa (sel gamet jantan) yang terjadi hanya di Tubuli seminiferi yang terletak di Testes, Testes 90% tersusun oleh tubuli seminiferi, sedangkan yang 10% adalah sel intertitiel (Sulisilawati., 2011). Spermatogenesis adalah proses kompleks yang memerlukan berbagai interaksi fisik antara sel germinal dan sel sertoli, selain komunikasi antara jenis sel ini, yang dimediasi oleh faktor humoral (baik endokrin maupun parakrin). Spermatogenesis melibatkan diferensiasi sel induk spermatogonia menjadi spermatosit melalui pembelahan sel mitosis dan produksi spermatid haploid dari spermatosit primer tetraploid melalui pembelahan sel meiosis. Spermatid kemudian menghasilkan spermatozoa dalam fase akhir spermatogenesis, yang disebut spermiogenesis (Nishimura et al., 2017).

Faktor yang mempengaruhi spermatogenesis yaitu bahan beracun pada umumnya, sel germinal epithelium sensitif terhadap kondisi panas selain pada perkembangan spermatid, sedangkan pengaruh radiasi panas selain pada perkembangan spermatid juga pada pembelahan spermatogonia. Pengaruh nutrisi juga berdampak yang mana kekurangan nutrisi dan vitamin A dapat berpengaruh terhadap germinal epithel dan sel leydig yang menyebabkan rendahnya kualitas spermatozoa. Kekurangan vitamin E dapat mempengaruhi metabolisme terutama bila terjadi sebelum pubertas, kekurangan mineral atau mengkonsumsi yang berlebihan maka fitoestrogen, goitrogen dan nitrat secara bersama-sama berpengaruh terhadap penampilan reproduksi jantan dan bila terjadi dalam waktu yang lama akan menyebabkan testis degeneratif (mengecil). Eksogenous sex steroid dapat berpengaruh terhadap fungsi testis atau sekresi gonadotropin oleh pituitary, akan tetapi bila diberikan dalam jumlah yang tinggi dan jangka waktu yang lama, justru akan menekan gonadotropin dan testosterin yang diinjeksikan akan menekan kualitas semen hingga 11 minggu (Sulisilawati., 2011).

1.2.3 Kualitas Sperma dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhinya

Kualitas sperma merupakan parameter yang sangat penting dalam proses pembuahan (fertilisasi), kualitas dan kuantitas dapat menggambarkan pada tingkat keberhasilan fertilisasi (Ibrahim et al., 2019). Sperma dikatakan mempunyai kualitas yang baik apabila mampu membuahi ovum. Salah satu indikator fertil atau tidak adalah dengan melihat kualitas spermanya. Kualitas sperma ini dapat ditentukan melalui pemeriksaan makroskopis ataupun mikroskopis dengan melihat jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa (Mandasari et al., 2019). Infertilitas pada pria disebabkan karena adanya penurunan kualitas sperma, gangguan pada testis, dan infertil disebabkan oleh stres oksidasi. Salah satu faktor adalah antioksidan yang rendah, baik antioksidan endogen ataupun eksogen. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas sperma antara lain yaitu:

1. Nutrisi. nutrisi yang dapat memberikan dampak positif, yaitu makanan yang



Optimized using
trial version
www.balesio.com

antioksidan, karena antioksidan dapat menangkal dan mereduksi, contohnya Vitamin C, Vitamin B2 dan B6, selenium, dan Zinc.

Salah satu sumber polusi terbesar dihasilkan asap kendaraan bermotor yang mencapai 90%. Bukan hanya dari kendaraan bermotor saja, tetapi polusi udara juga dapat disebabkan karena asap rokok dan asap buangan industri yang juga sangat berbahaya bagi kesehatan reproduksi.

Aktivitas fisik maksimal menyebabkan produksi oksidan yang tinggi. Hal ini dapat menyebabkan penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa hingga 50% dari sperma yang sehat.

4. Faktor lain, masih banyak faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa

maupun proses spermatogenesis antara lain faktor psikis, faktor hormonal, faktor pekerjaan dan lain-lain (Dewangga et al., 2021).

1.2.4 Morfologi Sperma sebagai Indikator Kualitas

Morfologi sperma mengacu pada aspek strukturalnya, yang secara subjektif dinilai berdasarkan bentuk kepala dan ekor sperma. Sperma yang ideal adalah sperma tanpa kelainan morfologi. Terdapat tiga jenis kelainan morfologi, yaitu kelainan pada kepala, leher atau bagian tengah, serta ekor. Sperma yang memiliki satu atau lebih kelainan morfologi dikategorikan sebagai sperma tidak normal. Sperma yang matang dan sehat memiliki kepala berbentuk kait menyerupai pancing, dengan satu ekor yang melekat dan tidak terpilin, bagian tengah sperma, yang terletak tepat setelah kepala, memiliki struktur yang sedikit lebih tebal. Selain itu, tetes sitoplasma yang normal memiliki garis luar yang halus, tidak beraturan, dan ukurannya tidak melebihi sepertiga dari ukuran kepala sperma normal (Luthfi et al., 2015). Kelainan morfologi sperma dapat dikenali dari berbagai aspek, seperti ukuran kepala yang terlalu besar (makro) atau terlalu kecil (mikro), ada tidaknya kepala, bentuk kepala yang tidak normal (amorf atau bulat), serta kelainan pada ekor seperti ekor pendek, spiral, atau ganda. Selama proses spermatogenesis, spermatid mulai membentuk ekor dan bagian tengah yang berfungsi menghubungkan kepala dengan ekor. Pematangan morfologi ini berlangsung di dalam tubulus seminiferus, sedangkan pematangan lebih lanjut serta penyimpanan sperma terjadi di epididimis. Pada tahap akhir spermatogenesis, zink (Zn) berperan penting dalam mendukung motilitas sperma dengan membantu pembentukan ekornya (Salsabila, H., 2021).

1.2.5 Viabilitas Sperma dan Faktor yang Mempengaruhi

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa. Penilaian viabilitas sperma diperlukan terutama ketika persentase sperma dengan motilitas progresif rendah, yaitu sekitar 30-40%. Seorang pria dikategorikan subur apabila memiliki sekitar 58-60% sperma yang masih hidup. Pemeriksaan viabilitas sperma penting untuk menentukan apakah spermatozoa non motil tersebut hidup atau mati (Salsabila, H., 2021). Selain itu, viabilitas juga dapat digunakan sebagai indikator integritas struktur membran spermatozoa. Viabilitas ini berkorelasi dengan motilitas sperma, yang dipengaruhi oleh kekuatan membran plasma spermatozoa (Azzahra et al., 2016 dikutip dalam Prastika et al., 2018). Persentase spermatozoa yang hidup dipengaruhi oleh keutuhan membran plasma. Membran plasma spermatozoa berperan dalam melindungi organel serta mengatur transportasi elektrolit yang diperlukan untuk metabolisme spermatozoa (Salmah, 2014 dikutip dalam Prastika et al., 2018). Jika membran plasma mengalami kerusakan, fungsi fisiologis dan metabolisme spermatozoa dapat terganggu, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian spermatozoa mati (Salsabila, H., 2021). Selain itu, viabilitas juga dapat digunakan sebagai indikator integritas struktur membran spermatozoa. Viabilitas ini berkorelasi dengan motilitas sperma, yang dipengaruhi oleh kekuatan membran plasma spermatozoa (Azzahra et al., 2016 dikutip dalam Prastika et al., 2018). Persentase spermatozoa yang hidup dipengaruhi oleh keutuhan membran plasma. Membran plasma spermatozoa berperan dalam melindungi organel serta mengatur transportasi elektrolit yang diperlukan untuk metabolisme spermatozoa (Salmah, 2014 dikutip dalam Prastika et al., 2018). Jika membran plasma mengalami kerusakan, fungsi fisiologis dan metabolisme spermatozoa dapat terganggu, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian spermatozoa mati (Salsabila, H., 2021).



Optimized using
trial version
www.balesio.com

spermatozoa berperan dalam menentukan daya hidupnya. Aktivitas metabolisme tinggi akan menghasilkan kadar asam laktat yang dapat berdampak negatif hingga menyebabkan kematian (Azzahra et al., 2016 dikutip dalam Prastika et al., 2018). Keutuhan membran plasma memiliki hubungan erat dengan motilitas spermatozoa. Semakin utuh membran plasma, semakin tinggi pula jumlah spermatozoa yang dapat bergerak aktif (Azzahra et al., 2016 dikutip dalam Prastika et al., 2018). Spermatozoa dikategorikan memiliki kualitas yang baik apabila jumlah spermatozoa hidupnya tinggi, dengan tingkat spermatozoa mati kurang dari 15% (Bintara,

2011 dikutip dalam Prastika et al., 2018).

1.2.6 Pengaruh Suplementasi Zink terhadap Kualitas Sperma

Peran Zink dalam sistem reproduksi bertindak sebagai modulator reseptor hormon yang berfungsi untuk menstimulasi hormon androgen (testosteron) pada sel leydig yang secara tidak langsung dapat meningkatkan kualitas sperma (Ibrahim et al., 2019). Pada proses spermatogenesis, mineral zink berperan dalam aktivitas ribonuklease pada awal spermatogenesis dan pematangan spermatozoa selama spermatogenesis serta meningkatkan motilitas sperma pada akhir spermatogenesis. Zink memiliki sifat antioksidatif dan dapat mengurangi oksigen reaktif yang diproduksi oleh spermatozoa yang rusak serta leukosit dan kerennya meningkatkan fertilitas. Zink akan mengaktifkan kerja enzim metabolisme yang menghasilkan energi yang dibutuhkan untuk pergerakan spermatozoa. Yang mana zink terlibat dalam katabolisme lipida yang merupakan sumber energi utama yang dibutuhkan untuk pergerakan spermatozoa. Mineral zink juga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang mampu melindungi spermatozoa dari radikal bebas dan gangguan luar sehingga mengurangi kerusakan dan menurunkan abnormalitas spermatozoa (Hindrawati et al., 2020). Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa zink dianggap sebagai salah satu faktor utama yang mempengaruhi motilitas spermatozoa dengan memodulasi aktivitas enzim Ca^{2+} , ATPase, dan mengurangi antibodi antisperm, terutama Ig G. Mekanisme pengaruh zink terhadap volume semen cairan prostat berkontribusi besar terhadap ejakulasi kandungan zink. Di prostat, zink terlibat dalam mengatur pertumbuhan dan apoptosis sel epitel prostat. Peningkatan volume semen, zink juga terbukti diperlukan untuk menjaga stabilitas kromatin sperma dan stabilitas membran dan menghambat apoptosis untuk morfologi sperma normal (Salsabila, H., 2021).

1.2.7 Hamster Suriah (*Mesocricetus auratus*)

Hamster suriah merupakan spesies yang terbanyak dari 20 spesies hamster yang ada di dunia (Genetics, 2020 dikutip dalam Novita, 2020). Hamster termasuk di dalam famili rodensia. Taksonomi hamster di dalam ordo mamalia adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodensia
Sub Ordo : Myomorpha
Famili : Muridae
Genus : *Mesocricetus*
Spesies : *Mesocricetus auratus*



Optimized using
trial version
www.balesio.com



Optimized using
trial version
www.balesio.com

trial version

berdiri (Auratus, 2020 dikutip dalam Novita, 2020). Hamster Suriah umumnya dipelihara sebagai hewan peliharaan karena memiliki warna tubuh yang menarik, yaitu keemasan. Panjang tubuhnya dapat mencapai 30 cm, meskipun rata-rata berukuran sekitar 20 cm. Sesuai dengan namanya, hamster Suriah memiliki bulu berwarna emas dengan bagian perut berwarna putih. Hewan ini berasal dari Suriah, kawasan Asia Timur. Nama Hamster Suriah pertama kali diberikan oleh seorang ahli zoologi asal Inggris, George Robert Waterhouse, pada tahun 1839. Namun, keberadaan hamster ini sebenarnya telah ditemukan lebih awal, yakni pada tahun 1791 di Aleppo, Suriah. Secara alami, *Syrian golden hamster* hidup di habitat gurun berpasir (Chan et al., 2019 dikutip dalam Novita, 2020). Di habitat aslinya, hamster Suriah menghabiskan banyak waktu dengan menggali terowongan di tanah berpasir untuk mencari makanan. Hamster ini memiliki kantong pipi berukuran besar yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan sementara cadangan makanan, seperti kacang-kacangan, biji- bijian, sayuran, rumput, dan buah-buahan dan beri (Novita, 2020).

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh yang terjadi pada efek suplementasi zink terhadap morfologi sperma pada hamster Suriah.
2. Mengetahui pengaruh yang terjadi pada efek suplementasi zink terhadap viabilitas sperma pada hamster Suriah.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian adalah untuk menambah wawasan dan memperkaya literatur ilmiah tentang pengaruh zink terhadap kualitas mikro sperma, khususnya pada hewan hamster Suriah (*Mesocricetus auratus*) dan menjadi dasar bagi penelitian lanjutan tentang peran mineral, terutama zink dalam meningkatkan kesehatan reproduksi pada hewan dan manusia.



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - April 2025 yang dilakukan di Laboratorium Zoologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Rumah Sakit Hewan, Departemen Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, *object glass*, *cover glass*, gelas ukur, batang pengaduk, Spuit 1 cc, gelas arloji, tabung reaksi, pipet tetes, pipet skala, mikro pipet, botol sampel, sendok tanduk, gunting bedah kecil, pisau bedah, pinset, kandang hamster, dot hamster dan mikroskop cahaya.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah suplementasi zink, aquades, alkohol 70%, Ketamin dan Xylazine, NaCl Fisiologis 0,9%, pewarna Eosin-Nigrosin, pewarna makanan, pakan standar, aluminium foil, pentul, latex dan kapas.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hamster Suriah sebanyak 20 ekor dengan massa tubuh 100-150 gram dan umur sekitar 4-5 bulan. Hamster dibagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan kandang yang berbeda setiap kelompok dan masing-masing kelompok terdapat 5 ekor hamster. Sebelum penelitian dimulai hamster diaklimatisasi selama 7 hari dalam kondisi laboratorium. Setiap hari hamster diberi pakan standar dan air minum. Aklimatisasi dilakukan agar hamster mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang akan ditempati selama penelitian berlangsung.

2.3.2 Perlakuan Penelitian

Perlakuan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode Rancangan Acak lengkap (RAL) dimana terdapat 4 perlakuan dengan 5 ulangan. Pemberian perlakuan ini akan dilakukan sebanyak 1 kali sehari, yaitu siang hari selama 35 hari yang dilakukan secara oral. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:



emberian zink)
10 mg
20 mg
30 mg

Penggunaan metode RAL ini diawali dengan mengumpulkan hamster Suriah jantan dewasa sebanyak 20 ekor sesuai kriteria yang dibutuhkan dalam satu wadah yang sama. Selanjutnya, disediakan sebanyak 4 kandang hamster yang diberi tanda angka 1 sampai 4. Setelah itu, hamster yang masih berada dalam satu wadah selanjutnya diambil secara acak (*random*) kemudian dipindahkan ke dalam kandang yang telah diberi nomor 1 sampai 4 hingga masing-masing kandang berisi 5 ekor hamster. Penentuan perlakuan (K, P1, P2 dan P3) pada masing-masing kandang yang berisi 5 ekor hamster dilakukan dengan menggunakan metode lot atau mengundi. Penentuan ulangan yang dilakukan sebanyak 5 kali ditandai dengan pemberian warna dari pewarna makanan pada anggota tubuh yang berbeda-beda setiap individu dalam satu kandang dan setiap kandang yang lainnya dilakukan hal yang sama.

2.3.3 Penentuan Dosis dan Penyiapan Larutan Segar Sebelum Pemberian

2.3.3.1 Penentuan Dosis

Dosis zink dihitung berdasarkan berat badan hamster.

$$P1 = 10 \text{ mg/kg} \times 0,1 \text{ Kg} = 1 \text{ mg Zink}$$

$$P2 = 20 \text{ mg/kg} \times 0,1 \text{ Kg} = 2 \text{ mg Zink}$$

$$P3 = 30 \text{ mg/kg} \times 0,1 \text{ Kg} = 3 \text{ mg Zink}$$

2.3.3.2 Penyiapan Larutan Segar Sebelum Pemberian

Larutan zink dalam penelitian ini disiapkan secara segar setiap hari sebelum diberikan kepada hewan uji untuk memastikan stabilitas dan efektivitas zat aktif. Larutan ini dibuat dengan melarutkan zink dalam air steril. Konsentrasi larutan dihitung dalam mg/mL

$$\text{Konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Jumlah zat aktif (mg)}}{\text{Volume akhir (mL)}}$$

Dosis yang diperoleh dari perlakuan P1, P2 dan P3 selanjutnya disubstitusikan ke dalam rumus di atas untuk membuat larutan segar pada perlakuan. Setiap hewan uji akan ditimbang untuk menentukan volume dari setiap perlakuan yang akan diberikan secara oral. Untuk membuat larutan zink terhadap 3 perlakuan dengan dosis yang berbeda membutuhkan 30 mg yang dilarutkan dalam 20 mL air dalam satu hari, sehingga:

$$\text{Konsentrasi} = 40 \text{ mg} / 20 \text{ mL} = 2 \text{ mg/mL}$$

Jumlah zat aktif dalam satu tablet zink yaitu 40 mg, sehingga untuk membuat larutan sediaan, dilarutkan dengan perbandingan 2:1 untuk mendapatkan dosis yang sesuai tanpa menimbulkan efek samping bagi hewan uji saat diberikan perlakuan secara oral.



sis Perlakuan dari Penyiapan Larutan Segar

erlakuan dilakukan secara oral menggunakan spuit 1 cc. Dengan arutan yang diberikan berdasarkan dosis yang dibutuhkan:

$$\text{Volume} = \frac{\text{Dosis zink (mg)}}{\text{Konsentrasi mg/mL}}$$

$$= 0,5 \text{ mL}$$

$$P2 : 20 \text{ mg/kg} = \frac{2 \text{ mg}}{2 \text{ mg/mL}} = 1,0 \text{ mL}$$

$$P3 : 30 \text{ mg/kg} = \frac{3 \text{ mg}}{2 \text{ mg/mL}} = 1,5 \text{ mL}$$

Setiap volume 0,5 mL yang akan diberikan oral ke hamster setara dengan dosis zink 1 mg untuk hamster yang bermassa 0,1 kg. Kandang nomor 1 akan diberikan perlakuan P1 dengan intervensi 10 mg dari dosis zink. Dan kandang nomor 2 diberi perlakuan P2 dengan intervensi 20 mg dari dosis zink. Kandang nomor 3 diberi perlakuan P3 dengan intervensi 30 mg dari dosis zink. Sedangkan kandang nomor 4 tidak diberi perlakuan (kontrol). Pemberian perlakuan ini akan dilakukan 1 kali sehari, yaitu pada siang hari selama 35 hari.

2.3.5 Pengeluaran Spermatozoa Hamster Suriah (*Mesocricetus auratus*)

Pengambilan spermatozoa hamster dilakukan dengan pembedahan. Sebelum dibedah, hamster dieutansi dengan anestesi umum menggunakan ketamin dan xylazine, bagian testis dibedah dan diambil satu testis, kemudian spermatozoa diperoleh dari cauda epididimis lalu dimasukkan kedalam gelas arloji yang berisi 1 ml NaCl fisiologis, dipotong-potong dengan gunting kecil hingga halus dan dihomogenkan, hingga membentuk suspensi spermatozoa. Suspensi spermatozoa setiap hewan uji ditempatkan pada kaca objek yang berbeda-beda.

2.3.6 Pengamatan Kualitas Spermatozoa Hamster (*Mesocricetus auratus*)

2.3.6.1 Pengamatan Morfologi Spermatozoa

Pengamatan morfologi spermatozoa dilakukan dengan satu tetes sperma epididimis ditetaskan pada *object glass* lalu ditutup dengan *cover glass* dan dikeringkan di udara. Selanjutnya spermatozoa diwarnai dengan pewarna Eosin 1% dan pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan yang dilakukan terfokus pada bentuk normal dan bentuk abnormal spermatozoa dan hasilnya dinyatakan dalam bentuk persen.

2.3.6.2 Pengamatan Viabilitas Spermatozoa

Spermatozoa epididimis diambil satu tetes pada *object glass*, lalu ditetesi Eosin Nigrosin dan dicampur. Pengamatan dilakukan setelah 30 detik di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa hidup tidak akan menyerap pewarna, sementara sperma yang mati akan menyerap pewarna dan berubah menjadi merah muda. Dan hasilnya dinyatakan dalam bentuk persen. Adapun perhitungan persentase viabilitas spermatozoa sebagai berikut:

% viabilitas spermatozoa = $\frac{\text{spermatozoa yang hidup}}{\text{jumlah spermatozoa yang hidup dan mati}} \times 100\%$.



Analisis data berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kuantitatif dianalisis dengan Analisis of Variance (ANOVA) untuk data yang terdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji *post-Hoc Least Significant Different* (LSD).