

**PENGARUH ASAM ASETAT TERHADAP KUALITAS HASIL PEWARNAAN
MORFOLOGI SPERMATOZOA MENGGUNAKAN EKSTRAK KULIT
BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)**

AI NOVIANTI FADLIN

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARSA HUSADA GARUT
PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
2024**

Jl.Subyadinata No.07 Tlp/Fax 0262 - 235946 Garut - Jawa Barat

email : ainoviantif@gmail.com

ABSTRAK

**PENGARUH ASAM ASETAT TERHADAP KUALITAS HASIL PEWARNAAN
MORFOLOGI SPERMATOZOA MENGGUNAKAN EKSTRAK KULIT
BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)**

Analisa sperma disebut sebagai salah satu upaya yang dapat mengatasi permasalahan infertilitas atau kemandulan. Pemeriksaan sperma dilakukan secara mikroskopis bagian-bagian sperma yang diamati untuk melihat apakah ada kelainan atau tidak, terlihat dari kepala, leher, dan ekor. Pemeriksaan morfologi sperma dapat menggunakan zat pewarna agar dapat terlihat jelas. Pewarnaan yang dapat digunakan dalam pemeriksaan morfologi sperma, yaitu Papanicolou, *Diff-Quick*, Safranin-Kristal Violet, Giemsa dengan pengenceran NaCl 0,9%, dan *malacyte green*. Namun pewarna-pewarna sintesis tersebut memiliki dampak negatif, seperti dapat menimbulkan kerusakan pada tubuh juga lingkungan sekitar. Penelitian ini bersifat eksperimental yaitu dengan cara melihat ada tidaknya perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah dengan penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat. Asam asetat atau asam cuka adalah suatu senyawa organik mengandung gugus asam karboksilat. ekstrak kulit buah naga merah dibuat dengan komposisi pelarut etanol, asam asetat, dan mordant tawas. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah tidak ada pengaruh asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah. Berdasarkan hasil penilaian melalui uji Wilcoxon pada penilaian morfologi sperma diperoleh nilai lebih dari 0,05 *Asymp.sig (2-tailed)* >0,05. Dapat dinyatakan bahwa H_1 ditolak dan H_0 diterima, Sehingga diperoleh kesimpulan tidak ada pengaruh signifikan antara penambahan asam asetat dengan tidak ada penambahan asam asetat pada pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Kata kunci : asam asetat, kulit buah naga merah, spermatozoa,

Jumlah Pustaka : 43 buah (2015-2024)

ABSTRACT

THE EFFECT OF ACETIC ACID ON THE QUALITY OF SPERMATOZOA MORPHOLOGICAL COLORING RESULTS USING RED DRAGON (*Hylocereus polyrhizus*) SKIN EXTRACT

Sperm analysis is said to be one of the efforts that can overcome the problem of infertility or sterility. Sperm examination is carried out microscopically, the parts of the sperm are observed to see whether there are any abnormalities or not, visible from the head, neck and tail. Sperm morphology examination can use dyes so that they can be seen clearly. Stainings that can be used to examine sperm morphology are Papanicolou, Diff-Quick, Safranin-Kristal Violet, Giemsa with 0.9% NaCl dilution, and malacyste green. However, these synthetic dyes have negative impacts, such as causing damage to the body and the surrounding environment. This research is experimental in nature, namely by looking at whether there is a difference between the quality of the morphological staining results of spermatozoa using red dragon fruit peel extract with the addition of acetic acid and without the addition of acetic acid. Acetic acid or vinegar is an organic compound containing a carboxylic acid group. Red dragon fruit peel extract is made with a solvent composition of ethanol, acetic acid, and alum mordant. The results obtained in this study were that there was no effect of acetic acid on the quality of spermatozoa morphology staining results using red dragon fruit peel extract. Based on the results of the assessment using the Wilcoxon test on sperm morphology assessment, a value of more than 0.05 Asymp.sig (2-tailed) > 0.05 was obtained. It can be stated that H_1 is rejected and H_0 is accepted, so it can be concluded that there is no significant effect between the addition of acetic acid with no addition of acetic acid on spermatozoa morphology staining with red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel extract.

Key words: acetic acid, red dragon fruit peel, spermatozoa,

Number of Libraries: 43 (2015-2024)

PENDAHULUAN

Infertilitas atau kemandulan pada seorang pria adalah suatu kondisi dimana seorang pria lemah untuk membuat pasangan wanitanya hamil. Sekitar 11- 12% pasangan suami istri mengalami permasalahan infertilitas. Salah satu faktor penyumbang angka infertilitas adalah pada pria sekitar 24% (Rusman, 2019). Analisa sperma disebut sebagai salah satu upaya yang dapat mengatasi permasalahan infertilitas atau kemandulan, dipandang sangat penting dalam menentukan tingkat kesuburan seorang pria. Parameter ejakulat pada analisa sperma ini adalah koagulasi atau kekentalan, likuifaksi, motilitas atau pergerakan sperma, dan morfologi sperma (Akbar, 2020).

Kualitas sperma seseorang dapat diketahui melalui pemeriksaan morfologi sperma. Pemeriksaan morfologi sperma bertujuan untuk

melihat bentuk-bentuk sperma. Hasil dari pemeriksaan ini dapat diketahui bentuk sperma seorang pria apakah normal atau tidak normal. Pemeriksaan morfologi sperma dapat menggunakan zat pewarna agar dapat terlihat jelas (Diarti *et al.*, 2016)

Pemeriksaan sperma dilakukan secara mikroskopis melalui pengamatan dibawah lensa mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 100x. Morfologi sperma normal yang dapat diamati adalah bentuk sperma oval, memiliki panjang 5-6 mikrometer, dan lebar 2,5-3,5 mikrometer. Selain itu memiliki akrosom yang mencakup 40-70% kepala sperma. Bagian-bagian sperma yang diamati untuk melihat apakah ada kelainan atau tidak, terlihat dari kepala, leher, dan ekor. Morfologi sperma abnormal terlihat adanya kelainan pada bagian

kepala, leher, dan ekor sperma (Febriyanto *et al.*, 2023).

Terdapat beberapa metode pewarnaan yang dapat digunakan dalam pemeriksaan morfologi sperma, yaitu *Papanicolou*, *Diff-Quick*, dan Safranin-Kristal Violet. Adapun analisa morfologi sperma menggunakan pewarnaan Giemsa dengan pengenceran NaCl 0,9% (Diarti *et al.*, 2016). Jenis pewarnaan lain yang dapat digunakan dalam pemeriksaan morfologi sperma adalah *malacyte green* (Arios *et al.*, 2015).

Namun pewarna-pewarna sintetis tersebut memiliki dampak negatif, komposisi *Papanicolou* yang terdiri dari *hematoxylin* merupakan pewarna alami dan eosin pewarna sintetis. *Eosin* dapat menyebabkan iritasi mata, kemerahan dan rasa sakit pada kulit. Apabila mata terpapar

langsung oleh eosin dapat menimbulkan cedera permanen pada kornea dengan menghancurkan sel-sel ganglion pada retina (Mamay *et al.*, 2023).

Pewarnaan metode *Diff-Quick* dianggap sebagai pewarnaan bidang sitologi universal karena biaya dan ketersediaannya yang rendah. Namun pewarnaan ini memiliki kelemahan seperti hasil yang kurang baik dari apusan sperma kemudian diwarnai dengan *Diff-Quick*, akan menghambat dalam penggunaannya dalam mengevaluasi morfologi sperma (Mazzuchini *et al.*, 2024). *Diff-Quick* merupakan pewarnaan basa, memiliki kandungan kationik seperti azure B atau *methylene blue* yang bersifat non bio-degradable, bersifat toksik yang menyebabkan mutasi genetik, iritasi saluran pernapasan, dan berpengaruh pada reproduksi. Efek yang dapat

ditimbulkannya adalah seperti sakit kepala, sesak napas, dan mual pada perut (Azka *et al.*, 2021)

Safranin memiliki beberapa kekurangan, yaitu harganya mahal, mudah rusak, dan sulit disimpan (Al Kausar *et al.*, 2022). Kristal Violet termasuk kedalam molekul yang sukar dimetabolisme oleh mikroorganisme sehingga dapat bertahan di berbagai lingkungan (Irawati, 2018). Giemsa pun memiliki sifat toksik, mudah terbakar dan menguap, juga menurunkan kualitas pewarnaan bila tidak disimpan dengan baik (Aini *et al.*, 2023)

Untuk meminimalisir dampak negatif tersebut, dapat menggunakan pewarna alternatif alami yang berasal dari tumbuhan. Beberapa penelitian sudah membuktikan bahwa proses pewarnaan dapat menggunakan pewarna alami. Salah satunya adalah

pemanfaatan ekstrak bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) sebagai pengganti *Diff-Quick* pada sediaan sitologi. Bunga sepatu memiliki kandungan antosianin yang diperoleh dengan mengekstraknya menggunakan pelarut etanol dan memberikan hasil visual berwarna ungu (Mutoharoh *et al.*, 2020).

Adapun pengganti *Papanicolou* yaitu dengan menggunakan buah bit, kayu secang, dan kubis ungu. Buah bit terkenal dengan betasianin, betasianin juga terdapat pada buah naga merah. Betasianin juga dapat menjadi pengganti noda counter untuk sperma. Kayu secang mengandung pigmen merah brazilein. Kubis ungu mengandung pigmen antosianin (Mamay *et al.*, 2023).

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) biasa dikenal juga dengan *Pitaya* dalam Bahasa Latin. Buah ini

merupakan buah yang kandungan di dalamnya kaya akan betalain. Selain pada buahnya, pada kulit buah naga juga memiliki banyak manfaat, salah satunya menjadi pewarna alami. Buah naga jenis ini disebut kaya akan zat betalain. Betalain merupakan pigmen kelompok alkaloid yang larut dalam air, pigmen bernitrogen, dan sebagai pengganti antosianin. Betasianin merupakan pigmen berwarna merah-violet dan kuning-orange, biasanya terdapat pada buah, bunga dan jaringan vegetatif. Betalain dan antosianin belum pernah dijumpai pada satu tanaman yang sama (Sandy *et al.*, 2021).

Bagian dari buah naga yang sering digunakan adalah dagingnya, sedangkan kulitnya dibiarkan begitu saja. Pemanfaatan kulit buah naga untuk menjadi bahan dasar pewarna alami merupakan langkah yang tepat.

Hal ini dikarenakan kulit buah naga yang jarang digunakan atau lebih umumnya dibuang. Pada kulit buah naga juga terkandung betasianin yang menghasilkan pigmen berwarna merah dan dapat digunakan sebagai pewarna alami (Asra *et al.*, 2019).

Pembuatan pewarna alami dapat melalui ekstraksi dengan menambahkan beberapa zat pelarut. Komposisi yang digunakan untuk pelarut adalah ethanol, mordant tawas, dan air. Selain itu terdapat penelitian pada ubi jalar ungu dengan komposisi pelarut ethanol, asam asetat, dan air. Hasil penelitian tersebut diperoleh ekstrak warna ubi jalar ungu lebih stabil dalam keadaan pH asam (Winarti *et al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka perlu dilakukan penelitian tentang Pengaruh Asam Asetat Terhadap

Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa Menggunakan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*).

1.1 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*)?

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan Umum

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

1.2.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

- 1). Mengetahui pengaruh adanya penambahan asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa (kepala, leher, dan ekor) menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
- 2). Mengetahui pengaruh tidak adanya penambahan asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa (kepala, leher, dan ekor) menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).
- 3). Mengetahui pengaruh ada dan tidaknya penambahan asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terutama dalam bidang mikrobiologi dan kimia klinik mengenai perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat.

1.3.2 Manfaat Praktis

Hasil yang baik pada penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam menjadikan ekstrak kulit buah naga untuk dijadikan sebagai alternatif dalam pemeriksaan cairan spermatozoa di laboratorium.

METODOLOGI PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian ini bersifat eksperimental yaitu dengan cara melihat ada tidaknya perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah dengan penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat.

Variabel Penelitian

Variabel Bebas

Metode pewarnaan dengan penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat pada pemeriksaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah.

Variabel Terikat

Kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah dengan penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat.

Definisi Operasional

lingkungan kampus STIKes Karsa

Variabel	Definisi Variabel	Metode Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa	Kualitas pewarnaan morfologi dilihat dari struktur (kepala, leher dan ekor) spermatozoa yang diwarnai dengan menggunakan ekstrak kulit buah naga merah dengan penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat.	Mikroskopis	Mikroskop	0 = buruk atau tidak terwarnai 1 = tidak baik atau tidak jelas terwarnai 2 = baik atau jelas terwarnai 3 = sangat baik atau sangat jelas terwarnai	Ordinal
Metode pewarnaan morfologi spermatozoa	Metode pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah tanpa penambahan asam asetat dan tanpa penambahan asam asetat.	-	-	1= ekstrak dengan asam asetat 2= ekstrak tanpa asam asetat	Nominal

Populasi dan Sampel Penelitian

Husada Garut.

Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pria yang ada di sekitar

Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sperma yang diambil dari 13 pria yang berada di sekitar lingkungan

kampus di STIKes Karsa Husada Garut. Jumlah sampel yang digunakan mengikuti panduan Roscoe yaitu untuk penelitian eksperimental sederhana dengan kontrol yang ketat, penelitian yang sukses adalah mungkin dengan ukuran sampel kecil antara 10 sampai dengan 20 buah. Kemudian menurut Gay dan Diehl penelitian eksperimental, minimum sampel 15 subyek per group.

Berdasarkan pendapat tersebut, maka peneliti memutuskan untuk mengambil sampel dari minimal kelayakan sampel untuk penelitian yaitu sebanyak 13 sampel dengan kriteria inklusi sebagai berikut:

1. Subjek bersedia sebagai responden dan mengisi kuisioner.

2. Sampel sperma diperoleh dari subjek yang berusia diatas 20 tahun.

3. Sampel sperma diperoleh dari subjek yang melakukan puasa tidak mengeluarkan sperma selama 2-7 hari.

4. Sampel sperma diperoleh dengan cara masturbasi dan ditampung dengan menggunakan pot sampel yang bersih dan steril.

5. Sampel yang didapat diperiksa secara mikroskopis terlebih dahulu untuk memastikan sampel tidak azoospermia.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Kampus 1 STIKes Karsa Husada Garut pada bulan Juni-Oktober 2023.

Instrumen Penelitian

Alat

Alat yang akan digunakan adalah : neraca analitik, mikroskop, tabung *centrifuge*, kompor, panci, objek glass, cover glass, pipet tetes, mikropipet, pot sampel, gelas kimia, erlenmeyer, corong, *staining jar*, batang pengaduk, spatula, tissue, dan rak pewarnaan.

Bahan

Bahan yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah : kulit buah naga merah, etanol, aquadest, dan mordant tawas.

Cara Pengumpulan Data

Prosedur Pengumpulan Sampel

Pengambilan data ini akan dilakukan dengan memberikan lembar kertas yang berisi *informed consent* dan kuisioner untuk diisi lalu ditandatangani terlebih dahulu oleh responden sesuai kriteria inklusi. Sampel akan diambil ketika responden sudah melakukan puasa abstinensia sesuai dengan kriteria inklusi yang di dapat perlu dicatat dengan waktu ejakulasinya.

Prosedur Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Kulit buah naga merah dipotong kecil-kecil ditimbang sebanyak 100 gr dan ditambahkan 100 ml aquades lalu direbus selama 15 menit. Kemudian disaring menggunakan kain dan diambil air perasannya. Prosedur pembuatan ekstraksi dengan menyiapkan air perasan kulit buah naga merah sebanyak 100 ml. Komposisi yang

digunakan adalah dengan menambahkan pelarut etanol 5 ml, mordant tawas 10 gr, dan asam asetat 5 ml. Kemudian wadah dibungkus dengan alumunium foil dan disimpan di tempat yang gelap selama 24 jam. Setelah di diamkan selama 24 jam, ekstrak kulit buah naga dilakukan pemisahan antara supernatan dan endapan melalui sentrifugasi menggunakan kecepatan 2000 rpm dengan waktu 10 menit. Ekstraksi telah jadi dan dapat digunakan untuk pewarnaan morfologi spermatozoa.

Sedangkan untuk pembanding, digunakan prosedur yang hampir sama. Prosedur persiapan ekstraksi dilakukan dengan menyiapkan air perasan kulit buah naga merah sebanyak 100ml yang kemudian ditambahkan pelarut etanol 5ml, dan mordant tawas 10 gram. Pada komposisi pembanding ini tidak

ada penambahan asam asetat. Setelah itu, wadah dibungkus dengan alumunium foil dan disimpan ditempat yang gelap selama 24 jam. Selanjutnya ekstrak di sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan antara cairan ekstraksi dan endapan. Dari proses ini, didapatkan ekstrak kulit buah naga merah yang siap digunakan untuk pewarnaan morfologi spermatozoa.

Prosedur Pewarnaan Morfologi Spermatozoa

Cairan semen yang akan dilakukan pewarnaan dibiarkan selama 60 menit terlebih dahulu untuk proses likuefaksi. Selanjutnya dibuat apusan dengan menggunakan tetesan 10–20 ul cairan semen kemudian dioleskan pada slide kaca yang bersih. Preparat apusan sperma difiksasi dalam etanol 95% selama 5 menit.

Apusan diwarnai dengan ekstrak kulit buah naga merah selama 30 menit pada suhu kamar setelah itu, dicuci dengan air keran. Hasil pewarnaan dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran total 1000x, sehingga diperoleh skor kualitas hasil pewarnaan.

Penilaian Kualitas Hasil Pewarnaan Spermatozoa

Penilaian kualitas hasil pewarnaan spermatozoa yang dihasilkan melalui proses mikroskopis dapat dilihat dari kejelasan warna pada morfologi spermatozoa seperti pada bagian kepala, leher (badan) dan ekor diantaranya buruk dengan skor 0, tidak baik dengan skor 1, baik dengan skor 2, dan sangat baik dengan skor 3. Kemudian penilaian terhadap metode pewarnaan yaitu jika hasil pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga merah

dengan penambahan asam asetat baik diberi skor 1, dan jika menggunakan pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga merah tanpa asam asetat menunjukkan hasil baik diberi skor 2. Penilaian ulang slide smear sperma dari setiap pewarnaan dievaluasi oleh 3 orang mahasiswa STIKes Karsa Husada Garut jurusan Analisis Kesehatan.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa kategorik akan dianalisis data dengan persentase kualitas hasil. Persentase kualitas hasil akan digunakan untuk menganalisis hasil-hasil, pengamatan yang dapat di nilai dengan skor. Jika buruk dengan skor 0, tidak baik dengan skor 1, baik dengan skor 2, dan sangat baik skor 3.

Data yang telah di dapatkan dibuat persentase dan ditafsirkan dengan kriteria sebagai berikut :

100 % : Seluruhnya
76-99% : Hampir seluruhnya
51-75% : Sebagian besar
50% : Setengah
26-49% : Hampir setengahnya
1-25% : Sebagian kecil

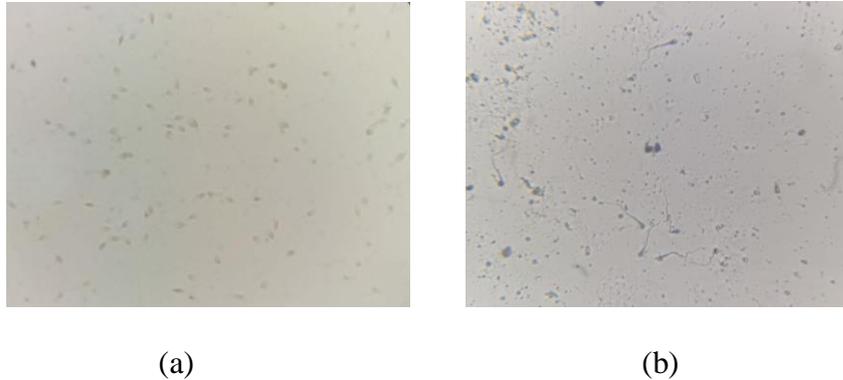
Data yang diperoleh berupa kategorik akan dianalisis data dengan uji Wilcoxon. Uji Wilcoxon digunakan untuk menganalisis hasil-

Hasil Penelitian

Penelitian pengaruh asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan sampel cairan sperma yang diperoleh dari 13 subjek ini telah dilakukan di Laboratorium Klinik STIKes Karsa Husada Garut. Berikut merupakan gambar hasil

hasil pengamatan yang berpasangan dari dua data apakah berbeda atau tidak. Jika nilai Asymp.sig. (2-tailed) lebih kecil dari $<0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Sebaliknya jika nilai Asymp.sig. (2-tailed) lebih besar dari $> 0,05$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstraksi kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).



Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan

Keterangan :

(a) menggunakan penambahan asam asetat, (b) tanpa penambahan asam asetat.

Persentase Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Penambahan Asam Asetat

Penilaian dilakukan dengan memberikan skor pada apusan yang telah diwarnai dengan ekstrak kulit buah naga ada penambahan asam

asetat. Data skor yang diperoleh kemudian dikumpulkan. Setelah terkumpul dilakukan perhitungan persentase kualitas hasil pewarnaan. Berikut merupakan tabel persentase kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga dengan penambahan asam asetat.

Tabel 4.1 Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Penambahan Asam Asetat
Kualitas Pewarnaan (%)

Morfologi	Sangat baik	Baik	Tidak Baik	Buruk	Total
Kepala	5,13%	20,51%	5,13%	2,56%	33,33%
Leher	2,56%	10,26%	17,95%	2,56%	33,33%
Ekor	2,56%	10,26%	17,95%	2,56%	33,33%
Jumlah	10,25%	41,03%	41,03%	7,68%	99,99%

Pada tabel 4.1 menguraikan nilai kualitas hasil pewarnaan morfologofologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah menggunakan penambahan asam asetat. Kualitas hasil pewarnaan sangat baik mencapai 10,25%, sedangkan pada kualitas hasil pewarnaan baik mencapai 41,01%. Persentase kualitas hasil pewarnaan tidak baik mencapai 41,03% dan kualitas buruk sebesar 7,68%.

Persentase Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit

Buah Naga Merah Tanpa Penambahan Asam Asetat

Penilaian dilakukan dengan memberikan skor pada apusan yang telah diwarnai dengan ekstrak kulit buah naga tanpa ada penambahan asam asetat. Data skor yang diperoleh kemudian dikumpulkan. Setelah terkumpul dilakukan perhitungan persentase kualitas hasil pewarnaan. Berikut merupakan tabel persentase kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga tanpa penambahan asam asetat.

Tabel 4.2 Hasil Pewarnaan
Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Tanpa
Penambahan Asam Asetat
Kualitas Pewarnaan (%)

Morfologi	Sangat baik	Baik	Tidak Baik	Buruk	Total
Kepala	5,13%	20,51%	5,3%	2,56%	33,33%
Leher	2,56%	5,13%	23,07%	2,56%	33,32%
Ekor	2,56%	12,82%	15,38%	2,56%	33,32%
Rata-rata	10,25%	38,46%	43,58%	7,68%	99,97%

Setelah mendapatkan data skor, kemudian dilakukan perhitungan persentase. Nilai persentase diperoleh dan disajikan pada tabel 4.1 dan 4.2, kemudian dilakukan perhitungan menggunakan Uji Wilcoxon. Berikut merupakan tabel hasil perhitungan Uji Wilcoxon.

Tabel 4.2 menguraikan nilai kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah tanpa adanya penambahan asam asetat. Persentase pada kualitas sangat baik sebesar 10,25%. Pada kualitas baik mencapai 38,46%. Sedangkan pada kualitas tidak baik nilai persentase sebesar 43,58% dan pada kualitas hasil buruk mencapai 7,68%.

Hasil Uji Statistik Wilcoxon

**Perbandingan Pewarnaan
Morfologi Spermatozoa**

Tabel 4.3 Hasil Uji Wilcoxon Perbandingan Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Tanpa Penambahan Asam Asetat

Kepala	Z	.000 ^b
	<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	1.000
	Z	-.707 ^b
Leher	<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	.480
	Z	-.378 ^b
Ekor	<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	.705

Berdasarkan hasil penilaian melalui uji Wilcoxon pada penilaian morfologi sperma yaitu kepala, leher dan ekor, diperoleh skor yang berbeda-beda. Nilai dari ketiga bagian morfologi spermatozoa tersebut adalah 1; 0,480; dan 0,705. Akan tetapi, ketiga nilai tersebut menunjukkan lebih dari 0,05 (>0,05). Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa H_1 ditolak dan H_0 diterima, yaitu tidak ada pengaruh asam asetat terhadap kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan

ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Pembahasan

Infertilitas merupakan suatu keadaan pasangan suami istri yang telah menikah selama satu tahun lebih, melakukan hubungan seksual secara teratur, tanpa memakai kontrasepsi, tetapi belum dikaruniai anak. Faktor penyebab infertilitas ini dapat berasal dari suami, istri, ataupun keduanya. Infertilitas juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti merokok, gaya hidup, dan

genetik (bawaan) (Sulelino & N. Rumansara, 2022).

Analisa spermatozoa dilakukan untuk mengetahui kualitas sperma pada seorang pria untuk mengatasi infertilitas. Sperma merupakan sel yang dihasilkan oleh system reproduksi pria. Salah satu fungsi sperma adalah mentransfer DNA dari jantan ke sel telur pada proses pembuahan. Struktur sel sperma meliputi kepala, leher, ekor. Kualitas spermatozoa yang buruk merupakan salah satu penyebab kemandulan atau infertilitas pada pria (Zhafirah *et al.*, 2023).

Pemeriksaan spermatozoa meliputi makroskopis dan mikroskopis. Parameter pada pemeriksaan secara makroskopis diantaranya adalah volume ejakulat, pH, viskositas atau kekentalan, dan likuifaksi. Sedangkan parameter

pemeriksaan spermatozoa secara mikroskopis yaitu motilitas atau pergerakan sperma, dan morfologi sperma atau bentuk sperma. Pemeriksaan motilitas dilakukan secara praktis, yaitu dengan meneteskan sampel sperma ke atas kaca objek, ditutup dengan cover glass, dan diamati dibawah mikroskop. Setelah itu akan tampak motilitas pada sperma. Motilitas pada sperma dapat dikategorikan sebagai a) gerakan cepat dan maju lurus, b) gerakan lambat atau sulit maju lurus, c) tidak bergerak maju atau bergerak ditempat, d) tidak bergerak sama sekali (Rusman, 2019)

Pada pemeriksaan morfologi sperma dapat dilakukan dengan penambahan zat pewarna. Tujuan penambahan zat warna ini adalah untuk memperjelas morfologi atau bentuk kepala, leher, dan ekor

sperma. Zat pewarna yang akan digunakan pada proses pewarnaan spermatozoa biasanya merupakan zat pewarna sintetis atau yang sudah tersedia dan siap pakai. Namun pewarna sintetis tersebut memiliki dampak negatif yang cukup signifikan terhadap tubuh. Dalam menangani permasalahan tersebut, kita mendapatkan alternatif dengan menggunakan zat pewarna alami yang berasal dari tumbuhan.

Kulit buah naga sering dibiarkan tidak diolah dan berakhir menjadi sampah. Padahal, kulit buah naga mengandung zat warna betasianin yang hampir sama dengan daging buah naga yang dapat memberikan warna (Novi Yanty *et al.*, 2017). Untuk membuat pewarna alami, pada penelitian ini kulit buah naga perlu melewati tahap ekstraksi dengan penambahan zat pelarut

seperti ethanol, mordan tawas, dan asam asetat. Asam asetat digunakan dalam beberapa pembuatan zat pewarna alami, karena dapat membuat suatu larutan menjadi pekat. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh asam asetat pada pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Pada gambar 4.1 terlihat kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah. Adapun yang membedakan dari hasil tersebut yaitu pada komposisi, pada gambar (a) pada komposisi ekstrak kulit buah naga menggunakan penambahan zat pelarut asam asetat. Sedangkan pada gambar (b) pada komposisi ekstraksi kulit buah naga merah tanpa penambahan zat pelarut asam asetat.

Kedua gambar tersebut terlihat tidak ada perbedaan yang cukup signifikan.

Hal ini juga dibuktikan dengan hasil uji Wilcoxon pada penilaian hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah. Pada morfologi leher diperoleh *Asymp* 1. Nilai tersebut $>0,05$ dan menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh asam asetat pada pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah. Diperoleh morfologi kepala spermatozoa berbentuk oval. Kepala spermatozoa tersebut mengandung nukleus dan akrosom. Nukleus memiliki jumlah kromosom haploid ($2n$) yang mengandung protamin sehingga pengemasan kromatin berlangsung secara padat. Sedangkan akrosom mengandung enzim akrosin,

hyaluronidase, dan *Corona Penetrating Enzyme* (CPE) yang berperan dalam fertilisasi. Akrosom merupakan kantong yang memiliki membrane dua lapis yang terletak pada ujung anterior dan meliputi dua pertiga bagian kepala sperma.

Hasil uji Wilcoxon pada morfologi leher diperoleh nilai *Asymp* 0,480. Nilai tersebut $>0,05$ yang menunjukkan tidak adanya pengaruh asam asetat pada pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah. Leher sperma atau juga *Connecting piece*. Bagian ini merupakan bagian penghubung antara kepala dan ekor spermatozoa. Pada gambar 4.1 leher sperma tidak begitu tampak jelas meskipun telah diwarnai.

Adapun hasil uji Wilcoxon pada morfologi ekor diperoleh nilai *Asymp* 0,705. Nilai *Asymp* tersebut juga

>0,05 yang menunjukkan tidak adanya pengaruh asam asetat pada pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah. Ekor sperma terbagi menjadi tiga bagian, yaitu *Mid piece*, *Principal piece*, dan *End piece* (Susilawati, 2022)

Ketiga bagian morfologi spermatozoa yang telah dilakukan pewarnaan menggunakan ekstrak kulit buah naga merah menunjukkan nilai >0,05. Nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh asam asetat terhadap hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga. Pada gambar 4.1 pun terlihat bahwa tidak ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah dengan penambahan asam asetat maupun tanpa asam asetat. Rata-rata

persentase pada tabel 4.1 dan 4.2 kualitas hasil pewarnaan termasuk kriteria yang sama, yaitu hampir setengahnya tidak terwarnai dengan baik. Sehingga tidak menimbulkan pengaruh yang cukup signifikan.

Pada penelitian lain dilakukan penelitian dengan memanfaatkan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna alami. Pewarnaan tersebut dilakukan terhadap sediaan apusan epitel mulut ayam. Penelitian ini menjadikan *Papanicolou* sebagai pembanding, dan alkohol 70% sebagai pelarut, tanpa ada penambahan asam asetat. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah konsentrasi yang baik digunakan untuk pewarnaan sediaan sitologi adalah konsentrasi 1:3. Konsentrasi ini memiliki komposisi 25 ml ekstrak kulit buah naga merah sebagai larutan uji dengan

penambahan alkohol 70% sebanyak 75 ml (Permatasari *et al.*, 2022) .

Adapun penelitian lain pewarnaan sediaan pada sediaan feses babi dengan memanfaatkan daging dan kulit buah naga sebagai pengganti eosin 2%. Daging dan kulit buah naga di ekstrak dan ditambahkan pelarut yang sama, yaitu etanol, methanol, dan etil asetat). Eosin 2% digunakan sebagai control. Hasil yang diperoleh adalah, pada sediaan dengan pewarnaan eosin 2% diperoleh telur *Ascaris lumbricoides* yang berasal dari feses babi tidak begitu jelas karena warna yang dihasilkan pekat. Sedangkan hasil pewarnaan ekstrak daging buah naga terlihat telur cacing *Ascaris lumbricoides* sangat jelas, dan tidak menghasilkan warna terlalu pekat. Adapun hasil pewarnaan ekstrak kulit buah naga pada sediaan warna merah

maupun ungu tidak muncul kembali (Wahyuni & Sabban, 2022).

Hal tersebut dipicu karena kandungan betasianin pada kulit buah naga tidak sebanyak pada daging buah naga. Selain itu, penggunaan etil asetat dapat menyebabkan sediaan akan mengering sebelum diamati. Sehingga sediaan yang ditambahkan pelarut asetat akan akan menguap dan sulit diamati. Perbandingan ketiga jenis penelitian tersebut terlihat dari komposisi. Pada penelitian pewarnaan menggunakan ekstrak kulit buah naga pada sediaan apusan epitel mulut ayam (Permatasari *et al.*, 2022) dan telur cacing merupakan ekstraksi berbasis alkohol (Wahyuni & Sabban, 2022). Terlihat pada penggunaan alkohol yang lebih banyak daripada air. Sedangkan pada penelitian ini berbasis air. Kandungan air lebih banyak daripada alkohol.

Selain perbedaan kandungan pelarut, hal yang harus diperhatikan adalah tingkat keasaman atau pH. pH dapat mempengaruhi hasil pada pewarnaan. Kulit buah naga memiliki pH yang berbeda dengan dagingnya. Pada kulit buah naga kandungan pH sebesar 6,4 sedangkan pada daging buah naga 5,3. Lingkungan yang semakin asam akan mengakibatkan dinding sel vakuola pecah sehingga pigmen betasianin semakin keluar. Hal yang harus diperhatikan selain pH adalah stabilitas betasianin, kadar gula, kadar garam, dan teknik pewarnaan. (Wahyuni & Sabban, 2022).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah

naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang ditambahkan asam asetat hampir setengahnya baik dan tidak baik.

2. Kualitas pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang tidak ditambahkan asam asetat hampir setengahnya baik dan tidak baik.

3. Tidak ada pengaruh signifikan antara penambahan asam asetat dengan tidak ada penambahan asam asetat pada pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Saran

Berdasarkan hasil penelitian “Pengaruh Asam Asetat Terhadap Kualitas Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) diperoleh saran sebagai berikut :

1. Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk

memperhatikan pH, stabilitas betasianin, kadar gula, kadar garam, serta teknik pewarnaan.

2. Disarankan untuk peneliti selanjutnya, untuk mengembangkan komposisi pelarut seperti alkohol agar tercipta komposisi terbaik.

Daftar Pustaka

- Agne, E. B. P., Hastuti, R., & Khabibi. (2015). Ekstraksi dan Uji Kestabilan Zat Warna Betasianin dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) serta Aplikasinya sebagai Pewarna Alami Pangan. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 13, 51–56.
- Aini, N., Khasanah, H., Husen, F., & Yuniati, N. I. (2023). Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Infusa Bunga Telang (*Clitorea ternatea*). In *Jurnal Kesehatan Dan Science: Vol. XIX* (Issue 1).
- Aji, A., Bahri, S., & Tantalia. (2017). Pengaruh Waktu Ekstraksi Dan Konsentrasi Hcl Untuk Pembuatan Pektin Dari Kulit Jeruk (*Citrus maxima*). *Jurnal Teknologi Unimal*, 6 : 1, 33–44.
- Akbar, A. (2020). Gambaran Faktor Penyebab Infertilitas Pria Di Indonesia : Meta Analisis. *Jurnal Pandu Husada*, 1(2), 66.
- Al Kausar, R., Pratama Putri Surya, S., Tata Eriantika, H., Bela Santika, A., Indah Prestrisiyani, E., Alfio Nita Program Studi Analisis Farmasi dan Makanan, Y., Ilmu Kesehatan, F., & Malahayati Korespondensi Penulis, U. (2022). Penyuluhan Zat Pewarna Alami Makanan Dan Minuman. In *Journal Of*

- Public Health Concerns* (Vol. 2, Issue 3).
- Arios, R., Tomuka, D., & Kristanto, E. (2014). Efektivitas Deteksi Spermatozoa Menggunakan Pewarnaan Malachite Green. *Jurnal E-Clinic*, 2(No.2).
- Asra, R., Yetti, R. D., Rusdi, R., Audina, S., & Nessa, N. (2019). Studi Fisikokimia Betasianin Dalam Kulit Buah Naga dan Aplikasinya Sebagai Pewarna Merah Alami Sediaan Farmasi. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 140–146.
- Astuti, T. P., Apriani, I., Fadhilah, N., & Wendira, M. (2018). Modifikasi Metode Preparasi Pewarnaan Kromosom Pada Akar Kangkung (*Ipomoea reptans*). *Seminar Nasional Sains Dan Teknologi Terapan 20 Oktober 2018*, 107–112.
- Azka, E. N., Mandasari, A. A., & Santoso, S. D. (2021). Juni 2021 Seminar Nasional & Call Paper Fakultas Sains dan Teknologi. In *Procedia of Engineering and Life Science* (Vol. 1, Issue 2).
- Diarti, W. M., Yustin Tatontos, E., Turmuji, A., Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Mataram, J., & Prabu Rangkasari Dasan Cermen Sandubaya Mataram, J. (2016). Larutan Pengencer Alternatif NaCl 0,9 % Dalam Pengecatan Giemsa Pada Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa. In *Jurnal Kesehatan Prima* (Vol. 10, Issue 2).
- Fauziyah, R., Widyasanti, A., & Rosalinda, S. (2022). Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Sisa Pelarut dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). *Jurnal Kimia UNPAD*.
- Febriyanto, T., Farizal, J., & Laksono, H. (2023). Pengaruh Kebiasaan Merokok Dengan Analisa Morfologi Sperma Pada Cairan Semen Perokok Aktif Di Kota Bengkulu Prodi D-III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bengkulu. *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat*.
- Hatta, Moch. (2020). *Penentuan Abnormalitas Pergerakan Spermatozoa Manusia Berbasis Regresi Linier. Tesis*, (1-10)
- Mamay, Ernawati, & Nurisani, A. (2023). Potential of Sappan Wood, Purple Cabbage and Beetroot Extract in Sperm Staining. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 5(2), 100–111.
- Mazzuchini, M., Novello, G., & Segabinazzi, L. (2024). Modified diff-quick staining for canine sperm morphology. *Clinical Theriogenology*, 16. *Clinical Theriogenology*.

- Mutoharoh, L., Santoso, S. D., & Mandasari, A. A. (2020). Pemanfaatan Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Sebagai Alternatif Pewarna Alami Sediaan Sitologi Pengganti Eosin Pada Pengecatan Diff-Quick. *Jurnal SainHealth*, 4(2).
- Novi Yanty, Y., Ade Siska Ji Indragiri Gang, V., & Padang Harapan Kota Bengkulu, S. (2017). *Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus Polyrhizus) Sebagai Antioksidan Dalam Formulasi Sediaan Lotion*. 3(2), 166–172. *Jurnal Ilmiah Manuntung*.
- Noviyanty, A., & Salingkat Anggraini, C. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Ekstraksi Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) [The Effect of Solvent Type to The Quality of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus polyrhizus*) Extracts]. *KOVALEN*, 5(3), 271–279.
- Pakpahan, C. (2019). *Continuing Professional Development Akreditasi PP IAI-2 SKP Peranan Antioksidan Koenzim Q10 dalam Tatalaksana Infertilitas Pria* (Vol. 46, Issue 12).
- Panggabean, P. C. T., Soeng, S., & Ivone, D. J. (2015). *Efek Paparan Timbal terhadap Infertilitas Pria*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol.8 No.1 Juli 2015: 87 - 93
- Permatasari, R., Suriani, E., & Adinda, H. (2022). Potensi Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Papanicolaou Terhadap Sediaan Apusan Epitel Mulut Ayam. *Jurnal Kesehatan JOMPA*, 1. No.1(p-ISSN 2830 5744 e-ISSN 2830 5558).
- Putra, C. B. N., & Manuaba, I. B. G. F. (2017). Gambaran Analisa Sperma Di Klinik Bayi Tabung Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Tahun 2013. *E-Jurnal Medika*, 6(No. 5), 3–5.
- Rahmadiani, D. (2021). Ekstrak Pollen Kurma (*Phoenix dactylifera* L) Sebagai Terapi Infertilitas Pada Pria. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(1), 31–40.
- Respati, G. (2015). Keberhasilan Program Fertilisasi In Vitro Di Klinik Infertilitas FK Undip - Rs Dr Kariadi Dan Rs Telogorejo Semarang. *Tesis*, 1–63.
- Ridhoila, I., & Amir, A. (2017). Perbandingan Kualitas Spermatozoa Pada Analisis Semen Pria Dari Pasangan Infertil Dengan Riwayat Merokok Dan Tidak Merokok. In *Jurnal Kesehatan Andalas* (Vol. 6, Issue 2).
- Rondonuwu, H., Mallo, J. F., & Kristanto, E. G. (2016). Motilitas Spermatozoa Pasca

- Ejakulasi Terkait Kepentingan Forensik Pasca Tindak Kekerasan Seksual. In *Jurnal e-Clinic (eCl)* (Vol. 4, Issue 1).
- Rusman, K. (2019a). Pengaruh Aktivitas Merokok Terhadap Hasil Analisa Sperma Pada Kasus Infertilitas Pria di Makassar. *UMI Medical Journal: Jurnal Kedokteran*, 4(2).
- Rusman, K. (2019b). Pengaruh Aktivitas Merokok Terhadap Hasil Analisa Sperma Pada Kasus Infertilitas Pria di Makassar. *UMI Medical Journal: Jurnal Kedokteran*, 4(2).
- Saleha, R., Farmasi, P., Pancasakti Makassar, U., & Farmasi Yamasi Makassar, A. (2023). Analisis Kadar Asam Asetat Dan Alkohol Pada Apel Manalagi (*Malus sylvestris mill.*) Berdasarkan Variasi Waktu Fermentasi. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 7(2), 46–53.
- Sandy Sisih Mehita, C., Bahri, S., & Nurlaila, R. (2021). Pengambilan Zat Betasianin Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrrhizus*) Sebagai Pewarna Makanan Alami Dengan Metode Ekstraksi. In *Chemical Engineering Journal Storage* (Vol. 1, Issue 2).
- Sari, K. Y. (2017). *Jurnal Media Sains* 1 (2): 71-76 Struktur Morfologi Bunga Dan Anatomi Serbuk Sari Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*). *Jurnal Media Sains*.
- Shari, A. (2022). Seleksi Spermatozoa Pada Fertilisasi In Vitro (IVF). In *Indonesian Journal of Health Science* (Vol. 2, Issue 1).
- Sigarlaki, E. D., Tjiptaningrum, A., Edgar, K. :, & Sigarlaki, D. (2016). Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrrhizus*) terhadap Kadar Kolesterol Total The Effect of The Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrrhizus*) to Total Cholesterol Levels. In *Hylocereus polyrrhizus terhadap Kadar Kolesterol Total Majority* / (Vol. 5).
- Sukmawati, W. (2019). Analisis level makroskopis, mikroskopis dan simbolik mahasiswa dalam memahami elektrokimia. *Jurnal Inovasi Pendidikan IPA*, 5(2).
- Sulelino, R., & N. Rumansara, L. (2022). Pelayanan Pemeriksaan Sperma Rutin Bagi Pasangan Yang. *Jurnal Pengabdian Papua* , 6(No. 3 ISSN 2550-0082 e-ISSN 2579-9592), 90–96.
- Susilawati, T. (2022). *Spermatologi*. Malang : UB Press.
- Thamrin, R., & Lukas, H. (2024). Perbandingan Hasil Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa Manusia Menggunakan Metode Pewarnaan Papanicolaou, Diff Quik, Dan Safranin-

- Kristal Violet Pada Pasien Infertil di Klinik Telkomedika Ratulangi Makassar. *Jurnal Ilmiah Ecosystem*, 24(1), 195–213.
- Wahyuni, I. N., & Sabban, I. F. (2022). Efektivitas Hasil Pewarnaan Sediaan Feses Dengan Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pengganti Eosin. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains Dan Kesehatan*, 9(2), 115.
- Wardiyah, A., Aryanti, L., Khoirudin, P., Ade Dea, M., & penulis, K. (2022). Penyuluhan kesehatan tentang pentingnya menjaga kesehatan alat reproduksi. In *Journal Of Public Health Concerns* (Vol. 2, Issue 1).
- Wasito, B., & Sarwanto. (2015). *Spermiogram Pria Infertil Di Laboratorium Infertil*. *Bul. Penel. Kesehatan*, Vol. 36, No. 3, 2008:106
- Winarti, S., Sarofa, U., Dhini Anggrahini, dan, Teknologi Pangan, J., Teknologi Industri, F., & Jl Raya Rungkut Madya, J. (2015). Ekstraksi Dan Stabilitas Warna Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) Sebagai Pewarna Alami. In *Jurnal Teknik Kimia* (Vol. 3, Issue 1).
- Wusnah, Meriatna, & Lestari, R. (2018). Pembuatan Asam Asetat Dari Air Cucian Kopi Robusta Dan Arabika Dengan Rposes Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 7 No 1 (Mei 2018), 61–72.
- Yulianti, H., Hastuti, R., & Widodo, D. S. (2015). Ekstraksi dan Uji Kestabilan Pigmen Betasianin dalam Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) Serta Aplikasinya Sebagai Pewarna Tekstil. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 3(1410–8917), 84–89.
- Zhafirah Bayan, A., Nasruddin, K., Mappaware, A., Arfah, A. I., Royani, I., Diyana, I., & Kamaluddin, K. (2023). Efek Konsumsi Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) Terhadap Kuantitas dan Kualitas Sperma. *Fakumi Medical Journal*