

**PERBANDINGAN PEWARNA ALAMI KULIT BUAH NAGA MERAH
(*Hylocereus Polyrhizus*) DENGAN PAPANICOLOU DALAM PEMERIKSAAN
MORFOLOGI SPERMATOZOA**

ABUD HERYANTO

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

Jl. Nusa Indah No.24 Tlp. 0262-4704803, 0262-235860 Garut – Jawa Barat

Email : mr.abudheryanto@gmail.com

ABSTRAK

PERBANDINGAN PEWARNA ALAMI KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus Polyrhizus*) DENGAN PAPANICOLOU DALAM PEMERIKSAAN MORFOLOGI SPERMATOZOA

Pemeriksaan spermatozoa merupakan salah satu pemeriksaan yang penting untuk kesuburan pria, yang mencakup pada pemeriksaan penentuan volume, warna, ph, viskositas, motilitas, dan morfologi sperma. Morfologi spermatozoa dievaluasi berdasarkan dengan adanya struktur kepala, leher dan ekor. Pedoman pemeriksaan WHO menjadi *Gold standard* atau referensi pemeriksaan untuk menganalisis kelainan sperma. Ada beberapa metode yang direkomendasikan oleh WHO antara lain pewarnaan *Papanicolou*, pewarnaan *Diff-Quick*, dan pewarnaan Safranin-kristal violet untuk pewarnaan spermatozoa. Namun penggunaan pewarna sintetis tersebut menghasilkan limbah yang dapat merugikan lingkungan dan sumber air. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan membandingkan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan pewarna alami ekstrak kulit buah naga merah dan *papanicolou*. Ekstrak kulit buah naga merah dibuat dengan komposisi pelarut etanol, mordan tawas dan asam asetat. Hasil penelitian menunjukkan pewarnaan menggunakan ekstrak kulit buah naga merah memberikan hasil sebagian besar pada morfologi kepala spermatozoa terwarnai sangat baik, kemudian pada bagian leher dan ekor spermatozoa terwarnai dengan baik. Dari hasil uji Wilcoxon didapatkan nilai *Asymp. sig (2-Tailed)* adalah >0.05 maka H_0 diterima dan H_a ditolak maka dinyatakan tidak ada perbedaan. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan antara pewarnaan morfologi spermatozoa yang menggunakan *Papanicolou* dan ekstrak kulit buah naga merah. Sehingga perlu dilakukan beberapa optimasi supaya pewarnaan lebih maksimal.

Kata Kunci : *Papanicolou*, Ekstrak Kulit Buah Naga Merah, Morfologi Spermatozoa

ABSTRACT

COMPARISON OF NATURAL DYEING OF RED DRAGON FRUIT SKIN (*Hylocereus Polyrhizus*) WITH PAPANICOLOU IN EXAMINING SPERMATOOA MORPHOLOGY

Spermatozoa examination is an important examination for male fertility, which includes examinations to determine sperm volume, color, pH, viscosity, motility and morphology. The morphology of spermatozoa was evaluated based on the presence of head, neck and tail structures. In the WHO examination guidelines, it is the gold standard or reference examination for analyzing sperm abnormalities. There are several methods recommended by WHO, including Papanicolou staining, Diff-Quick staining, and Safranin-crystal violet staining for spermatozoa staining. However, the use of synthetic dyes produces waste that can be detrimental to the environment and water sources. This study aims to identify and compare the quality of spermatozoa morphology staining results using natural dyes from red dragon fruit peel extract and Papanicolou. Red dragon fruit peel extract is made with a solvent composition of ethanol, alum mordant and acetic acid. The results of the research showed that staining using red dragon fruit peel extract gave results mostly on the head morphology of the spermatozoa being very well colored, then the neck and tail of the spermatozoa were well colored. From the results of the Wilcoxon test, the Asymp value was obtained. sig (2-Tailed) is >0.05, so H_0 is accepted and H_a is rejected, so there is no difference. Based on the research results, it can be concluded that there is no significant difference between the morphological coloring of spermatozoa using Papanicolou and red dragon fruit skin extract. So several optimizations need to be made so that the coloring is optimal.

Keywords: *Papanicolou, Red Dragon Fruit Peel Extract, Spermatozoa Morpholog*

PENDAHULUAN

Infertilitas merupakan sebuah permasalahan sistem reproduksi yang menggambarkan kegagalan untuk memperoleh kehamilan setelah 12 bulan atau lebih dengan melakukan hubungan seksual minimal 2-3 kali dalam seminggu secara teratur tanpa menggunakan alat kontrasepsi (Oktarina et al., 2014). Berdasarkan laporan WHO, secara global ditemukan kasus infertilitas yang dialami oleh 8-12% pasangan. Seiring dengan tingginya angka infertilitas, maka cara individu dalam menyikapi fenomena ini akan berbeda-beda. Pada kasus ini dapat kita ketahui dengan cara pemeriksaan cairan semen atau pemeriksaan spermatozoa. Pemeriksaan spermatozoa merupakan salah satu pemeriksaan yang penting untuk kesuburan pria (Wiwin Diarti et al., 2016).

Pedoman pemeriksaan WHO menjadi *Gold standard* atau referensi pemeriksaan untuk menganalisis kelainan sperma. Ada beberapa metode yang direkomendasikan oleh WHO antara lain pewarnaan *Papanicolou*, pewarnaan *Diff-Quick*, dan pewarnaan Safranin-kristal violet untuk pewarnaan spermatozoa manusia (Lukas, 2016). Beberapa metode lain yang dapat digunakan untuk menganalisis morfologi sperma yaitu Eosin dan *Nigrosin* (Kondracki et al., 2017), $AgNO_3$ (Andraszek

et al., 2018), dan *Giemsa* (Lingappa et al., 2015). Namun, pewarna sintesis ini berbahaya bagi lingkungan dan sumber air karena sukar terurai (Eldirdery et al., 2019).

Beberapa penelitian telah mengungkapkan potensi pewarna alami digunakan untuk studi histologi dan sitologi. Pada saat ini penggunaan zat warna sudah semakin meluas, pada dasarnya zat warna terdiri dari zat warna alami dan zat warna sintetik. Pewarna sintesis biasanya melepaskan pewarna berbahaya yang berpotensi menyebabkan alergi, yang dapat bersifat karsinogenik dan merugikan kesehatan. Pewarnaan jaringan bisa juga menggunakan *saffron* (Bathaie et al., 2014), *curcumin* (Robert dan Horobin, 2017). Studi morfologi sperma menggunakan naga merah (Fojas et al., 2020) *mulberry*, *safflower* (Robert dan Horobin, 2017), beras merah, bunga telang, bunga rosella dan murbei (Chomean et al., 2019).

Dari semua bahan pewarna alami yang digunakan terdapat suatu zat yang berfungsi untuk memberikan warna yaitu *betacyanin*. *Betacyanin* yang terkandung didalam buah naga merah berhasil diteliti sebagai *counter stain* sebagai apusan cairan semen (Fojas et al., 2020). Pada zat warna *betacyanin* ini juga yang dimiliki oleh kulit buah naga, dimana kulit buah naga ini tidak dikonsumsi dan menjadi limbah. Berdasarkan

latar belakang diatas maka perlu dilakukan uji perbandingan pewarna alami kulit buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus*) dengan pewarna *Papanicolou* pada pemeriksaan morfologi spermatozoa.

METODOLOGI PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian ini bersifat eksperimental komparatif yaitu bertujuan untuk mengetahui perbandingan dua variabel atau lebih. Dalam penelitian ini, kualitas hasil pewarnaan morfologi sperma dengan menggunakan ekstrak kulit buah naga merah dan standar *Papanicolou* dibandingkan.

Definisi Penelitian

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 dan <i>papanicolou</i>	Mikroskopis	Mikroskopis	0 = noda pucat atau buruk 1 = terwarnai tidak jelas 2 = terwarnai jelas 3 = terwarnai sangat jelas	Ordinal
Metode pewarnaan morfologi spermatozoa	Metode pewarnaan morfologi spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah dan <i>papanicolou</i>	-	-	1 = <i>Papanicolou</i> 2 = Ekstrak kulit buah naga merah	Nominal

Populasi dan Sampel

Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah pria yang berada disekitar lingkungan kampus STIKes Karsa Husada Garut.

Sampel

Pemilihan subjek untuk penelitian ini menggunakan teknik *convenience sampling*. Dengan teknik ini memungkinkan pengambilan sampel non-probabilitas yang akan memungkinkan peneliti untuk memilih partisipan dan mengumpulkan sampel dari orang-orang yang mudah diakses dan tersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian ini. Subjek penelitian ini adalah 15 pria yang berada di area kampus STIKes Karsa Husada Garut yang menjalani pantangan 3-5 hari tidak berhubungan badan untuk persiapan pengambilan sampel. 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 subjek per grup.

Berdasarkan pendapat tersebut, maka peneliti memutuskan untuk mengambil sampel dari minimal kelayakan sampel untuk

penelitian yaitu sebanyak 15 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 pantangan tidak berhubungan badan selama 3 – 5 hari.
4. Sampel sperma diperoleh dengan cara masturbasi dan ditampung dengan menggunakan pot sampel yang bersih dan steril.
5. Sampel yang didapat diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis terlebih dahulu untuk memastikan sampel tidak azoospermia.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan selama 4 bulan di Laboratorium Kimia Klinik Program Studi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Karsa Husada Garut.

Instrumen Penelitian

Alat

Alat yang akan digunakan adalah neraca analitik, mikroskop, tabung, kompor, panci, objek glass, cover glass, pipet tetes, mikropipet, pot sampel, gelas kimia, gelas erlenmayer, corong glass, staining jar, batang pengaduk, spatula, rak pewarnaan, pipet ukur, bulb, aluminium foil, plastik wrap, label, dan tissue.

Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah, hematoxylin harris, eosin, etanol, aquadest, asam asetat, mordan tawas (potasium alumunium), OG-6, alkohol bertingkat (50%, 70%, 80%, dan 96%).

Cara Pengumpulan Data

Buah naga merah dipilih yang matang dan bersih kemudian dikupas dan diambil kulitnya. Kulit buah naga merah dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 100 gr dan ditambahkan 100 ml aquadest lalu direbus selama 15 menit. Kemudian disaring menggunakan kain dan diambil perasannya yang akan dicampurkan dengan komposisi pelarut. Komposisi pelarut pada penelitian ini yaitu 100 ml aquadest, Etanol 5 ml, mordan tawas 10g, dan 4 ml asam asetat. Setelah itu, wadah dibungkus dengan alumunium foil semalam dalam proses ekstraksi. Supernatan ekstrak disaring dengan kertas saring dan disimpan ditempat gelap selama 24 jam. Dari proses ini, didapatkan ekstrak kulit buah naga merah dengan komposisi pelarut yang siap digunakan untuk pewarnaan morfologi spermatozoa.

Analisis Data

Data yang didapatkan dibuat presentase dan ditafsirkan dengan kriteria sebagai berikut :

100%	=	Seluruhnya
76%	-	Hampir Seluruhnya
99%		
51%	-	Sebagian Besar
75%		
50%	=	Setengah
26%	-	Hampir Setengahnya
49%		
1%	-	Sebagian Kecil
25%		
0%	=	Tidak Ada Satupun

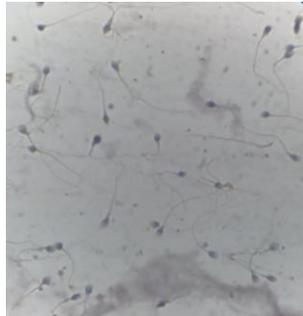
(Arikunto, 2008)

Data yang diperoleh berupa kategorik akan dianalisis data dengan uji Wilcoxon. Uji Wilcoxon digunakan untuk menganalisis 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_a diterima. Sebaliknya jika nilai Asymp.sig. (2-tailed) lebih besar dari $>0,05$, maka H_0 diterima dan H_a ditolak.

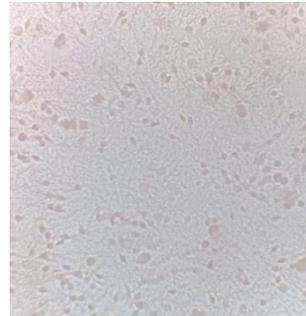
Hasil Penelitian

Penelitian perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan pewarna alami kulit buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus*) dan *Papanicolou* dengan cairan semen yang diperoleh dari 15 subjek ini namun hanya ada 13 subjek yang lolos kualifikasi dan ada 2 subjek yang tereliminasi karena tidak

memenuhi syarat telah dilakukan di Laboratorium Kimia klinik STIKes Karsa Husada Garut.



Gambar 4.1 Hasil spermatozoa dengan pewarnaan *Papanicolou*



Gambar 4.2 Hasil spermatozoa dengan pewarnaan ekstrak kulit buah naga merah

Tabel 4.1 Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Morfologi	Kualitas Pewarnaan (%)				Total
	Sangat baik	Baik	Tidak baik	Buruk	
Kepala	11%	24%	33%	14%	100%
Leher	5%	19%	56%	20%	100%
Ekor	8%	42%	47%	21%	100%
Rata-rata	8%	29%	45%	18%	100%

Pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga merah memberikan hasil pewarnaan pada morfologi kepala spermatozoa sangat baik 11%, baik 24%, tidak baik 33% dan buruk 14%. Pada morfologi leher spermatozoa

didapatkan hasil pewarnaan sangat baik 5%, baik 19%, tidak baik 56%, dan buruk 20%. Dan pada morfologi ekor spermatozoa didapatkan hasil pewarnaan sangat baik 8%, baik 42%, tidak baik 47%, dan buruk 21%.

Tabel 4.2 Hasil Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan *Papanicolou*

Morfologi	Kualitas Pewarnaan (%)				Total
	Sangat baik	Baik	Tidak baik	Buruk	
Kepala	17%	79%	4%	0%	100%
Leher	9%	85%	6%	0%	100%
Ekor	23%	77%	0%	0%	100%
Rata-rata	16%	81%	3%	0%	100%

Pada tabel 4.2 menunjukkan hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan *Papanicolou* memberikan hasil pewarnaan pada morfologi kepala spermatozoa sangat baik 17%, baik 79%, tidak baik 4%, dan buruk 0%. Pada morfologi leher

spermatozoa didapatkan hasil pewarnaan sangat baik 9%, baik 85%, tidak baik 6%, dan buruk 0%. Dan pada morfologi ekor spermatozoa didapatkan hasil sangat baik 23%, baik 77%, tidak baik 0%, dan buruk 0%

Tabel 4.3 Uji Statistik Wilcoxon pada Pewarnaan Morfologi Spermatozoa dengan waktu inkubasi 60 menit

	Kepala Buah Naga - Kepala Papanicolou	Leher Buah Naga - Leher Papanicolou	Ekor Buah Naga - Ekor Papanicolou
Z	-1,633 ^b	-2,887 ^b	-2,530 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	,102	,004	,011

Dari hasil penilaian menggunakan uji Wilcoxon pada penilaian morfologi dengan waktu inkubasi 60 menit, kepala spermatozoa di dapatkan hasil *Asymp. Sig. (2-tailed) 0.102*, pada morfologi leher spermatozoa didapatkan hasil *Asymp. Sig. (2-tailed) 0.004*, dan pada morfologi ekor spermatozoa didapatkan hasil *Asymp. Sig. (2-tailed) 0.011* yang berarti pada hasil kepala spermatozoa menunjukkan hasil >0.05 maka dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan antara pewarnaan morfologi spermatozoa yang menggunakan *Papanicolou* dan ekstrak kulit buah naga merah.

Pembahasan

Hasil pewarnaan Morfologi spermatozoa dengan pewarnaan *Papanicolou* dapat dilihat pada gambar 4.1. Pewarna ini dapat mewarnai dengan biru bagian spermatozoa seperti kepala, leher dan ekor dengan berbagai variasi kualitas pewarnaan. Hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan pewarnaan ekstrak kulit buah naga dapat dilihat pada gambar 4.2. Pada pewarnaan spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah memperlihatkan warna merah muda pada bagian kepala, leher dan ekor sperma dengan berbagai variasi kualitas pewarnaan. Pada gambar 4.2 menggunakan tiga pelarut yaitu

etanol, mordant tawas, dan asam asetat. Pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga merah memberikan hasil pewarnaan pada morfologi kepala spermatozoa sangat baik 11%, baik 24%, tidak baik 33% dan buruk 14%. Pada morfologi leher spermatozoa didapatkan hasil pewarnaan sangat baik 5%, baik 19%, tidak baik 56%, dan buruk 20%. Dan pada morfologi ekor spermatozoa didapatkan hasil pewarnaan sangat baik 8%, baik 42%, tidak baik 47%, dan buruk 21%. Pewarnaan pada kepala spermatozoa yang berisi akrosom, *nucleus* (inti sel) ini menyerap larutan dengan pH basa dan menghasilkan warna biru keunguan. Sementara pada morfologi leher spermatozoa didapatkan hasil yang berbeda dikarenakan leher sperma berisi membran sel atau sitoplasma yang akan menyerap zat pewarna bersifat asam. Pada ekor spermatozoa didapatkan hasil sangat jelas karena hasil pewarnaan menunjukkan bentuk sperma yang jelas berwarna ungu muda.

Pada tabel 4.2 menunjukkan hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan *Papanicolou* memberikan hasil pewarnaan pada morfologi kepala spermatozoa sangat baik 17%, baik 79%, tidak baik 4%, dan buruk 0%. Pada morfologi leher spermatozoa didapatkan hasil pewarnaan sangat baik 9%, baik 85%, tidak baik 6%, dan

buruk 0%. Dan pada morfologi ekor spermatozoa didapatkan hasil sangat baik 23%, baik 77%, tidak baik 0%, dan buruk 0%. Hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan *Papanicolou* menunjukkan hasil yang sangat baik dan baik memiliki skor rata-rata >2 . Pewarnaan *Papanicolou* didapatkan hasil pewarnaan pada morfologi kepala, leher, dan ekor baik 79% karena menunjukkan warna yang jelas pada setiap bagian dari struktur spermatozoa sesuai rekomendasi dari WHO bahwa pewarnaan *Papanicolou* merupakan *gold standar* untuk pemeriksaan morfologi spermatozoa.

Karakteristik spermatozoa pada pewarnaan menggunakan *Papanicolou* memberikan warna pada daerah akrosom atau kepala berwarna biru keunguan dari *Harris's Haematoxylin*, OG-6 dan EA-50 untuk mewarnai kepala, leher dan ekor spermatozoa memberikan warna berwarna merah muda (Lukas, 2016). Namun seperti yang telah disebutkan bahwa pewarnaan *Papanicolou* membutuhkan banyak langkah kerja serta menggunakan berbagai macam zat kimia.

Berdasarkan tabel hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan *Papanicolou* pada bagian kepala, leher, dan ekor spermatozoa didapatkan hasil bahwa persentase penggunaan pewarnaan

Papanicolou adalah kategori baik dengan persentase yang tinggi.

Pada pewarna alami menggunakan ekstrak kulit buah naga merah memiliki cara kerja yang cukup praktis dari pada pewarnaan *Papanicolou*. Jika dibandingkan dengan pewarnaan *Papanicolou* dan ekstrak kulit buah naga merah pada pewarnaan morfologi spermatozoa memiliki kesamaan warna yaitu timbulnya warna merah-violet pada morfologi kepala spermatozoa. Selain itu juga, hal yang serupa yang dapat kita jumpai pada kedua pewarnaan tersebut terdapat pada zat pewarna utama yaitu *Hematoxylin* yang dibuat dari ekstrak jantung pohon *Hematoxylin Champeianum* dan melalui proses oksidasi menggunakan mordan *pottasium alumunium*. Dilihat dari komposisi zat warna *Hematoxylin* yang digunakan dalam pewarnaan *Papanicolou* sama dengan ekstrak kulit buah naga merah yang juga menggunakan mordan tawas (*Pottasium Alumunium*).

Kulit buah naga merah berasal dari buah naga merah yang memiliki berat 30-35% dari berat buah yang belum dimanfaatkan secara optimal. Kulit buah naga merah ini memiliki banyak keunggulan antara lain mengandung polifenol dan sumber antioksidan yang baik diantara buah lain. Memiliki total fenol 39.7 mg/100g, total flavonoid (*catechin*) 8.33 mg/100g, *betacyanin* (betanin) 13.8 mg.

Betacyanin merupakan pigmen kelompok alkaloid yang larut air, pigmen bernitrogen, dan merupakan pengganti *anthocyanin*, dan bersifat mutual eksklusif dengan pigmen *anthocyanin*. Pigmen ini seringkali dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga bisa digunakan sebagai antioksidan dan *radical savenging* sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif. Kulit buah naga merah mempunyai warna merah atau merah violet yang merupakan pigmen *betacyanin* (Faridah et al., 2014).

Pada penelitian ini pewarnaan yang digunakan pada studi morfologi spermatozoa adalah kulit buah naga merah yang diekstraksi dengan pelarut etanol, mordan tawas dan asam asetat sehingga menjadikan pewarna memiliki pH asam yaitu 6 jika diukur menggunakan pH indikator. Sebelum melakukan ekstraksi *betacyanin* pada kulit buah naga merah dibutuhkan proses pemanasan terlebih dahulu dengan cara kulit buah naga merah direbus dengan air terlebih dahulu agar *betacyanin* keluar dari kulit buah naga merah dan larut pada air sehingga merubah air rebusan menjadi merah. Pada proses ekstraksi dengan etanol berfungsi sebagai pelarut karena memiliki tingkat polaritas yang tinggi. Kemudian tawas dijadikan mordan dalam ekstraksi ini karena kandungan tawas berfungsi sebagai mordan

yang mempunyai muatan positif yang memungkinkannya berikatan dengan anionik area jaringan yang digunakan untuk memperbaiki atau meningkatkan intensitas pewarnaan sel atau jaringan. Hasil pewarnaan dengan pelarut komposisi yang ditambah tawas dihasilkan skor pewarnaan yang lebih tinggi dibandingkan tanpa tawas (Ethica et al., 2023).

Berdasarkan penelitian ini mempunyai kelebihan pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah yang tidak melibatkan proses yang rumit dikarenakan hanya menggunakan satu jenis bahan pewarnaan yang sudah menjadi ekstrak. Sedangkan pada proses pewarnaan menggunakan *Papanicolou* memerlukan 20 langkah kerja dan 12 larutan kimia yang berbeda beda. Hasil pewarnaan Morfologi spermatozoa dengan pewarnaan *Papanicolou* dapat dilihat pada gambar 4.1. Pewarna ini dapat mewarnai dengan biru bagian spermatozoa seperti kepala, leher dan ekor dengan berbagai variasi kualitas pewarnaan. Hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan pewarnaan ekstrak kulit buah naga dapat dilihat pada gambar 4.2. Pada pewarnaan spermatozoa dengan ekstrak kulit buah naga merah memperlihatkan warna merah muda pada bagian kepala, leher dan ekor sperma dengan berbagai variasi kualitas pewarnaan.

Pada gambar 4.2 menggunakan tiga pelarut yaitu etanol, mordant tawas, dan asam asetat.

Berdasarkan hasil penelitian ini untuk pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah menggunakan waktu inkubasi 60 menit. Dari hasil analisis pada tabel 4.3 menggunakan uji Wilcoxon perbandingan kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa dengan waktu inkubasi 60 menit, kepala spermatozoa di dapatkan hasil *Asymp. Sig. (2-tailed) 0.102*, pada morfologi leher spermatozoa di dapatkan hasil *Asymp. Sig. (2-tailed) 0.004*, dan pada morfologi ekor spermatozoa di dapatkan hasil *Asymp. Sig. (2-tailed) 0.011* yang berarti pada hasil kepala spermatozoa menunjukkan hasil >0.05 maka H_0 diterima dan H_a ditolak maka dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan secara signifikan antara pewarnaan morfologi spermatozoa yang menggunakan *Papanicolou* dan ekstrak kulit buah naga merah.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang Perbandingan Pewarna alami Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrrhizus*) dengan *Papanicolou* dalam Pemeriksaan Spermatozoa yang dilakukan di Laboratorium Klinik STIKes Karsa Husada Garut dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit

buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus*) diperoleh hasil sebagian besar pada morfologi kepala spermatozoa terwarnai sangat baik, kemudian pada bagian leher dan ekor spermatozoa terwarnai dengan baik

2. Kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan *Papanicolou* diperoleh hasil hampir seluruhnya pada morfologi kepala, leher dan ekor spermatozoa seluruhnya terwarnai sangat jelas.
3. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan pada perbandingan pewarna alami ekstrak kulit buah naga merah dan *Papanicolou*, dengan waktu inkubasi 60 menit tidak ada perbedaan antara kualitas hasil pewarnaan morfologi spermatozoa menggunakan ekstrak kulit buah naga merah dan *Papanicolou* hal ini menandakan kualitas ekstrak hampir menyerupai *Papanicolou* dengan durasi yang sama.

Saran

1. Direkomendasikan bagi peneliti selanjutnya untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut tentang pemeriksaan morfologi spermatozoa dengan menambah jumlah variabel dan sampel penelitian

2. Direkomendasikan bagi peneliti selanjutnya untuk melakukan beberapa optimasi supaya pada saat pengecatan atau pewarnaan bisa lebih maksimal.

Daftar Pustaka

- Andraszek, K., Banaszewska, D., & Biesiada-Drzazga, B. (2018). The Use Of Two Staining Methods For Identification Of Spermatozoon Structure In Roosters. *Poultry Science*, 97(7), 2575–2581. <https://doi.org/10.3382/ps/pey056>
- Asmawati, A., Sunardi, H., & Ihromi, S. (2019). Kajian Persentase Penambahan Gula Terhadap Komponen Mutu Sirup Buah Naga Merah. *Jurnal Agrotek Ummat*, 5(2), 97. <https://doi.org/10.31764/agrotek.v5i2.700>
- Bathie Sz, Farajzade A, Hoshyar R. (2014). A Riview Of The Chemistry And Uses Of Crocins And Crocetin, The Carotenoid Natural Dyes In Saffron, With Particular Emphasis On Applications As Colorants Including Their Use As Biological Stains. *Biotech Histochem*. 89(6):401-11
- Bordoloi, B., Jaiswal, R., Siddiqui, S., & Tandon, A (2017). Health Hazards Pf Special Stains. *Saudi Journal Pf Pathology And Microbiology*, 2, 175-178
- Bourne, H., & Archer, J. (2017). Sperm Preparation Techniques. *Textbook Of Assisted Reproductive Techniques, Fifth Edition: Two Volume Set*, 50–64. https://doi.org/10.5005/jp/books/1802_0_91
- Chomean, S., Nantabut, M., Kongtia, W.,

- Saenguthai, K., & Kaset, C. (2019). Evaluation Of Natural Dyes For Human Spermatozoa Morphology Assessment. *Acta Histochemica*, 121(2), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.12.010>
- D. Kusumawati, E., T. N. Krisnaningsih, A., & R. Romadlon, R. (2016). Kualitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Simental Dengan Suhu Dan Lama Thawing Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(3), 38–41. <https://doi.org/10.21776/Ub.Jiip.2016.026.03.06>
- Diarti, M. W., Tatonton, E Y., & Tutmuji, A. (2016). Larutan Pengencer Alternatif Nacl 0.9% Dalam Pengecatan Giemsa Pada Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa. *Jurnal Kesehatan Prima*, 10(2), 1079-1716
- Dila, T. R., Raharjo, E. N., & Rukmana, D. I. (2023). Perbandingan Pewarnaan Giemsa, Diff Quick Dan Papanicolaou Preparat Efusi Pleura Di RSUD A.W Sjahranie. *Jurnal Kesehatan Sambusai*, 4(September), 4252–4258. <https://journal.universitaspahlawan.ac.id/index.php/jkt/article/view/18768/14135>
- Eldirdery, M., Aldin Osman, N., Osman, M., & Altayb, H. N. (2019). Genotypic And Phenotypic Drug Resistance Of Bacteria Associated With Diabetic Septic Foot Infections Among Sudanese Detection Of The Genotype Patterns Of Mycobacterium Tuberculosis Isolates In Different Geographical Areas In Sudan. *View Project Sudan Canc*. 175–178. <https://doi.org/10.21276/Sjpm>
- Ethica, S. N., Raharjo, T. J., Zilda, D. S., & Hidayati, N. (2023). In Vitro Anticoagulant Activity Of Crude Protease Of Bacillus Tequilensis Hsfi-5. *Indonesian Journal Of Medical Laboratory Science And Technology*, 5(2), 90–99. <https://doi.org/10.33086/ijmlst.v5i2.3791>
- Ezpinosa Juanillo, N. C., & Rupa Huayllapuma, A. (2018). Hubungan Usia Dengan Index Fragmentasi Dna Dan Jumlah Sperma Pada Pemeriksaan Halo Sperma Tes Di Rsia Sammarie Basra Pada Pria Infertil.
- Faridah, A., Holinesti, R., & Syukri, D. (2014). Identifikasi Pigmen Betasianin Dari Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus Polyrhizus). *Jurnal Fakultas Teknik Pertanian, Universitas Andalas*, 49(2), 147–154.
- Fojas, S. I. T., Hubahib, S. T., Jaravata, K. O., Mojica, A. C. R., & Recto, A. L. A. V. (2020). European Journal Of Molecular & Clinical Medicine The Coloring Component Of Betacyanin Of Hylocereus Polyrhizus (Red Dragon Fruit) Flesh Extract As An Alternative Counter Stain For Semen Smear. *European Journal Of Molecular & Clinical Medicine*, 07(02), 4221–4226.
- Garner D.L., Dan E. S. E. H. (2000). *No Tspermatozoa And Seminal Plasma*. In Hafez E.S.E (Ed). *Reproduction In Farm Animals 7th Ed.Itle*.
- Harsyah, N. R., & Ediati, A. (2015). Perbedaan Sikap Laki-Laki Dan Perempuan Terhadap Infertilitas. *Jurnal Empati*, 4(4), 225-232
- Hasri, H, A. S. (2021). Efektivitas Ekstrak Lada Hitam (Piper Nigrum L) Dan Zink (Zn) Terhadap Viabilitas Dan Morfologi

- Sperma. *Jurnal Medika Hutama*, 3(01 Oktober), 1507-1511
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Hidayah N. (2016). Identifikasi Dan Pengelolaan Stres Infertilitas Nurul Hidayah Fakultas Psikologi Universitas Ahmad Dahlan Abstrak. *Ui*, 25–33. <http://journal.ui.ac.id/index.php/jkepi/article/view/2291>
- Ibrahim, W., Mutia, R., Nurhayati, N., Nelwida, N., & Berliana, B. (2016). Penggunaan Kulit Nanas Fermentasi Dalam Ransum Yang Mengandung Gulma Berkhasiat Obat Terhadap Konsumsi Nutrient Ayam Broiler. *Jurnal Agripet*, 16(2), 76–82. <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>
- Kedokteran, F., & Maret, U. S. (2009). *Library.Uns.Ac.Id Digilib.Uns.Ac.Id*.
- Kondracki, S., Wysokinska, A., Kania, M., & Górski, K. (2017). Application Of Two Staining Methods For Sperm Morphometric Evaluation In Domestic Pigs. *Journal Of Veterinary Research (Poland)*, 61(3), 345–349. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0045>
- Kumar, A., & Sharma, M. (2017). *Basics Of Human Andrology*.
- Kusumawati, E. D., Krisnaningsih, A, T. N., & Romadlon, R. R. (2016). Kualitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Simental Dengan Suhu Dan Lama Thawing Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(3), 38-41
- Lingappa, H. A., Govindashetty, A. M., Krishnamurthy, A., Puttaveerachary, A. K., Manchaiah, S., Shimoga, I. C., Mallaradhya, S. H., & Gowda, S. B. M. (2015). Quest For An Ideal, Simple And Cost-Effective Stain For Morphological Assessment Of Sperms. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*, 9(10), Ec01–Ec04. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2015/13270.6655>
- Lukas, H. (2016). *Perbandingan Hasil Pemeriksaan Morfologi Spermatozoa Manusia Menggunakan Metode Pewarnaan Papanicolaou, Diff-Quik Dan Safranin-Kristal Violet Di Rsud Dr. Soetomo Surabaya*. 1–152.
- Nation. (2001). Pemeriksaan Papanicolou. *Journal Of The American Chemical Society*, 123(10), 2176–2181. <https://curia.ihmc.us/rid=1r440pdzr-13g3t80-2w50/4>. Pautas-Para-Evaluar-Estilos-De-Aprendizajes.Pdf
- Oktarina, A., Abadi, A., Bachsin, R., Forensik, D., & Unsri, F. K. (2014). *Faktor-Faktor Yang Memengaruhi Infertilitas Pada Wanita Di Klinik Fertilitas Endokrinologi Reproduksi*. 4, 295–300.
- Pangestu, A. D. (2019). Perbandingan Kadar Saponin Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus Tiliaceus L.*) Hasil Pengeringan Matahari Dan Pengeringan Oven Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Akadei Farmasi Putra Indonesia*, 20.
- Rahesti, E. (2019). Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Papanicolou Menggunakan Orange - G Baru Dengan Kadaluawarsa(Doctoral Dissertation,

