

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU
LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP JUMLAH DAN KUALITAS
SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR SPRAGUE-DAWLEY YANG
DIINDUKSI ALKOHOL**

Skripsi

**Oleh
NUR AZIZAH**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

THE EFFECT OF EXTRACT *Bruguiera gymnorrhiza* BARK ON COUNT AND QUALITY OF SPERM OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) SPRAGUE-DAWLEY STRAIN WERE IS INDUCED BY ALCOHOL

By

NUR AZIZAH

Background: *Bruguiera gymnorrhiza* bark contains high antioxidant including alkaloid, flavonoid, tannin, phenol hydroquinone, saponin, and triterpenoid. The function of antioxidant is to prevent oxidative stress, one that causes free radicals to consume alcoholic beverages. The purpose of this study was to determine the benefit of *Bruguiera gymnorrhiza* bark to improve the fertility of spermatozoa in white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague-Dawley strain were is induced by alcohol.

Methods: This study used 32 rats divided into 4 groups for 7 days, namely group K1 non alcohol induced and *Bruguiera gymnorrhiza* bark extract, group K2 induced with alcohol for 7 days, group P1 induced with alcohol and given *Bruguiera gymnorrhiza* bark extract at a dose of 150 mg/kgBB for 7 days, group P2 induced with alcohol and given *Bruguiera gymnorrhiza* bark extract at a dose of 300 mg/kgBB for 7 days. The parameters examined count and quality of spermatozoa.

Results: Data analysis using *One-Way ANOVA* test shows value $p < 0,05$ for the count, motility, viability, and morphology of spermatozoa. In the *Post Hoc* test the value of $p > 0,05$ is obtained between groups K1, K2, P1, and P2 so that it does not show significant differences.

Conclusion: There is the effect of extract *bruguiera gymnorrhiza* bark on count and quality of spermatozoa of white rats (*rattus norvegicus*) sprague-dawley strain were is induced by alcohol, with a statistically effective dose is the dose of 150 mg/kgBB.

Keyword: Fertility, Spermatozoa, *Bruguiera gymnorrhiza*, Alcohol, *Spargue-Dawley*.

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP JUMLAH DAN KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY YANG DIINDUKSI ALKOHOL

Oleh

NUR AZIZAH

Latar belakang: Kulit batang tanaman bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) mengandung antioksidan yang tinggi yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, fenol hidrokuinon, saponin, dan triterpenoid. Fungsi dari antioksidan adalah dapat mencegah terjadinya stress oksidatif, salah satu yang menyebabkan radikal bebas adalah konsumsi minuman beralkohol. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui manfaat kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) guna meningkatkan fertilitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi alkohol.

Metode penelitian: Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus yang terbagi dalam 4 kelompok selama 7 hari, yaitu kelompok K1 yang tidak diinduksi alkohol dan ekstrak kulit batang bakau lindur, kelompok K2 yang diinduksi dengan alkohol selama 7 hari, kelompok P1 yang diinduksi dengan alkohol serta diberikan ekstrak kulit batang bakau lindur dengan dosis 150 mg/kgBB selama 7 hari, kelompok P2 yang diinduksi dengan alkohol serta diberikan ekstrak kulit batang bakau lindur dengan dosis 300 mg/kgBB selama 7 hari perlakuan. dan parameter yang diperiksa adalah jumlah dan kualitas spermatozoa.

Hasil penelitian: Analisis data menggunakan uji *One-Way ANOVA* menunjukkan nilai $p < 0,05$ untuk jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa. Pada uji *Post Hoc* didapatkan nilai $p > 0,05$ antar kelompok K1, P1, dan P2 sehingga tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Simpulan: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap jumlah dan kualitas spermatozoa tikus putih yang diinduksi alkohol, dengan secara statistik dosis yang efektif ialah dosis 150 mg/kgBB.

Kata kunci: Fertilitas, Spermatozoa, *Bruguiera gymnorrhiza*, Alkohol, *Sprague-Dawley*.

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU
LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP JUMLAH DAN KUALITAS
SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR SPRAGUE-DAWLEY YANG
DIINDUKSI ALKOHOL**

Oleh

NUR AZIZAH

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA KEDOKTERAN

pada

Jurusan Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi

**: PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT
BATANG BAKAU LINDUR (*Bruguiera
gymnorrhiza*) TERHADAP JUMLAH DAN
KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-
DAWLEY YANG DIINDUKSI ALKOHOL**

Nama Mahasiswa

: Nur Azizah

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1518011044

Program Studi

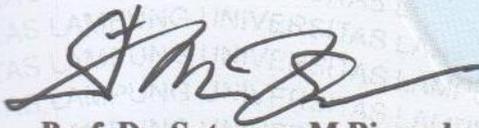
: Pendidikan Dokter

Jurusan

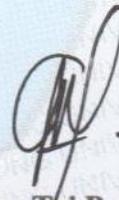
: Kedokteran

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed
NIP 195704241987031001



dr. Giska Tri Putri, S.Ked
NIK 231612900307201

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran



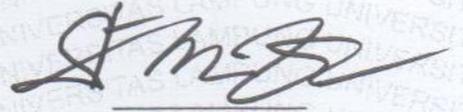
Dr. Dyah Wulan SRW., SKM., M.Kes
NIP 19720628 199702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tes Penguji

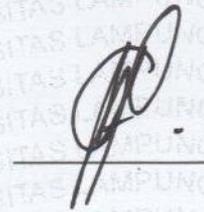
Ketua

:Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed



Sekretaris

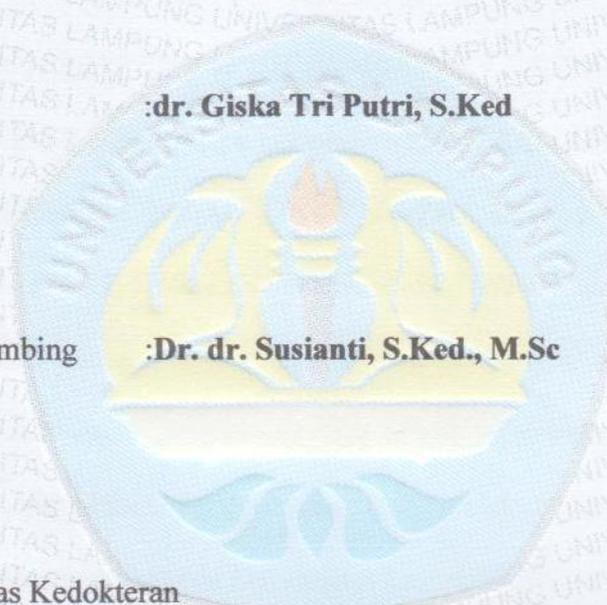
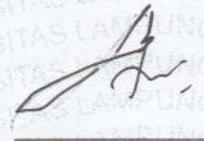
:dr. Giska Tri Putri, S.Ked



Penguji

Bukan Pembimbing

:Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc



2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. Dyah Wulan SRW., SKM., M.Kes

NIP 19720628 199702 2 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 19 Juli 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

Skripsi dengan judul “***PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP JUMLAH DAN KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY YANG DIINDUKSI ALKOHOL***” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, Juli 2019

Pembuat Pernyataan



Nur Azizah

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Nur Azizah, yang lahir di Desa Srigading Kecamatan Labuhan Maringgai Lampung timur pada tanggal 30 September 1997 sebagai anak ketiga dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Misnoto dan Ibu Maryani.

Riwayat pendidikan penulis adalah bersekolah pendidikan dasar di SDN 2 Srigading dan selesai pada tahun 2009, sekolah menengah pertama di SMPN 2 Labuhan Maringgai yang diselesaikan pada tahun 2012, dan sekolah menengah atas di SMAN 1 Way Jepara Lampung Timur yang diselesaikan pada tahun 2015.

Tahun 2015 penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

TERIMAKASIH KEPADA ALLAH SWT
SKRIPSI INI KUPERSEMBAHKAN UNTUK KEDUA
ORANG TUA DAN SAUDARAKU YANG TELAH
MENDUKUNG DAN MEMOTIVASI UNTUK
MENCAPAI CITA-CITA.

SANWACANA

Alhamdulillah hirobbil alamin, segala puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, Tuhan Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang. Atas berkat limpahan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW, beserta keluarganya, para sahabatnya, dan seluruh umatnya.

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap Jumlah dan Kualitas Sperma Tikus Putih (*Rattus norvergicus*) Galur Sprague-Dawley yang Diinduksi Alkohol” merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Ucapan terimakasih tak lupa penulis ucapkan kepada semua pihak yang baik secara langsung maupun tak langsung berperan dengan memberikan semangat, bimbingan, kritik, dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, antara lain kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3. Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed., selaku Pembimbing I atas kesediannya meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran, dan dorongan selama penyelesaian skripsi ini.
4. dr. Giska Tri Putri, S.Ked., selaku Pembimbing II atas saran, dukungan, ketersediaan waktu, serta bimbingannya selama penyelesaian skripsi ini.
5. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., selaku Penguji Utama pada ujian skripsi ini yang telah memberikan kritik dan saran yang bersifat membangun, sekaligus membimbing selama penyelesaian skripsi ini.
6. Dr. dr. Jhons Fatriyadi Suwandi, S.Ked., M.Kes., selaku Pembimbing Akademik selama penulis menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah berjasa selama ini.
8. Bapak dan Ibu yang selalu berdoa kepada Allah SWT untuk kesuksesan penulis, sehingga penulis bisa sampai pada tahap ini.
9. Kepada kakak dan adik tercinta, terimakasih karena telah memotivasi dan memberi semangat yang tak pernah henti.
10. Tim Laboratorium Biokimia, Fisiologi dan Biologi Molekuler Fakultas Universitas Lampung, dr. Syazili Mustofa, M. Biomed, Ibu Soraya Rahmanisa, S. Si., M. Sc., Ibu Nuriah A,Md Ak., dan Mba Yani A,Md., terimakasih atas segala ilmu dan pengalaman yang telah diberikan

11. Sahabat yang selalu ada dalam keadaan suka maupun duka yaitu Saras, Darna, Fikta, Vio, Yeni, Nawal, dan Desi. Terima kasih karna telah berjuang bersama saling mendukung dan menguatkan serta menjadi salah satu semangat hingga saat ini.
12. Tim penelitian saya (Arina, Darna, Amel dan Helen, Dina), terima kasih atas kesabaran, semangat, kerjasama, dan saling membantu selama berlangsungnya penelitian dan penyusunan skripsi
13. Teman-teman sejawat ENDOMISIUM angkatan 2015 terimakasih atas kebersamaannya selama pre-klinik.
14. Semua pihak yang baik secara langsung maupun tidak langsung turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis berharap semoga jasa dari berbagai pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis selama ini akan mendapat balasan kebaikan dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam skripsi ini, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar lampung, Juli 2019

Penulis,

Nur Azizah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi	4
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat	4
1.4.4 Manfaat Bagi Peneliti Lain	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Bakau lindur.....	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Struktur Dan Karakteristik.....	6
2.1.3 Tanaman Bakau Lindur Sebagai Antioksidan	7
2.2 Dosis Efektif	8
2.3 Stress Oksidatif dan Radikal Bebas	9
2.3.1 Definisi Stress Oksidatif	9
2.3.2 Penyebab Stress Oksidatif	9
2.3.3 Efek dari Stress Oksidatif	10
2.3.4 Cara Mencegah Terjadinya Stress Oksidatif	11
2.4 Antioksidan	11
2.5 Alkohol.....	12
2.5.1 Efek Alkohol Terhadap Tubuh.....	13
2.5.2 Metabolisme Alkohol dalam Tubuh.....	13
2.5.3 Efek Alkohol Terhadap Reproduksi Jantan.....	15
2.6 Spermatogenesis	17
2.6.1 Definisi.....	17
2.6.2. Proses Spermatogenesis	17

2.6.3 Jumlah Spermatozoa	19
2.6.4 Motilitas Spermatozoa	19
2.6.5 Viabilitas Spermatozoa	20
2.6.6 Morfologi Spermatozoa	21
2.7 Tikus Putih	22
2.7.1 Taksonomi	21
2.7.2 Struktur Dan Karakteristik	23
2.8 Kerangka Teori	23
2.9 Kerangka Konsep	25
2.10 Hipotesis Penelitian	26
2.10.1 Hipotesis Alternatif	26
2.10.2 Hipotesis Null	26
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	27
3.2 Lokasi Penelitian	27
3.3 Subjek Penelitian	27
3.3.1 Populasi	27
3.3.2 Sampel	28
3.3.3 Kelompok Perlakuan	30
3.4 Rancangan Penelitian	30
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian	31
3.5.1 Variabel Independen	31
3.5.2 Variabel Dependen	31
3.5.3 Variabel Perantara	31
3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian	32
3.7 Alat dan Bahan	32
3.7.1 Alat untuk pembuatan ekstrak	32
3.7.2 Alat yang digunakan selama perlakuan	33
3.7.3 Alat dalam pembuatan preparat spermatozoa	33
3.7.4 Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak	34
3.7.5 Bahan yang digunakan selama perlakuan	34
3.7.6 Bahan yang digunakan dalam pembuatan preparat spermatozoa	34
3.8 Cara Kerja	34
3.8.1 Persiapan Hewan Coba	34
3.8.2 Prosedur Pemberian Aquades	35
3.8.3 Induksi Pemberian Alkohol 25%	35
3.8.4 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur	35
3.8.5 Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur pada Hewan Coba	37
3.8.6 Terminasi Hewan Coba	37
3.8.7 Pengamatan Jumlah, Motilitas, Viabilitas, dan Morfologi Spermatozoa	36
3.9 Teknik Analisis Data	41
3.10 Alur Penelitian	42
3.11 Etika Penelitian	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	45
4.1.1 Jumlah Spermatozoa	46

4.1.2 Motilitas Spermatozoa	50
4.1.3 Viabilitas Spermatozoa	53
4.1.4 Morfologi Spermatozoa	56
4.2 Pembahasan	59
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	67

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji fitokimia ekstrak kasar daun, kulit batang, dan akar tanaman <i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	7
2. Definisi Operasional.....	32
3. Hasil Rerata Jumlah Spermatozoa	46
4. Hasil Uji Normalitas Data Jumlah Spermatozoa	48
5. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> Jumlah Spermatozoa	49
6. Hasil Rerata Motilitas Spermatozoa	50
7. Hasil Uji Normalitas Data Motilitas Sperma	51
8. Hasil Uji <i>Post Hoc Bonferroni</i> Motilitas Spermatozoa	52
9. Hasil Rerata Viabilitas Spermatozoa	53
10. Hasil Normalitas Data Viabilitas Spermatozoa	54
11. Hasil <i>Post Hoc Bonferroni</i> Viabilitas Spermatozoa	55
12. Hasil Rerata Morfologi Normal Spermatozoa	56
13. Hasil Normalitas Data Morfologi Spermatozoa	58
14. Hasil Uji <i>Post Hoc Bonferroni</i> Morfologi Spermatozoa	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	6
2. Metabolisme Alkohol.....	15
3. Proses Spermatogenesis.	18
4. <i>Rattus norvegicus</i> galur <i>Sprague Dawley</i>	22
5. Kerangka Teori	25
6. Kerangka Konsep.....	26
7. Diagram Alur Penelitian	41
8. Gambaran Mikroskopis Jumlah Spermatozoa	47
9. Gambaran Mikroskopis Morfologi Spermatozoa	57

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hutan *mangrove* tersebar di 105 negara tropis dan subtropis yang ada didunia dengan luas keseluruhan 81.500 km². Luas *mangrove* di Indonesia sekitar 3.200.000 hektar dan Indonesia termasuk pemilik *mangrove* terbesar didunia. Terdapat 35 jenis bakau kategori pohon dan salah satunya adalah tanaman bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang tersebar di berbagai daerah di Indonesia yaitu di pulau Jawa, Sumatera, Kalimantan, Maluku, dan Bali (Tampubolon, 2017; Jacob, *et al.*, 2013).

Kulit batang dari tanaman bakau lindur mengandung antioksidan yang tinggi yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, fenol hidrokuinon, saponin, dan triterpenoid. Pada kulit batang bakau lindur kandungan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Fungsi dari antioksidan adalah dapat mencegah terjadinya stress oksidatif (Utari, 2016).

Stress oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah oksidan (radikal bebas) dengan jumlah antioksidan yang ada didalam tubuh. Stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel dan dasar patogenesis terjadinya penyakit kronik (Nurdyansyah, 2017).

Stress oksidatif menyebabkan kerusakan pada tubuh hal ini dikarenakan terjadi peningkatan *Reactive Oxygen Species (ROS)* sebagai respon akibat stessor. Tingginya jumlah *ROS* berhubungan dengan adanya kerusakan sel di seluruh tubuh, termasuk gangguan fertilitas pada pria, *ROS* menyebabkan peroksidasi membran plasma spermatozoa. Peningkatan produksi radikal bebas didalam tubuh terjadi karena konsumsi alkohol yang menyebabkan stress oksidatif dan akan merusak jaringan tubuh (Sukarjati, 2012).

Alkohol merupakan senyawa yang terdiri dari *ethyl alcohol, methyl alcohol, ethylene glycol, isopropyl alcohol* yang di metabolisme alkohol dehydrogenase. Etanol memiliki efek buruk terhadap tubuh, salah satu dampak mengonsumsi etanol dapat menyebabkan penurunan jumlah testosteron pada plasma darah, penurunan kualitas cairan semen, penurunan jumlah, motilitas, viabilitas, dan abnormalitas morfologi sperma yang dapat menyebabkan infertilitas pada pria (Sugeng, 2012; Dosumu, *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk meneliti tentang pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap jumlah, motiltas, viabilitas dan morfologi sperma tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang telah diinduksi alkohol 25%.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang diatas, maka dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) berpengaruh terhadap jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang diinduksi alkohol?
2. Berapakah dosis efektif dari ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang memberikan efek protektif terhadap jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang diinduksi alkohol?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang diinduksi alkohol.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui dosis efektif dari ekstrak kulit batang bakau lindur terhadap jumlah spermatozoa tikus putih yang diinduksi alkohol.
2. Mengetahui dosis efektif dari ekstrak kulit batang bakau lindur terhadap motilitas spermatozoa tikus putih yang diinduksi alkohol.

3. Mengetahui dosis efektif dari ekstrak kulit batang bakau lindur terhadap viabilitas spermatozoa tikus putih yang diinduksi alkohol.
4. Mengetahui dosis efektif dari ekstrak kulit batang bakau lindur terhadap morfologi spermatozoa tikus putih yang diinduksi alkohol.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.4.1. Bagi Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan yang dapat dipelajari dan digunakan di bidang kedokteran dasar.

1.4.2. Bagi Institusi

Sebagai bahan kepustakaan yang ada di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.3. Bagi Masyarakat

Meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai manfaat ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang memiliki efek protektif terhadap fertilitas sperma yang diinduksi alkohol.

1.4.4. Bagi Penelitian Lain

Memberikan gambaran untuk mengembangkan penelitian ini mengenai efek protektif dari kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bakau lindur

2.1.1 Taksonomi

Bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) adalah salah satu spesies dari famili Rhizophoraceae. *Bruguiera gymnorrhiza* tersebar di daerah tropis Afrika Selatan, Afrika Timur, Madagaskar, Asia Selatan dan Asia Tenggara termasuk Indonesia sampai timur laut Australia, Mikronesia, Polinesia dan kepulauan Kyukyu (Duke & Allen, 2006).

Klasifikasi dari bakau lindur ialah:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Myrtales

Family : Rhizophoraceae

Genus : *Bruguiera*

Species : *Bruguiera gymnorrhiza* (Duke & Allen, 2006).

2.1.2 Struktur Dan Karakteristik

Pada habitat yang baik tinggi tanaman bakau lindur mencapai 30 - 35 meter dengan diameter 15 – 35 cm, batang dari tumbuhan ini berwarna abu-abu sampai kecoklatan tebalnya lebih dari 2 cm permukaan keras dan kasar serta memiliki lentisel. Daunnya memiliki panjang 8-22 cm, lebar 5-8 cm, berwarna hijau tua pada bagian atas dan bagian bawah berwarna hijau kekuningan dengan bercak hitam, daun berbentuk elips dengan ujung meruncing. Tunas atipikal panjangnya sekitar 6 cm, bunga pada *Bruguiera gymnorrhiza* memiliki tunas bunga soliter dan terletak di axils daun saat bunga kuncup panjangnya sekitar 3-3,5 cm, kelopak bunga berwarna merah terkadang kuning pucat, putih atau hijau. Bakau lindur memiliki akar papan dan akar lutut yang melebar kesamping dibagian pangkal batang (Duke & Allen, 2006).



(a)



(b)



(c)

Gambar 1. *Bruguiera gymnorrhiza*: batang (a), daun (b), akar (c)
(Duke & Allen, 2006).

2.1.3 Tanaman Bakau Lindur Sebagai Antioksidan

Tanaman bakau lindur memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Penelitian yang dilakukan Utari tahun 2016 dengan metode uji fitokimia penelitian ini dilakukan untuk mengecek kandungan alkaloid, flavonoid, tannin, fenol hidrokuinon, saponin, dan triterpenoid. Hasil dari uji fitokimia tersebut adalah :

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak kasar daun, kulit batang, dan akar tanaman *Bruguiera gymnorrhiza* (Utari, 2016).

	Daun			Kulit Batang			Akar		
	Etanol	Etil A	Heksana	Etanol	Etil A	Heksana	Etanol	Etil A	Heksana
Alkaloid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+++	+	++++	++	+	+++	++++	-
Tanin	+	+	-	++	++	-	+	-	-
Fenol	+++	+++	+	++	++	+	++	++	-
Saponin	+	+	-	++	+	-	+++	+	-
Steroid	+++	++	+	-	-	+	-	-	-
Triterpenoid	+	+	+	+++	++	+	++++	+	+

Keterangan: (-) =tidak terdeteksi; (+) =positif lemah ; (++) = positif; (+++) = positif kuat; (++++) = positif sangat kuat

Senyawa antioksidan yang ada pada suatu bahan dapat dideteksi dengan uji aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun, kulit batang, dan akar bakau lindur ditentukan dengan uji DPPH. Senyawa bisa di katakan memiliki aktivitas antioksidan bila mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH, hal ini ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat. IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*) menandakan nilai konsentrasi senyawa antioksidan yang bisa menghambat reaksi senyawa radikal bebas sebanyak 50%.

Senyawa yang memiliki antioksidan sangat kuat bila nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat bila nilai IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/ml}$, sedang bila nilai IC_{50} 100-150 $\mu\text{g/ml}$, dan lemah bila nilai IC_{50} 150-200 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Utari tahun 2016 bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun, kulit batang, dan akar bakau lindur memiliki nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 34.27 ppm; 19.62 ppm; 42.04 ppm yang tergolong kuat dan sangat kuat (Utari, 2016).

Pada tanaman *Bruguiera gymnorrhiza* terdapat kandungan senyawa flavonoid yang terdeteksi pada uji fitokimia. Flavonoid berperan sebagai antioksidan. Antioksidan bisa menetralkan dan menginaktivkan reaksi radikal bebas yang dapat menyerang sel tubuh (Sudirman, 2016).

2.2 Dosis Efektif

Dosis merupakan jumlah atau takaran obat yang diberikan untuk pasien dalam satuan berat dan isi atau volume. Dosis obat sendiri dapat mempengaruhi efek farmakologi obat tersebut (Jas & Admar, 2009).

Macam – macam dosis menurut Adlan 2010, yaitu :

1. Dosis minimal yaitu dosis terkecil yang memberikan efek terapeutik.
2. Dosis maksimal yaitu dosis tertinggi yang masih memiliki efek terapeutik tanpa efek toksik.
3. Dosis toksik yaitu penggunaan obat yang melebihi dosis maksimal
4. Dosis letalis yaitu dosis yang menyebabkan kematian.
5. Dosis terapeutik yaitu dosis terbaik atau dosis optimal dan bisa disebut dengan dosis efektif.

2.3 Stress Oksidatif dan Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Stress Oksidatif

Stress oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang dipicu oleh kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Keadaan stress oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh, menyebabkan terjadinya percepatan proses penuaan dan munculnya penyakit (Murray, *et al.*, 2014).

2.3.2 Penyebab Stress Oksidatif

Stress oksidatif dapat terjadi di tubuh karena adanya oksidan yang berlebihan didalam tubuh. Pemicu meningkatnya jumlah oksidan adalah stress fisik. Aktivitas fisik berat dapat meningkatkan jumlah oksidan endogen yang berasal dari proses biologis alami yang melibatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS merupakan senyawa-senyawa reaktif yang berasal dari oksigen, senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerobik termasuk manusia. Jumlah ROS dapat meningkat pada kondisi stres fisik, yang dapat disebabkan oleh aktivitas fisik berat (Candrawati, 2013).

Selain stress fisik, radikal bebas dan infeksi juga meningkatkan kadar oksidan. Radikal bebas muncul di tubuh melalui proses metabolisme aerobik dan akibat paparan dari luar, seperti asap rokok, polusi, sinar UV, dan konsumsi alkohol yang berlebih (Murray, *et al.*, 2014).

2.3.3 Efek dari Stress Oksidatif

Efek dari stress oksidatif dipicu karena adanya radikal bebas. Beberapa radikal bebas dalam tubuh merupakan derivat nitrogen yang disebut reaktif nitrogen species (RNS) dan derivat oksigen yang disebut ROS. ROS bisa terdapat dalam bentuk O_2^- , radikal hidroksil (OH), asam hipoklorit (HOCl), radikal alkoksil dan radikal peroksil. ROS dapat merusak sel dengan merusak membran lipid melalui serangkaian reaksi kimia yang disebut peroksidasi lipid. Hal ini terjadi karena membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) dalam jumlah tinggi. Peroksidasi membran lipid akan menyebabkan perubahan pada sel, seperti peningkatan permeabilitas membran, penurunan transport kalsium dalam retikulum sarkoplasma, gangguan fungsi mitokondria dan enzim, serta pembentukan metabolit toksik (Schieber & Chandel, 2014).

Selain itu, radikal memiliki satu atau lebih elektron-elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Dalam upaya memenuhi keganjilan elektronnya, radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan secara cepat akan menarik elektron makromolekul biologis yang berada di sekitarnya seperti protein, asam nukleat, dan asam deoksiribonukleat (DNA). Jika makromolekul yang teroksidasi dan terdegradasi tersebut merupakan bagian dari sel atau organel, maka dapat mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut (Schieber & Chandel, 2014).

2.3.4 Cara Mencegah Terjadinya Stress Oksidatif

Kerusakan akibat stress oksidatif dapat dicegah dengan antioksidan. Di dalam tubuh, sistem pertahanan antioksidan kompleks bekerja meminimalkan dampak paparan oksidan endogen dan eksogen berlebih. Antioksidan bekerja menangkap radikal bebas dengan cara mereduksi atau scavenging dan atau dismutasi superoksida anion (O_2^-) dan atau peroksida anion (HO_2^-) beserta bentuk protonasinya dengan menggunakan sistem pertahanan antioksidan (Rahal, *et al.*, 2014).

Namun saat oksidan yang ada dalam tubuh berlebih, antioksidan endogen tidak mampu menangkal oksidan tersebut sehingga diperlukan antioksidan eksogen. Sehingga, untuk mencegah terjadinya stress oksidatif maka diperlukan konsumsi antioksidan eksogen (Rahal, *et al.*, 2014).

2.4 Antioksidan

Antioksidan dibagi menjadi dua, antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathion peroxidase* menghambat oksidasi komponen seluler dengan secara langsung menangkap ROS, memetabolisme peroksidase lipid menjadi substansi non-radikal dan dengan reaksi *chelation* ion logam untuk mencegah terbentuknya oksidan (Dharma, 2012).

Pada kondisi stres fisik, infeksi, paparan berlebih radikal bebas, membuat kapasitas antioksidan endogen menjadi tidak memadai untuk menangkal radikal bebas. Kapasitas antioksidan tubuh juga makin menurun sejalan

dengan penambahan usia, sehingga tubuh memerlukan antioksidan eksogen (yang berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) dalam jumlah yang lebih banyak untuk menetralkan efek radikal bebas. Antioksidan eksogen seperti vitamin C, E, karotenoid, dan polifenol juga bekerja menangkap radikal bebas (Dharma, 2012).

2.5 Alkohol

Alkohol tergolong zat psikoaktif dengan sifat penghasil zat yang menyebabkan ketergantungan. Alkohol dibentuk pada saat fermentasi ragi yang kemudian ditambahkan dengan gula yang berasal dari makanan yang berbeda, sebagai contoh yaitu *wine*, *beer*, dan *vodka* (Gunasekara, 2012).

Menurut data dari *World Health Organization* (WHO) memperkirakan saat ini jumlah pecandu alkohol diseluruh dunia mencapai 64 juta orang. Badan Narkotika Nasional (BNN) memperkirakan ada 3,2 juta orang di Indonesia mempunyai riwayat menggunakan NAPZA dan 46% adalah perilaku minum alkohol (Triyono, 2014; Suhardi, 2011).

Konsumsi alkohol dalam dalam dosis rendah bisa menimbulkan efek stimulasi pada tubuh sehingga menyebabkan perasaan euphoria dan peminum akan menjadi banyak bicara. Minum alkohol secara berlebihan akan menyebabkan rasa kantuk dan depresi pernapasan dimana pernapasan akan menjadi lambat, dangkal atau bahkan berhenti.

Konsumsi alkohol dengan dosis tinggi akan menyebabkan tekanan pada sistem saraf pusat (Gunasekara, 2012).

2.5.1. Efek Alkohol Terhadap Tubuh

Etanol merupakan zat yang ada didalam alkohol dan memiliki sifat yang larut dalam air dan lemak, sehingga etanol langsung terserap kedalam usus lewat proses difusi pasif (Wardlaw, *et al.*, 2012). Kadar alkohol akan meningkat dan mencapai puncaknya didalam darah sekitar 30-90 menit setelah mengonsumsi alkohol. Salah satu organ yang mengalami kerusakan akibat penggunaan alkohol berlebih adalah testis. Alkohol menyebabkan penekanan fungsi organ reproduksi dan dianggap sebagai salah satu penyebab penurunan kualitas sperma (Gunasekara, 2012 ; Dosumu, *et al.*, 2014).

2.5.2. Metabolisme Alkohol dalam Tubuh

Penyerapan alkohol didalam lambung sekitar 20% dan penyerapan di dalam usus halus sekitar 80%, sedangkan alkohol dimetabolisme di dalam hati sekitar 85%-98%, sisanya akan dikeluarkan melalui paru-paru dan ginjal. Enzim yang berperan untuk memetabolisme alkohol yaitu enzim *alcohol dehydrogenase*, *acetaldehyde dehydrogenase*, dan *microsomal ethanol oxidizing system* (MEOS). Alkohol akan diubah menjadi asetaldehid oleh enzim *alcohol dehydrogenase* dan MEOS, sedangkan enzim *acetaldehid dehydrogenase* akan mengubah asetaldehid menjadi asetat (Wardlaw, *et al.*, 2012).

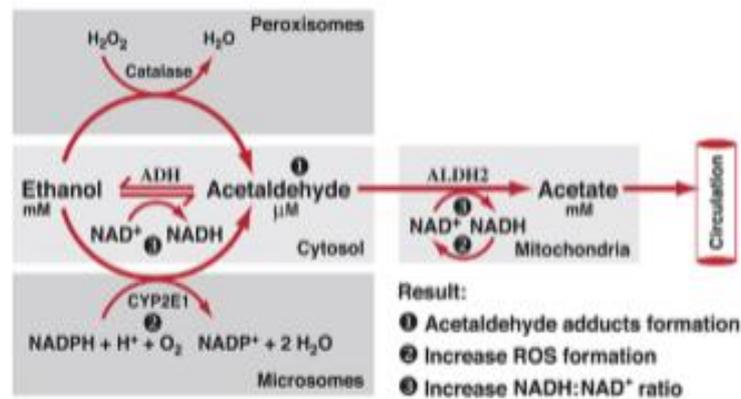
Metabolisme alkohol di dalam tubuh memiliki dua cara, yaitu reaksi oksidatif dan non oksidatif. Reaksi oksidatif menggunakan ADH (Alkohol Dehidrogenase), sitokrom CYP2E1 dan enzim katalase.

Alkohol masuk kedalam tubuh diabsorpsi di lambung dan usus halus serta terdistribusi dalam cairan tubuh. Di dalam organ hepar, alkohol akan dimetabolisme oleh enzim ADH menjadi asetaldehid yang bersifat toksik, karsinogenik, sangat reaktif, dan menyebabkan kecanduan. Kemudian oleh enzim asetaldehid dehydrogenase (ALDH), asetaldehid akan diubah menjadi asam asetat melalui siklus Krebs akan menghasilkan karbon dioksida dan air (Zakhari, 2006).

Alkohol mengalami oksidasi di mikrosom sel hepar oleh MEOS (Microsomal Ethanol Oxidizing System) yang menghasilkan asetaldehid. MEOS merupakan bagian dari superfamili P450 dan MEOS memiliki aktivitas enzim yang lebih tinggi daripada ADH. Pembentukan MEOS diinduksi oleh alkohol dan substrat lain yang termasuk famili sitokrom 450. Katalase yang berada pada peroksisom merupakan enzim yang bertugas dalam proses reaksi oksidatif dalam metabolisme alkohol pada hepar. Katalase juga akan mengoksidasi alkohol untuk menjadi asetaldehid. (Zakhari, 2006).

Metabolisme alkohol dengan reaksi non oksidatif menghasilkan dua formasi yaitu, *fatty acid ethyl esters* (FAEEs) dan molekul lemak yang berisi fosfolipid.

Reaksi oksidatif dan reaksi non-oksidatif dalam metabolisme alkohol dalam tubuh saling berhubungan satu sama lain. (Zakhari, 2006).



Gambar 2. Metabolisme Alkohol (Kumar, *et al.*, 2013).

2.5.3. Efek Alkohol Terhadap Spermatozoa

Konsumsi alkohol dapat menyebabkan terganggunya sistem hormon, salah satunya yaitu sistem *hypothalamus hypopituitary adrenal axis* yang akan menyebabkan *pseudo-cushing syndrome* yaitu keadaan yang timbul akibat kelebihan hormon kortisol didalam tubuh. Konsumsi alkohol juga menyebabkan gangguan pada sistem *hypopituitary-gonadal axis* dan menyebabkan penurunan kadar testosteron pada pria sehingga terjadi penurunan fungsi seksual. Alkohol menyebabkan peningkatan kadar prolaktin yang mengakibatkan impotensi pada pria. Alkohol dehidrogenase yang berada pada testis, dalam keadaan normal mampu mengubah retinol menjadi retinal, yaitu suatu senyawa yang penting untuk spermatogenesis. Alkohol dapat menghambat aktivitas alkohol dehidrogenase untuk membentuk retinal, sehingga proses spermatogenesis akan terganggu (National Institute on alcohol abuse and alcoholism, 1997).

Alkohol juga menyebabkan kegagalan hipotalamus dan hipofisis untuk mensekresikan GnRH (Gonadotrophine Releasing Hormone), FSH

(Follicle Stimulating Hormone), dan LH (Luteinizing Hormone). Penurunan GnRH akan menurunkan sekresi LH dan FSH, fungsi FSH sebagai pemelihara proses spermatogenesis melalui sel Sertoli dan LH pada sel Leydig baik dalam pertumbuhan dan fungsinya dalam mensekresi hormon testosteron ikut terganggu karena pengaruh dari konsumsi alkohol. Keterlambatan pubertas, atrofi testis, disfungsi ereksi, ginekomastia, gangguan spermatogenesis, hingga infertilitas juga dapat terjadi karena pengaruh konsumsi minuman beralkohol (Ngadji & Christianto, 2007).

Penggunaan alkohol baik akut ataupun kronik dapat menyebabkan terganggunya hormon hipotalamus LHRH dan hormon hipofisis LH, hal ini menyebabkan kadar testosteron menurun. Jika kadar testosteron rendah maka produksi fruktosa di vesika seminalis akan mengalami penurunan. Keadaan ini menyebabkan berkurangnya motilitas sperma karena sperma menggunakan fruktosa sebagai sumber energi menggerakkan flagellanya. Maka hal ini dapat disimpulkan bahwa alkohol dapat mengurangi performa pria dan mengurangi fertilitas (Hruska, 2000).

2.6 Spermatogenesis

2.6.1 Definisi

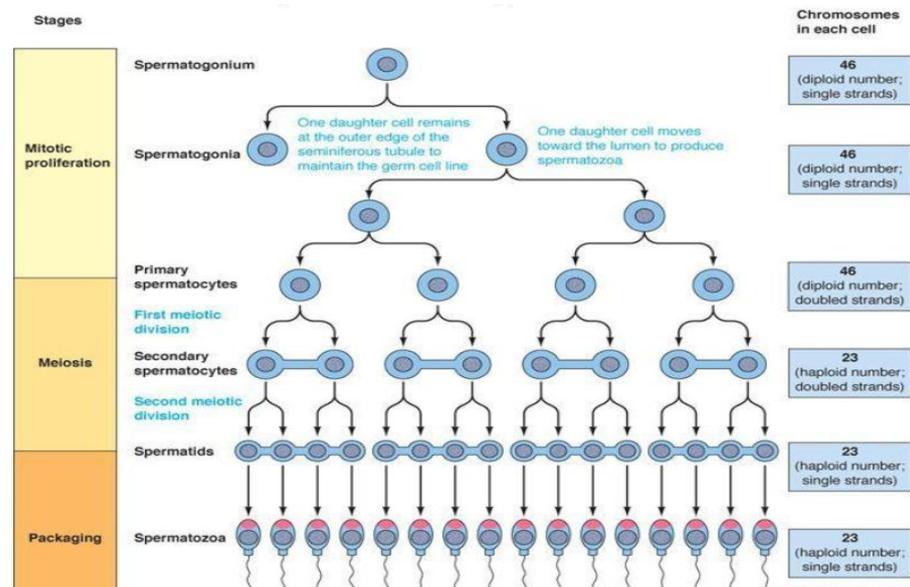
Spermatogenesis merupakan proses kompleks mengenai pembentukan sperma. Spermatogonia (sel germinativum primordial) berproliferasi menjadi spermatozoa, dan proses spermatogenesis sendiri membutuhkan waktu 64 hari dan terjadi didalam testis. Setiap hari terjadi tiga tahap utama yaitu proliferasi mitotik, meiosis, dan pengemasan yang akan menghasilkan beberapa ratus juta sperma matang (Sherwood, 2012).

2.6.2. Proses Spermatogenesis

Proliferasi mitotik dimulai dengan bermitosisnya sel spermatogonia yang menghasilkan sel anak berkromosom lengkap (46 kromosom) identik dengan sel induk. Satu sel anak hasil mitosis akan tetap berada di tepi luar tubulus seminiferus sebagai spermatogonium yang tidak berdiferensiasi, dan sel anak lain bergerak ke lumen lalu mengalami pembelahan mitosis sebanyak dua kali sehingga menghasilkan 4 spermatosit primer identik (Sherwood, 2012).

Pada fase meiosis pertama spermatosit primer dengan jumlah diploid 46 kromosom rangkap akan membentuk spermatosid sekunder haploid 23 kromosom rangkap. Pada fase meiosis kedua akan terbentuk empat spermatid 23 kromosom tunggal, lalu spermatid akan mengalami proses *remodeling* atau pengemasan dikenal sebagai spermiogenesis.

Spermiogenesis akan merubah spermatid menjadi spermatozoa, dan pada proses spermatogenik pada manusia akan menghasilkan 16 spermatozoa (Sherwood, 2012).



Gambar 3. Proses Spermatogenesis (Sherwood, 2012).

Analisis kualitas sperma menurut WHO mencakup analisis jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi yang telah ditentukan. Dengan melakukan analisis kualitas sperma dapat diketahui apakah seorang pria memiliki resiko terjadinya infertilitas (WHO, 2010). Infertilitas adalah ketidakmampuan pasangan yang telah menikah lebih dari satu tahun untuk hamil. Penyebab 40–90% kasus infertilitas pada pria masih tidak jelas, sehingga disebut dengan infertilitas idiopatik. Pada sperma pria yang infertil ditemukan peningkatan 25–40% ROS (Ghareeb & Sarhan, 2014

2.6.3 Jumlah Spermatozoa

Jumlah spermatozoa pada saat ejakulasi dihitung dari konsentrasi spermatozoa per mililiter (ml) semen. Nilai terendah dari jumlah sperma adalah $\geq 15 \times 10^6$ spermatozoa permiliter semen. Apabila kurang dari nilai tersebut maka seorang pria dikatakan memiliki oligospermiabila sama sekali tidak ditemukan spermatozoa didalam semen seorang pria maka pria tersebut dikatakan memiliki azospermia. Oligospermia merupakan salah satu faktor penting yang menjadi penyebab dari infertilitas. Sementara itu American Society of Reproductive Medicine (ASRM) tahun 2015 menyebutkan untuk dikatakan fertil dibutuhkan jumlah spermatozoa $\geq 48 \times 10^6$ /ml (WHO, 2010; ASRM, 2015).

2.6.4 Motilitas Spermatozoa

Motilitas sperma adalah refleksi perkembangan normal dan kematangan spermatozoa dalam epididimis. Gerakan ekor maju mundur memberikan motilitas sperma. Sperma normal bergerak dalam medium cair dengan kecepatan 1-4 mm/menit. Pematangan sperma terjadi di epididimis, sperma yang bergerak dari tubulus seminiferus dan dari bagian awal epididimis adalah sperma yang belum motil, tetapi setelah sperma berada dalam epididimis selama 18-24 jam, sperma akan memiliki kemampuan motilitas. Motilitas spermatozoa pada manusia dikatakan normal apabila pergerakan aktif di dapatkan $>50\%$, pergerakan lemah didapatkan $<30\%$, dan tidak bergerak didapatkan $<20\%$ (Guyton & Hall, 2007; WHO, 2010).

2.6.5 Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah ukuran ketahanan hidup sperma yang dapat diperkirakan dengan menilai integritas atau keutuhan membran sel sperma. Pemeriksaan viabilitas dapat dilakukan sebagai pemeriksaan rutin dan menjadi pemeriksaan yang penting untuk dilakukan pada pria dengan motilitas sperma kurang dari 40%. Pemeriksaan viabilitas sperma harus dilakukan sesegera mungkin, 30 menit sampai satu jam setelah proses pengenceran sampel semen dilakukan, hal ini bertujuan untuk menghindari efek temperature dan dehidrasi yang dapat merusak vitalitas sperma, salah satu pemeriksaan viabilitas sperma adalah metode *dye exclusion* (WHO, 2010).

Sperma yang mati akan memiliki membrane plasma yang tidak intak, metode *dye exclusion* didasari oleh prinsip kerusakan tersebut yang akan membuat masuknya zat warna untuk mewarnai membran plasma sperma yang telah mati, zat warna yang biasa digunakan adalah eosin. Eosin akan membuat sperma yang hidup memiliki kepala yang putih atau light pink karena membran plasmanya intak dan tidak menyerap warna. Sementara kepala sperma yang mati akan berwarna merah atau dark pink, karena membran plasmanya menyerap zat warna eosin. Sperma yang baik akan memiliki kualitas viabilitas $\geq 58\%$ setelah pengamatan menggunakan mikroskop (Talwar, 2015).

2.6.6 Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa manusia normal terdiri atas tiga bagian yaitu kepala, leher atau badan dan ekor, dengan panjang kurang lebih 50-70 mikron.

1. Kepala

Kepala memiliki panjang 4,5 mikron, lebar 3 mikron dan tebal 1,5 mikron. Bagian anterior kepala spermatozoa terdapat selubung yang disebut akrosom dan pada bagian posterior terdapat selubung yang disebut postakrosom. Fungsi akrosom sebagai penetrasi spermatozoa kepada ovum, akrosom mengandung banyak enzim hidrolitik dan proteolitik yang penting untuk penetrasi ovum saat fertilisasi.

2. Leher

Fungsi leher untuk menghubungkan kepala dengan ekor, bagian kepala mengandung sentriol dan berkas fibril halus. Sentriol sel pada bagian proksimal membentuk kapitulum berupa serabut aksial yang dikelilingi oleh mitokondria pada bagian tengah. Tiap serabut aksial terdiri dari sebelas serat fibril. Fibril aksial ini terdiri dari aktin dan miosin. Fibril aksial terdapat di bagian tengah ekor (*middle piece*) dan ekor (*principle piece*). Sistem fibril ini merupakan basis motilitas pergerakan spermatozoa.

3. Ekor

Panjang ekor mencapai 43 mikron, bagian ekor dibagi menjadi tiga bagian utama yaitu bagian tengah badan (*middle piece*), bagian utama ekor (*principle piece*), bagian ujung ekor (*end piece*).

2.7 Tikus Putih

2.7.1 Taksonomi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang sering digunakan untuk hewan laboratorium. Hewan laboratorium adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakkan untuk dipakai sebagai model untuk mempelajari berbagai macam bidang ilmu. Tikus putih memiliki beberapa keunggulan antara lain penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, sehat dan bersih, kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan singkat, serta memiliki karakteristik produksi dan reproduksi yang mirip dengan mamalia lainnya. Kriteria tikus putih yang dibutuhkan peneliti, antara lain : kontrol pakan, kontrol kesehatan, *recording*, jenis (*strain*), umur, bobot badan, jenis kelamin, dan silsilah genetik (Widiartini, *et al.*, 2013).

Klasifikasi dari tikus putih ialah:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Orde	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i> (Brekenhout, 1769).



Gambar 4. *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* (Akbar, 2010).

2.7.2 Struktur Dan Karakteristik

Dalam penelitian ini, tikus yang akan dijadikan hewan coba adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *sprague dawley*. Tikus ini memiliki ciri bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus tebal dan pendek dengan rambut halus, mata tikus putih berwarna merah.

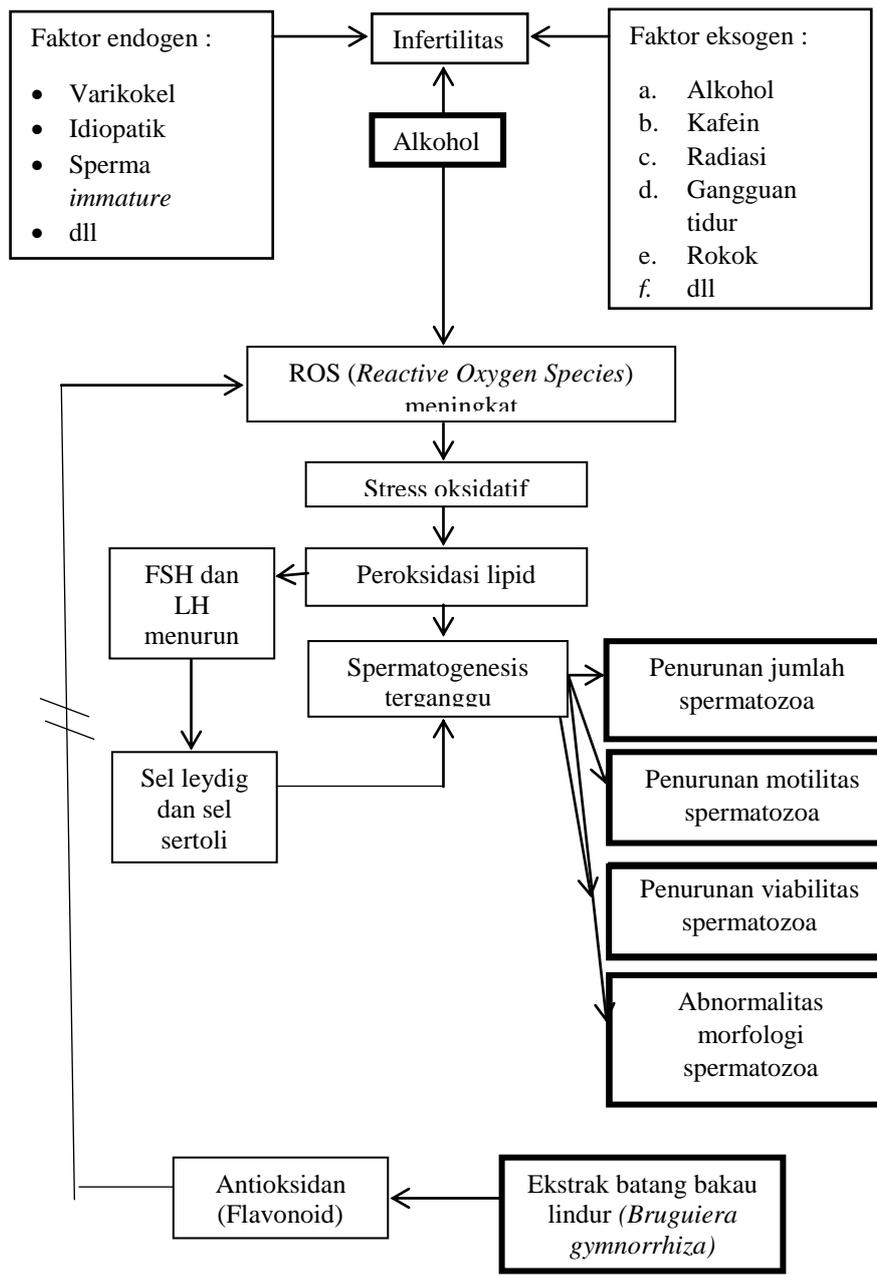
Ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang. Bobot badan tikus jantan pada umur duabelas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun (Pribadi, 2008).

2.8 Kerangka Teori

Kandungan antioksidan pada kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) bisa dijadikan salah satu solusi untuk mencegah terjadinya stress oksidatif akibat paparan radikal bebas yang berlebihan. Radikal bebas dapat meningkat akibat konsumsi etanol yang berlebihan.

Kadar *Reactive Oxygen Selective* (ROS) akan meningkat seiring dengan meningkatnya kadar radikal bebas. Antioksidan endogen tidak mampu menangkal banyaknya ROS yang meningkat. Hal tersebut memicu terjadinya stress oksidatif. Keadaan stress oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh, salah satunya kerusakan pada testis.

Keadaan stress oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas dari minuman beralkohol dapat menurunkan jumlah testosteron dalam plasma darah, penurunan jumlah, motolitas, viabilitas dan morfologi sperma yang akhirnya bisa menyebabkan infertilitas. Hal ini menyebabkan tubuh memerlukan antioksidan eksogen untuk menangkal peningkatan *Reactive Oxygen Selective* (ROS), salah satunya bisa didapat dari kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*).



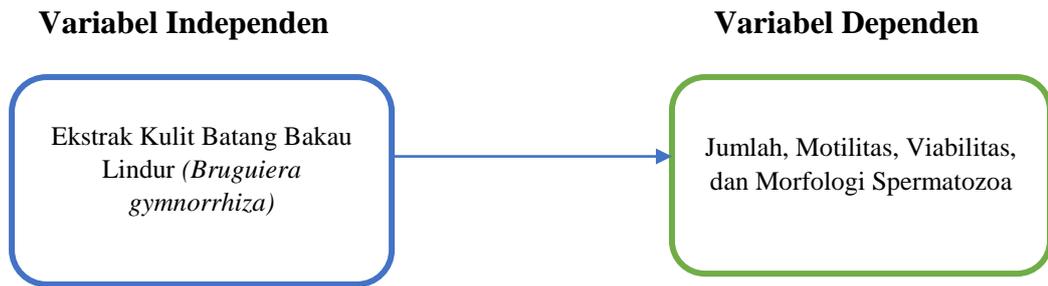
Gambar 5. Kerangka Teori

Keterangan :

: Variabel yang diteliti

: Menghambat

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis Penelitian

2.10.1. Hipotesis Alternatif (H1)

Terdapat pengaruh pemberian dosis ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi alkohol 25%.

2.10.2. Hipotesis Null (H0)

Tidak terdapat pengaruh pemberian dosis ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi alkohol 25%.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini ialah penelitian analitik kuantitatif *true experimental*. Penelitian *true experimental* yaitu penelitian yang dilakukan untuk menyelidiki kemungkinan hubungan sebab akibat dengan melakukan kontrol atau kendali (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Lokasi Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Terminasi dan pemeriksaan jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi sperma hewan coba dilakukan di Laboratorium Biokimia-Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi

Penelitian ini menggunakan populasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* usia 3 bulan atau 12 minggu dengan berat

200 gr – 250 gr yang diperoleh dari Yogyakarta Peternakan Tikus Putih

Penelitian dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi

- a. Sehat
- b. Memiliki berat badan 200-250 gram
- c. Jenis kelamin jantan
- d. Usia sekitar 3 bulan

2. Kriteria eksklusi

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah 1 minggu masa adaptasi di laboratorium
- b. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak, dan aktivitas kurang atau tidak aktif)
- c. Tikus mati

3.3.2 Sampel

Sampel diperoleh dari populasi dengan teknik *Simple Random Sampling* (acak sederhana) dengan cara pengundian. Besar sampel ditetapkan dengan menggunakan rumus Frederer (Didik, 2013) :

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel dalam satu kelompok

dari rumus tersebut didapatkan jumlah sampel:

$$\begin{aligned}(4 - 1)(n - 1) &\geq 15 \\ 3n - 4 &\geq 15 \\ 3n &\geq 15 + 4 \\ 3n &\geq 19 \\ n &\geq 6.3 \\ N &\approx 6\end{aligned}$$

Dari perhitungan diatas didapatkan sampel minimal sebanyak 6 ekor.

Untuk mencegah terjadinya kekurangan sampel akibat *drop out* dalam penelitian, maka dihitung kembali sampel dengan rumus *drop out* yaitu (UGM, 2011) :

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan:

N = Jumlah sampel koreksi

f = perkiraan proporsi drop out (f=10%)

$$N = \frac{6}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{6}{0,8}$$

$$N = 7.5$$

$$N \approx 8$$

Jadi jumlah keseluruhan sampel penelitian adalah:

Ada 4 kelompok dengan jumlah keseluruhan ada 32 ekor tikus.

3.3.3 Kelompok Perlakuan

1. Kelompok kontrol negatif (K1)

Kelompok tikus yang diberi aquadest, namun tidak diinduksi alkohol 25% dan tidak diberikan ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*).

2. Kelompok kontrol positif (K2)

Kelompok tikus yang diinduksi alkohol 25% dengan dosis 0,6 ml selama 7 hari (Osonuga OA, *et al.*, 2010).

3. Kelompok perlakuan 1 (P1)

Kelompok tikus yang diinduksi alkohol 25% dengan dosis 0,6 ml (Osonuga OA, *et al.*, 2010). Lalu diikuti pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan dosis 150 mg/hari selama 7 hari.

4. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Kelompok tikus yang diinduksi alkohol 25% dengan dosis 0,6 ml dan diikuti pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan dosis 300 mg/hari selama 7 hari.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan *post test with sample randomized control group design*. Pengambilan data hanya dilakukan setelah perlakuan. Semua kelompok dianggap sama sebelum perlakuan. Setelah pemberian perlakuan, peneliti membandingkan hasil antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Independen

Variabel independen (bebas) pada penelitian ini adalah ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang diinduksi alkohol 25%.

3.5.2 Variabel Dependen

Variabel dependen (terikat) pada penelitian ini adalah jumlah, motilitas, viabilitas, dan morfologi sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley*.

3.5.3 Variabel Perantara

1. Variabel perantara yang dapat dikendalikan adalah jenis tikus, umur tikus, makanan tikus, minuman tikus, dan dosis ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*).
2. Variabel perantara yang tidak dapat dikendalikan adalah absorpsi ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) pada tikus dan respon tikus yang diinduksi alkohol.

3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Definisi operasional mengenai variabel penelitian dijelaskan dari tabel berikut:

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur	Kulit batang bakau lindur diekstrak lalu diberikan padan hewan coba 1x perhari	Neraca	Dosis ekstrak kulit batang bakau lindur 150 mg/kgBB; 300 mg/kgBB (Sur, Hazra, & Bhattacharyya <i>et al.</i> , 2016).	Kategorik
Jumlah Spermatozoa	Jumlah atau konsentrasi spermatozoa per ml	<i>Improved Neubauer</i> , Mikroskop cahaya	Jumlah dihitung di <i>Improved Neubauer</i> (juta/ml)	Numerik
Motilitas Spermatozoa	Pergerakan spermatozoa yang terlihat bergerak atau tidak bergerak diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x.	Mikroskop cahaya	Presentase spermatozoa motil dibandingkan dengan total spermatozoa yang diamati	Numerik
Viabilitas Spermatozoa	Daya tahan hidup spermatozoa diluar testis	Mikroskop cahaya	Persen (%)	Numerik
Morfologi Spermatozoa	Diamati bentuk spermatozoa dengan 5 lapang pandang mikroskop dalam jumlah 100 spermatozoa	Mikroskop cahaya	Presentase spermatozoa bentuk normal	Numerik

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1. Alat untuk pembuatan ekstrak adalah:

1. Mesin penggiling
2. Kertas saring
3. Labu elenmeyer
4. Neraca analitik
5. Pipet ukur

6. *Rotary evaporator*

7. Gelas ukur

3.7.2. Alat yang digunakan selama perlakuan adalah:

1. Kandang tikus
2. Tempat makan dan minum tikus
3. Neraca elektronik dengan kapasitas/daya baca 3000gr/0,01 gr
4. Sonde lambung tikus
5. Lemari pendingin untuk menyimpan ekstrak
6. Spuit oral 1 cc
7. Alat bedah minor
8. Kamera digital
9. *Handscoon* dan masker
10. Gelas ukur dan pengduk

3.7.3. Alat dalam pembuatan preparat spermatozoa adalah :

1. Cover glass
2. Object glass
3. Tissue cassette
4. Kertas saring
5. *Improved Neubauer*
6. Minyak emersi
7. Mikropipet

3.7.4. Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah:

1. Kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)
2. Etanol 96%

3.7.5. Bahan yang digunakan selama perlakuan adalah:

1. Pakan standar (pelet dan gabah)
2. Air minum
3. Sekam
4. Alkohol 25%

3.7.6. Bahan yang digunakan dalam pembuatan preparat spermatozoa adalah:

1. NaCl 0,9%
2. Pewarna giemsa
3. Aquadest
4. Menthanol

3.8 Cara Kerja

3.8.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus sebanyak 32 ekor dibagi atas 4 kelompok atau sama dengan 8 ekor tikus tiap kelompok dan diadaptasi dalam waktu 7 hari di kandang pemeliharaan untuk menyamakan cara hidup dan makanannya sebelum diberi perlakuan. Tikus diletakkan didalam kandang yang dialasi sekam setinggi 0,5-1cm yang diganti setiap hari untuk mencegah infeksi dan ditutup menggunakan kawat, kandang diletakkan di *Animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Setelah 7 hari, tikus di lihat kondisi umumnya dan ditimbang berat badannya, tikus yang digunakan ialah tikus yang sehat, tidak mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% (Larasati, 2013).

3.8.2 Prosedur Pemberian Aquades

Pada penelitian ini pemberian aquades diberikan secara oral. Pemberian aquades yaitu sebesar 1% dari berat badan. Hewan uji yang diberikan memiliki berat sekitar 200 gram, sehingga rumus perhitungan aquades sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Berat badan} \times \text{Persen pemberian} &= 200 \text{ gram} \times 1\% \\ &= 200 \text{ gram} \times (1\text{ml}/ 100 \text{ gram}) \\ &= 2 \text{ ml/ hari} \end{aligned}$$

3.8.3 Induksi Pemberian Alkohol 25%

Dosis etanol yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar etanol 25%. Kadar ini banyak dikonsumsi masyarakat. Induksi alkohol dengan kadar etanol 25% dengan dosis 0,6 ml/sonde diberikan selama 7 hari perlakuan (Osonuga, *et al.*, 2010).

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur

Tanaman bakau lindur didapatkan dari Lampung Timur kecamatan Labuhan Maringgai desa Margasari. Kulit batang dipisahkan dari pohonnya, potongan kulit batang bakau lindur dimasukkan kedalam mesin penggiling untuk mendapatkan tekstur yang diinginkan, penggilingan ini dilakukan di Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Selanjutnya serbuk kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) sebanyak 500 gram direndam kedalam pelarut etanol

96% sampai terendam seluruhnya, selanjutnya 6 jam pertama di aduk aduk lalu direndam (*maseasi*) selama 18 jam. Hasil campuran dengan pelarut etanol 96% disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang didapat selanjutnya diuapkan dengan rotatory evaporator 60°C. Hasil ekstrak kulit batang bakau lindur kemudian ditimbang dan didapatkan volume serta berat jenisnya. Kemudian dilakukan pengenceran dan didapatkan dosis yang akan digunakan pada penelitian (Darminto, *et al.*, 2009).

3.8.5 Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur pada Hewan Coba

Setiap kelompok tikus diberikan perlakuan pemberian ekstrak kulit batang bakau lindur dengan dosis yang berbeda. Pembagian empat kelompok tersebut, ialah:

1. Kelompok Kontrol Negatif (K1)

Kelompok tikus kontrol tanpa pemberian ekstrak kulit batang lindur dan tanpa diinduksi alkohol 25%

2. Kelompok Kontrol Positif (K2)

Kelompok tikus kontrol tanpa pemberian ekstrak kulit batang lindur dan diinduksi alkohol 25% selama 7 hari.

3. Kelompok Perlakuan 1 (P1)

Kelompok tikus kontrol dengan pemberian ekstrak kulit batang lindur dengan dosis 150 mg/kgBB/hari dan diinduksi alkohol 25% selama 7 hari.

4. Kelompok Perlakuan 2 (P2)

Kelompok tikus kontrol dengan pemberian ekstrak kulit batang lindur dengan dosis 300 mg/kgBB/hari dan diinduksi alkohol 25% selama 7 hari.

3.8.6 Terminasi Hewan Coba

Setelah 7 hari perlakuan, masing-masing hewan coba dianestesi dengan *ketamine-xylazine*. Setelah tikus dibedah untuk diambil organ testisnya, kemudian testis diletakkan pada gelas ukur berisi NaCl 0,9% agar dapat dengan mudah memisahkan testis dengan lemak.

3.8.7 Pengamatan Jumlah, Motilitas, Viabilitas, dan Morfologi Spermatozoa

1. Pengambilan Sekresi Kauda Epididimis

Untuk mendapatkan spermatozoa didalam sekresi kauda epididimis harus dilakukan pembedahan. Lalu organ testis dan epididimis diambil dan diletakkan kedalam cawan petri yang berisi NaCl 0,9%. Dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x kauda epididimis dipisahkan dengan cara memotong bagian proksimal korpus epididimis dan bagian distal vas deferens. Kauda epididimis dimasukkan kedalam gelas arloji yang berisi 1 ml NaCl 0,9% lalu bagian proksimal kauda dipotong dan ditekan secara perlahan hingga cairan sekresi epididimis keluar dan

tersuspensi dengan NaCl 0,9%. Suspensi spermatozoa dari kauda epididimis dapat digunakan untuk pengamatan yang meliputi jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa.

2. Jumlah Spermatozoa

Suspensi spermatozoa yang diperoleh harus dihomogenkan dengan NaCl 0,9%, selanjutnya diambil 10 µl sampel dan dimasukkan kedalam kotak *hemocytometer improved Neubauer* dan ditutup dengan kaca penutup. Amati dengan mikroskop cahaya perbesaran 40x, *hemocytometer* diletakkan dan dihitung jumlah spermatozoa pada kotak kamar hitung. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam rumus penentuan jumlah spermatozoa ml suspensi sekresi kauda epididimis sebagai berikut (Gandasoebrata, 1984).

$$\text{Jumlah spermatozoa} = n \times \text{pengenceran} \times 10^6 \text{ (juta/ml)}$$

3. Motilitas Spermatozoa

Untuk menentukan motilitas spermatozoa diambil spermatozoa dari kauda epididimis seperti penjelasan di atas kurang lebih 10-15 µl ke atas gelas objek lalu ditutup dengan cover glass.

Kategori perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Berdasarkan motilitas bergerak atau tidaknya spermatozoa tikus. Biasanya empat sampai enam lapangan pandang yang diperiksa untuk memperoleh seratus

spermatozoa secara berurutan yang kemudian diklasifikasi sehingga menghasilkan persentase setiap kategori motilitas (Rahmanisa, 2013).

$$\% \text{ motilitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa progresif (n)}}{\text{total spermatozoa yang diamati (N)}} \times 100$$

Pengamatan dilakukan empat sampai enam lapang pandang dengan kriteria motilitas sebagai berikut :

A : Berjalan cepat dan lurus

B : Berjalan lambat

C : Bergerak ditempat

D : Tidak bergerak sama sekali

Data yang diambil adalah spermatozoa yang kualitasnya bagus yaitu dengan kriteria bergerak dan tidak bergerak.

4. Viabilitas Spermatozoa

Perhitungan daya tahan hidup (viabilitas) sperma dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen pada gelas objek dan ditambahkan satu tetes larutan eosin dengan konsentrasi 10%. Dilakukan smear dan ditutup dengan kaca penutup untuk kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x. Diamati kurang lebih 200 spermatozoa dan dihitung spermatozoa yang hidup (tidak menyerap warna) dan spermatozoa yang mati (menyerap warna) kemudian dihitung persentasenya.

Persentase viabilitas spermatozoa dapat dilihat dari jumlah spermatozoa hidup dibandingkan dengan spermatozoa yang mati

dari 200 spermatozoa. Spermatozoa hidup memiliki kepala spermatozoa yang berwarna putih sedangkan spermatozoa mati diketahui dengan melihat kepala spermatozoa berwarna ungu atau merah setelah diwarnai dengan eosin. Perhitungan viabilitas menggunakan rumus:

5. Morfologi Spermatozoa

Untuk menentukan morfologi spermatozoa diambil spermatozoa dari kauda epididimis seperti penjelasan di atas, kemudian dibuat apusan menggunakan kaca objek, lalu dikeringkan. Kemudian fiksasi dengan diberikan methil alkohol selama 5 menit dikeringkan kemudian diberi

pewarna giemsa selama 5 menit. Setelah itu dibilas dengan aquades lalu dikeringkan. Kemudian di bawah mikroskop cahaya diamati dan dihitung dalam satu lapang pandang dengan pembesaran 100x (Rahmanisa, 2013). Interpretasi normal morfologi spermatozoa adalah didapatkan bila >30% (WHO, 2010).

$$\% \text{ morfologi} = \frac{\text{jumlah spermatozoa normal } (n)}{\text{total spermatozoa yang diamati } (N)} \times 100\%$$

3.9 Teknik Analisis Data

Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengolah data ialah analisis bivariat. Data dari hasil penelitian lalu di uji normalitas datanya

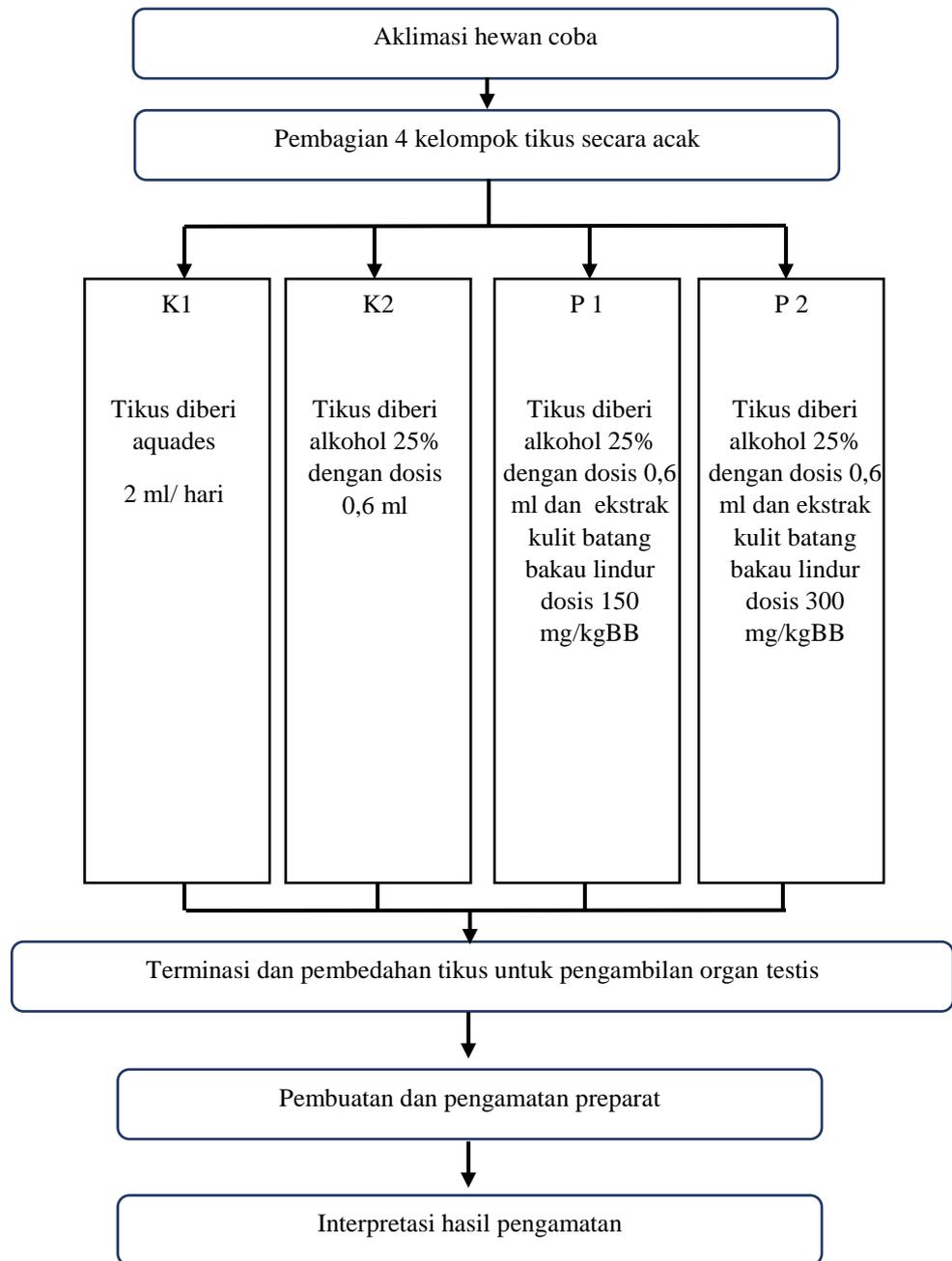
dengan uji *Shapiro-Wilk* (jumlah sampel ≤ 50) untuk mengetahui normalitas dari distribusi data penelitian (Notoatmodjo, 2010).

Jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji parametrik. Sedangkan, jika data tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik. Lalu dilakukan uji homogenitas data dengan uji *Levene* untuk mengetahui varians data (Notoatmodjo, 2010).

Jika data penelitian terdistribusi normal serta varians data homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*. Jika hasil uji bermakna menunjukkan data signifikan ($p < 0,05$) dan varian data sama, maka dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Bonferroni*. Namun jika varian data berbeda dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Tamhane's* untuk mengetahui perbedaan hasil antar kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

Jika data penelitian terdistribusi tidak normal, maka dilanjutkan uji non-parametrik uji *Kruskal-Wallis*. Jika hasil uji bermakna menunjukkan data signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan hasil antar kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

3.10 Alur Penelitian



Gambar 7. Diagram Alur Penelitian

3.11 Etika Penelitian

Pada penelitian ini didapatkan Persetujuan Etik (*Ethical Approval*) dengan No : 1085/UN26.18/pp.05.02.00/2019 dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap Jumlah dan Kualitas Sperma Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley yang Diinduksi Alkohol”.

Prinsip etika dalam menggunakan hewan coba untuk penelitian harus memenuhi prinsip 3R yaitu :

1. *Replacement*, adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan dari pengalaman terdahulu maupun literatur yang ada untuk menjawab pertanyaan penelitian yang tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.
2. *Reduction*, adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sedikit mungkin, namun tetap mendapatkan hasil yang optimal. Maka dari itu digunakan rumus frederer untuk mengetahui sampel minimal.
2. *Refinement*, adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi:
 - a. Bebas dari rasa lapar dan haus, dengan cara hewan coba diberikan pakan standar dan minum ad libitum.
 - b. Bebas dari ketidaknyamanan, dengan cara hewan coba ditempatkan pada *animal house* dengan suhu ruangan sekitar 25-30°C, jauh dari gangguan bising dan aktivitas manusia, serta terjaga kebersihannya.

- c. Bebas dari nyeri dan penyakit dengan menjalankan pencegahan, pemantauan, serta pengobatan terhadap hewan percobaan jika diperlukan.
- d. Bebas dari rasa takut dan stres, dengan cara hewan coba diberikan waktu aklimatisasi selama 7 hari.
- e. Bebas mengekspresikan tingkah-laku alamiah, pada penelitian ini masing-masing hewan coba ditempatkan pada satu kandang dengan jumlah enam ekor agar dapat mengekspresikan kontak sosial (Ridwan, 2013).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan diatas, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat pengaruh pemberian dosis ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap jumlah dan kualitas sperma tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Spargue-Dawley* yang diinduksi alkohol.
2. Secara stastistik, dosis efektif dari ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang dapat memberikan efek protektif terhadap jumlah dan kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi alkohol 25% sebesar 150 mg/kgBB.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk meneliti pengaruh ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap parameter lain.
2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk meneliti pengaruh fraksi antioksidan dari kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dalam mencegah terjadinya stress oksidatif.
3. Peneliti lain disarankan dapat meneliti untuk menguji lebih lanjut dosis toksisitas dari ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*).
4. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan rentang dosis ekstrak kulit batang bakau lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang lebih bervariasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. Tumbuhan dengan kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas (1st ed.). Jakarta: Adabia Press.
- ASRM. 2015. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *J Fertility and Sterility*. 103(3): 1–8.
- Brekenhout. 1769. *Rattus norvegicus*. Integrated Taxonomic Information System.
- Candrawati S. 2013. Pengaruh Aktivitas Fisik terhadap Stres Oksidatif, *Mandala of Health*, 6, pp. 454–461.
- Darminto, Alimudin A, Iwan D. 2009. Potensi Ekstrak Etanol Kulit Batang Tumbuhan Mangrove (*Avicennia Spp*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas Hydrophyla*. *Jurnal Bionature*. 10 (2): 56-59.
- Dharma HS. 2012. Peranan Antioksidan Endogen dan Eksogen terhadap Kesehatan. *Medical Department Kalbe Farma*. 39(10): 793-794.
- Dosumu OO, Duru O, FI AA, Osinubi AA. 2010. Influence Of Virgin Coconut Oil (VCNO) On Oxidative Stress, Serum Testosterone And Gonadotropic Hormones (FSH, LH) In Chronic Ethanol Ingestion. *Agric Biol J North Am. Elsevier*: 1126–32.
- Duke CN, Allen AJ. 2006. *Bruguiera gymnorrhiza* Large Leafed Mangrove. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry [Online Artikel] [diakses pada 23 September 2018]. Tersedia dari:<http://www.traditionaltree.org>.
- Gandasoebrata R. 1984. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animal*. 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Ghareeb DA, Sarhan EME. 2014. Role of oxidative stress in male fertility and idiopathic infertility: causes and treatment. *Journal of diagnostic technique & biomedical analysis*. 3(1): 1–12.
- Gunasekara FI. 2012. Alcohol – the body and health effects : a brief overview. Alcohol Advisory Council of New Zealand.

- Guyton AC, Hall JE. 2007. Fisiologi Kedokteran. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Hruska SK, Furth AP, Seifer BD, Sharara IF, Flaws AJ. 2000. Environmental Factors In Infertility: Clinical Obstetrics and Gynecology. Lippincott William And Wilkins. 43(4): 821-829.
- Jacob AM, Suptijah P, Zahidah. 2013. Komposisi Kimia Komponen Bioaktif Dan Aktivitas Antioksidan Buah Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 16 (1): 86-94.
- Jas, Admar. 2009. Perihal Resep dan Dosis. USU. Medan. 1(3) : 7-10.
- Kumar V, Abbas AK, Asyer JC. 2013. Buku ajar patologi robbins. Edisi 9. I. M. Nasar dan S. Comain, penyunting. Singapura : Elsevier: 595-618.
- Larasati W. 2013. Uji Antifertilitas Ekstrak Etil Asetat Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley secara in vivo [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Murray RK., Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. 2014. Biokimia Harrper. Edisi ke-29. Jakarta: EGC.
- National institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. 1997. Alcohol Health & Rescarech World: Alcohol's Effect on Organ Function. National Technical Information Service. 21(1).
- Ngadji, Christianto HIOA. 2007. Pengaruh Pemberian Etanol Peroral Terhadap Gambaran Histologik Sel-Sel Spermatogenik dan Sel Leydig Pada Testis Tikus Putih. JIPTUNAIR. Surabaya.
- Nilna. 2010. Standar Operasional Pekerjaan Prosesing Semen. Dinas Peternakan Provinsi Sumatera Barat. Padang.
- Notoatmodjo, S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nurdyansyah F. 2017. Stres Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Latihan Fisik. Jurnal Jendela Olahraga Universitas PGRI Semarang. 2(1): 105-109.
- Osonuga OA, Osonuga OI, Osonuga AA. 2010. Deleterious Effects of Ethanol on Hematological Parameters and Fertility in Albino Rats. School of Medical Sciences University of Cape Coast. 1(2010): 37-40.
- Pavlovic P, Cekic S, Rankovic G, Stoiljkovic N. 2005. Antioxidant and pro-oxidant effect of ascoobic acid. Acta Medica Medianae. 44(1): 65-69.
- Pribadi GA. 2008. Penggunaan Mencit dan Tikus sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, *et al.* 2014. Oxidative Stress , Prooxidants , and Antioxidants : The Interplay.Hindawi Publishing Corporation: 1-16.
- Rahmanisa S, Maisuri R. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak jahe merah (*zingiber officinale roxb.var rubrum*) dan zinc (zn) terhadap jumlah, motilitas dan morfologi spermatozoa pada tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan dewasa strain spague dawley. *Juke Unila.* 3(2): 33–37.
- Ridwan E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan Dalam Penelitian Kesehatan. *Journal of the Indonesian Medical Association.* 63(3) : 112-116
- Schieber, M. and Chandel, N. S. 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. Elsevier, 24(10) : 453-462.
- Sherwood LL. 2012. Fisiologi manusia dari sel ke sistem. Jakarta: EGC.
- Sudirman S. 2016. Identifikasi Struktur Senyawa Antioksidan Buah Lindur Identification Of Antioxidant Compounds Structure Large Leafed Mangrove Fruit. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 19(2): 94-99.
- Sugeng AW. 2012. Keracunan alkohol beracun. Laporan Kasus ICU RS Mitra Kemayoran. 2(2): 109-1.
- Sugiar HR. 2013. Efektifitas Penggunaan Metode Analisis Teks Teknik Catatan Tulis Dan Susun Pada Pembelajaran Shokyu Choukai II. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Suhardi. 2011. Preferensi di Indonesia menurut riskesdas 2007.Jakarta : Departemen Kesehatan.
- Sukarjati. 2012. Hubungan Motilitas Dan Vitalitas Spermatozoa Dengan Kadar Reactive Oxygen Species Pada Inkubasi Spermatozoa Manusia Dengan Granulosit Secara In Vitro. *Jurnal Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Semarang.* 59(2) : 28-36.
- Susmiarsih PT, Kenconoviyati, Kuslestari. 2018. Potensi Ekstrak Daun Teh Hijau Terhadap Morfologi Dan Motilitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Paparan Asap Rokok. *Majalah Kesehatan PharmaMedika.* 10(1): 1-7.
- Talwar P. 2015. Sperm function test. *Journal of Human Reproductive Science.* 8(2):61-4.

- Tampubolon A. 2017. Mangrove Memelihara Bentang Kehidupan Lahan dan Laut. Bogor : Kementerian Lingkungan Hidup Dan Kehutanan Badan Penelitian Pengembangan Dan Inovasi Pusat Penelitian Dan Pengembangan Hutan.
- Triyono. 2014. Gambaran Persepsi Peminum Alkohol Tentang Dampak Kesehatan Pada Peminum Alkohol di Dukuh Mendungan. Jurnal Kesehatan : 3.
- Utari DSPT. 2016. Potensi Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Dari Mangrove Sebagai Antioksidan Dan Inhibitor α -Glukosidase [Thesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Wardlaw GM, Smith AM, Lindemen AK. 2012. Contemporary Nutrition : A Functional Approach. McGraw-Hill: 672-677.
- WHO. 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Edisi ke-5. Switzerland: World health organization.
- Widiartini W, Siswari E, Setiyawati A, Rohmah IM, Prastyo E. 2013. Pengembangan usaha produksi tikus putih (*Rattus norvegicus*) tersertifikasi dalam upaya memenuhi kebutuhan dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratoris. Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.
- Zakhari S. 2006. Overview : how is alcohol metabolized by the body?. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAA) 5635, Fisher Lane. MSC 9304 Bethesda