

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU
MINYAK *Rhizophora apiculata* TERHADAP KUANTITAS DAN
KUALITAS SPERMATOZOA, DIAMETER TUBULUS
SEMINIFERUS & JUMLAH SPERMATOSIT PRIMER
TESTIS TIKUS PUTIH *Rattus novergicus* JANTAN
GALUR *Sprague dawley* YANG
DIINDUKSI GENTAMISIN**

(Skripsi)

**Oleh:
SALWA AL KARINA
2118011094**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU
MINYAK *Rhizophora apiculata* TERHADAP KUANTITAS DAN
KUALITAS SPERMATOZOA, DIAMETER TUBULUS
SEMINIFERUS & JUMLAH SPERMATOSIT PRIMER
TESTIS TIKUS PUTIH *Rattus novergicus* JANTAN
GALUR *Sprague dawley* YANG
DIINDUKSI GENTAMISIN**

Oleh

Salwa Al Karina

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK *Rhizophora apiculata* TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA, DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS DAN JUMLAH SPERMATOSIT PRIMER TESTIS TIKUS PUTIH *Rattus novergicus* JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI GENTAMISIN**

Nama Mahasiswa : **Satwa Al Karina**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2118011094

Program Studi : PENDIDIKAN DOKTER

Fakultas : KEDOKTERAN

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Dr. Si dr. Syazili Mustofa, M.Biomed
NIP. 19830713 200812 1003


dr. Giska Tri Putra, M.Ling
NIK. 231612900307201

2. Dekan Fakultas Kedokteran

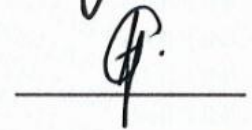

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP 19760120 200312 2001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji : **Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, M.Biomed**



Sekretaris : **dr. Giska Tri Putri, M.Ling**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP 19760120 200312 2001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **09 Januari 2025**

LEMBAR PERNYATAAN


Dengan ini saya menyatakan bahwa:

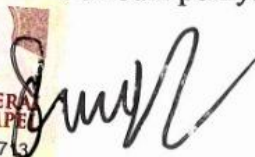
1. Skripsi dengan judul “**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK *Rhizophora apiculata* TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA, DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS & JUMLAH SPERMATOSIT PRIMER TESTIS TIKUS PUTIH *Rattus novvergicus* JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI GENTAMISIN**” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 9 Januari 2025

Pembuat pernyataan,





Salwa Al Karina

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada 11 Juli 2003 sebagai anak kedua dari dua bersaudara, putri dari Bapak Imron dan Ibu Kori Pardahening.

Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Al-Kautsar Bandar Lampung, Sekolah Dasar (SD) di SD Al-Kautsar Bandar Lampung, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Al-Kautsar Bandar Lampung, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 2 Bandar Lampung.

Penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sejak tahun 2021 melalui ujian tertulis Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti kegiatan organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya"

- Q.S Al-Baqarah: 286

*"Jika kamu tidak tahan terhadap penatnya belajar, maka kamu akan menanggung
bahayanya kebodohan"*

- Imam Syafe'i

"The root of education are bitter, but the fruit is sweet"

- Aristotles

SANWACANA

Segala puji serta syukur ke hadirat Allah Subhanahu Wata'ala, Tuhan semesta Alam yang telah melimpahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis sampai pada titik ini dan dapat menyelesaikan skripsi ini tepat waktu dengan baik. Sholawat dan salam penulis sampaikan kepada Nabi Muhammad Shallallahu 'Alaihi Wa Sallam, manusia terbaik yang menjadi teladan sepanjang masa yang senantiasa menginspirasi penulis untuk terus belajar seumur hidup serta berusaha menjadi umat islam yang baik dan bermanfaat bagi sesama manusia.

Karya skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA, DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS & JUMLAH SPERMATOSIT PRIMER TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI GENTAMISIN”** ini merupakan syarat penulis untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, saran, bimbingan, dukungan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang mendalam kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked).
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

4. Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, M.Biomed. selaku pembimbing I serta Pembimbing Akademik atas kesediaannya meluangkan waktu, membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan ilmu, nasihat, kritik, saran, serta motivasi yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini dan selalu senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, dan nasihat di setiap semester di Fakultas Kedokteran.
5. dr. Giska Tri Putri, M.Ling. selaku pembimbing II atas kesediaannya meluangkan waktu, membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan ilmu, nasihat, kritik, saran, serta motivasi yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.
6. Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku pembahas yang dengan kesabarannya bersedia menyediakan waktu dan memberikan evaluasi, kritik, saran, dan nasihat yang sangat bermanfaat dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Seluruh dosen, staf pengajar, dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan wawasan yang telah diberikan kepada penulis sebagai landasan bagi masa depan dan cita-cita.
8. Kepada Mamaku tercinta, Mama terbaik, Mama Kori, yang telah melahirkan, merawat, dan membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang. Sosok yang luar biasa yang menjadi tempat terbaik bagi penulis untuk berbagi cerita, mencurahkan kesedihan dan memberikan pelukan hangat jika penulis berada dititik terendah. Terima kasih banyak atas segala doa, dukungan, semangat dan motivasi yang telah mama berikan sehingga penulis bisa bertahan selama ini. Semoga Allah SWT. memberikan Mama kesehatan agar selalu menemani penulis di setiap langkahnya.
9. Kepada Papaku terhebat, Papa tersayang, Papa Imron. Terima kasih papa yang tidak pernah lelah berjuang demi kesuksesan penulis. Dengan segala kerja keras, menghabiskan waktu dan tenaga untuk kebahagiaan penulis. Tiada kata yang cukup untuk menggambarkan betapa besar pengorbanan yang papa berikan. Terima kasih atas setiap nasihat dan keyakinan yang selalu diberikan kepada penulis. Semoga Allah SWT. memberikan papa keberkahan yang berlimpah.

10. Kakak saya tersayang Muhammad Fachry Al Faiz, yang selalu memberikan semangat dan doa-doa demi kelancaran dan kemudahan penulis dalam menyelesaikan skripsi dan masa pendidikan ini.
11. Buchori Ainun Family dan Hi. Basri Brothers yang selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terus berjuang menyelesaikan perkuliahan
12. Seluruh *staff* dan dokter hewan Balai Veteriner Kota Bandar Lampung yang telah mengizinkan, dan memberikan kesempatan, serta bantuannya untuk penulis melaksanakan penelitian ini.
13. Teman teman seperbimbingan *Rhizophora apiculata* Liza Anggraeni, Fania Asfi, Alif Ramadhan, Yoga Ananta, Iqbal Muhammad. Terima kasih atas bantuan, dukungan, doa yang selalu diberikan untuk penulis dari awal penyusunan hingga menyelesaikan skripsi ini.
14. Teman-teman Orbitianz. Zakky, Tiara, Azqiya, Fauzan, Noel, Ody, Awe, Ghefira, Lala, Haya, Mayang, Karis, Ghaza. Terimakasih untuk dukungan yang selalu diberikan dan cerita cerita menyenangkan selama berada di Fakultas Kedokteran ini.
15. Teman-teman TUTOR 17 (SA17TUY) Fidela, Azqiya, Awe, Mabhruka, Nabila, Dea, Faza, Nadhif, Fathimah, Rachel, yang telah hadir semasa perkuliahan ini, kebersamai kegiatan tutor, CSL, FOHC, *Walkthrough Survey*, *Plant Survey*, terimakasih sudah kebersamai dalam menjalani semester-semester yang berat ini.
16. Teman-teman pertama penulis di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Reny, Emil, Fahmi dan Ridwan. Terima kasih sudah kebersamai sejak awal perkuliahan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
17. Sahabat "Sibuk Se-Dunia" Bintang, Rio dan Shira. Terima Kasih telah mewarnai hari-hari dengan canda dan tawa, saling memberikan dukungan dan memberi motivasi ketika sedang berada di titik terendah
18. Sahabat "Putri Mayo" Fadhlán, Dhiya, dan Rio. Terima Kasih selalu mendukung sejak SMA yang saling menguatkan selama 7 tahun ini.
19. Teman-teman angkatan 2021 PU21N-PI21MIDIN Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan, dukungan, dan kebersamaannya selama proses perkuliahan.

20. Civitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, khususnya Mas Anggi, Mas Ilham dan Mas Merem. Terima kasih atas bantuannya selama penulis mengalami kesulitan saat penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
21. JKR Fotocopy Mas Arif. Terima Kasih atas bantuannya selama penulis menyusun skripsi serta memberikan arahan dan dukungan untuk menyelesaikan penelitian.
22. Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Dinas Bisnis dan Kemitraan yang telah memberikan ilmu dalam organisasi dan kenangan yang indah dalam perjuangan mahasiswa
23. Teman-teman KKN Sinar Ogan Tanjung Bintang Lampung Selatan. Jihan, Sherin, Intan, Ojan, Tegar, Farrel terima kasih telah menambahkan cerita seru dan menyenangkan selama 40 hari di perjalanan studi penulis selama ini
24. Semua pihak yang turut dan membantu, memberikan dukungan serta selalu menemani penulis dalam menjalani penelitian ini yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
25. Terima kasih untuk diri saya sendiri yang sudah percaya bahwa penulis dapat menyelesaikan pendidikan dengan jalan yang tidak selalu mulus ini, terima kasih sudah menyelesaikan ini semua dengan baik. Terima kasih Salwa.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan balasan yang berlipat atas segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini

Bandar Lampung,

Salwa Al Karina

ABSTRACT

EFFECT OF GIVING ETANOL EXTRACT OF OIL BAKA BARK (*Rhizophora apiculate*) ON QUANTITY AND QUALITY OF SPERMATOOA, DIAMETER OF TUBULES & NUMBER OF PRIMARY SPERMATOCYTES OF TESTIS GENEROUS WHITE RATS (*Rattus novergicus*) GALLERY *Sprague dawley* INDUCED BY GENTAMICIN

By:

SALWA AL KARINA

Introduction: Mangroves are plants found in many coastal areas of Indonesia, and have been known to have various beneficial bioactive contents. Mangrove bark, contains chemical compounds that are useful for antioxidants. These compounds have the potential to fight oxidative stress caused by Gentamicin, thus protecting testicular cells and improving sperm quality.

Objective: To determine the effect of mangrove bark extract on the quality and quantity of spermatozoa and testicular histology, including the thickness of seminiferous tubules of Sprague Dawley male rats (*Rattus norvegicus*) induced by Gentamicin, determine the effective concentration of the extract, and compare its effect with standard drugs in the same parameters.

Methods: The research design used was post test only control group design. The type of research used in this study is true experimental research, to study a phenomenon in causal correlation by giving treatment to research subjects and then studying the effects of the treatment.

Results: Analysis using Kruskal Wallis showed $p < 0.05$ for motility, morphology and number of spermatozoa and testicular histopathology with the most effective doses of 28 mg/kg bw and 56mg/kg bw.

Conclusion: There is a protective effect of mangrove bark extract on motility, morphology and number of spermatozoa and histopathological features of male rats induced by gentamicin.

Keywords: Histopathology, Morphology, Motility, Number, Spermatozoa, Testis

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP KUANTITAS DAN KUALITAS SPERMATOZOA, DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS & JUMLAH SPERMATOSIT PRIMER TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI GENTAMISIN

Oleh:

SALWA AL KARINA

Pendahuluan: Bakau adalah tanaman yang banyak ditemukan di wilayah pesisir Indonesia, telah dikenal memiliki berbagai kandungan bioaktif yang bermanfaat. Kulit batang bakau, mengandung senyawa kimia yang berguna untuk antioksidan. Senyawa-senyawa ini berpotensi melawan stres oksidatif yang disebabkan oleh Gentamisin, sehingga dapat melindungi sel-sel testis dan meningkatkan kualitas sperma.

Tujuan: Mengetahui pengaruh ekstrak kulit batang bakau terhadap kualitas dan kuantitas spermatozoa serta histologi testis, termasuk ketebalan tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin, menentukan konsentrasi efektif ekstrak tersebut, dan membandingkan efeknya dengan obat standar dalam parameter yang sama.

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian *true experimental*, untuk mempelajari suatu fenomena dalam korelasi sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan pada subjek penelitian kemudian mempelajari efek perlakuan tersebut.

Hasil: Analisis menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan $p < 0,05$ untuk motilitas, morfologi dan jumlah spermatozoa serta gambaran histologi testis dengan dosis paling efektif yaitu 28 mg/kgbb dan 56mg/kgbb.

Kesimpulan: Terdapat efek protektif pemberian ekstrak kulit batang bakau terhadap motilitas, morfologi dan jumlah spermatozoa serta Gambaran histologi tikus jantan yang diinduksi gentamisin.

Kata Kunci: Histologi, Jumlah, Morfologi, Motilitas, Spermatozoa, Testis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat bagi institusi pendidikan.....	5
1.4.2 Manfaat bagi masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Rhizophora apiculata</i>	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Klasifikasi	7
2.1.3 Morfologi	7
2.1.4 Manfaat Tanaman Bakau	8
2.2 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague dawley</i>	9
2.2.1 Definisi	9
2.2.2 Klasifikasi	9
2.2.3 Morfologi	10
2.2.4 Spermatogenesis	10
2.2.5 Sistem Reproduksi Tikus Jantan.....	12
2.3 Infertilitas	13
2.3.1 Definisi	13
2.3.2 Etiologi	13
2.3.3 Klasifikasi	14
2.4 Kualitas Spermatozoa	14
2.5 Gentamisin.....	16
2.6 N-Acetylcystein	16

2.7	Efek Kandungan Ekstrak Kulit Bakau Terhadap Gambaran Mikroskopis Spermatozoa Dan Histologi Testis	17
2.8	Kerangka Penelitian	19
2.8.1	Kerangka Teori	19
2.8.2	Kerangka Konsep	20
2.9	Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN		22
3.1	Desain Penelitian	22
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.3	Populasi dan Sampel	22
3.3.1	Populasi Penelitian	22
3.3.2	Sampel Penelitian	22
3.3.3	Kelompok Perlakuan	23
3.3.4	Teknik Sampling	24
3.4	Kriteria Penelitian	24
3.4.1	Kriteria Inklusi	24
3.4.2	Kriteria Eksklusi	24
3.5	Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional	24
3.5.1	Variabel Bebas	24
3.5.2	Variabel Terikat	25
3.5.3	Definisi Operasional	25
3.6	Alat dan Bahan Penelitian	26
3.6.1	Alat Bahan pembuatan Ekstrak	26
3.6.2	Alat Bahan selama perlakuan	27
3.6.3	Bahan dalam Pembuatan Ekstrak	27
3.6.4	Bahan Selama Perlakuan	27
3.7	Prosedur Penelitian	27
3.7.1	Pembuatan <i>Ethical Clearance</i>	27
3.7.2	Pengadaan dan Adaptasi Hewan Coba	28
3.7.3	Ekstraksi Batang Bakau	28
3.7.4	Uji Fitokimia	29
3.7.5	Perhitungan Dosis	30
3.7.6	Induksi Gentamisin dan N-Acetylcystein	32
3.7.7	Perlakuan Hewan Coba	34
3.7.8	Pengamatan Motilitas, Morfologi dan Jumlah Spermatozoa	34
3.7.8.1	Motilitas Spermatozoa	34
3.7.8.2	Morfologi Spermatozoa	35
3.7.8.3	Kuantitas Spermatozoa	35
3.7.9	Prosedur Pembuatan Preparat Histologi	36

3.7.10	Prosedur Pemeriksaan Mikroskop	36
3.8	Alur Penelitian	38
3.9	Analisis Data	40
3.9.1	Uji Normalitas	40
3.9.2	Analisis Bivariat	40
3.10	<i>Ethical Clearance</i>	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		42
4.1	Gambaran penelitian	42
4.2	Hasil	42
4.2.1	Analisis Fitokimia.....	42
4.2.2	Analisis Jumlah Spermatozoa.....	43
4.2.3	Analisis Morfologi Spermatozoa.....	45
4.2.4	Analisis Jumlah Motilitas Spermatozoa.....	47
4.2.5	Gambaran Spermatozoa	49
4.2.6	Analisis Diameter Tubulus Seminiferus	51
4.2.7	Rerata Jumlah Spermatisit Primer	53
4.2.8	Gambaran Kerusakan Testis.....	55
4.3	Pembahasan	57
4.3.1	Jumlah Spermatozoa.....	57
4.3.2	Morfologi Spermatozoa	59
4.3.3	Motilitas Spermatozoa	61
4.3.4	Tubulus Seminiferus	63
4.3.5	Spermatisit Primer	65
4.4	Keterbatasan Penelitian	66
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		68
5.1	Kesimpulan.....	68
5.2	Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....		69
LAMPIRAN		78

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional	25
Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Batang Bakau (<i>Rhizophora apiculata</i>)..	43
Tabel 3. Rerata Jumlah Spermatozoa (juta/mm ³)	43
Tabel 4. Uji Normalitas Jumlah Spermatozoa	44
Tabel 5. Uji Homogenitas Jumlah Spermatozoa	44
Tabel 6. Analisis Bivariat Jumlah Spermatozoa	44
Tabel 7. Uji <i>Post Hoc</i> Jumlah Spermatozoa.....	45
Tabel 8. Rerata Morfologi Spermatozoa (%)	45
Tabel 9. Uji Normalitas Morfologi Spermatozoa	46
Tabel 10. Uji Homogenitas Morfologi Spermatozoa	46
Tabel 11. Analisis Bivariat Morfologi Spermatozoa	46
Tabel 12. Uji <i>Post Hoc</i> Morfologi Spermatozoa	47
Tabel 13. Rerata Motilitas Spermatozoa (%)	47
Tabel 14. Uji Normalitas Motilitas Spermatozoa	48
Tabel 15. Uji Homogenitas Motilitas Spermatozoa.....	48
Tabel 16. Analisis Bivariat Motilitas Spermatozoa	48
Tabel 17. Uji <i>Post Hoc</i> Motilitas Spermatozoa	49
Tabel 18. Rerata Diameter Tubulus Seminiferus (µm)	51
Tabel 19. Uji Normalitas Tubulus Seminiferus	52
Tabel 20. Uji Homogenitas Tubulus Seminiferus.....	52
Tabel 21. Analisis Bivariat Tubulus Seminiferus	52
Tabel 22. Uji <i>Post Hoc</i> Tubulus Seminiferus	53
Tabel 23. Rerata Jumlah Spermatisit Primer/Lapang Pandang Perbesaran 400x.....	53
Tabel 24. Rerata Jumlah Spermatisit Primer/Lapang Pandang Perbesaran 400x 54	54
Tabel 25. Uji Homogenitas Spermatisit Primer	54
Tabel 26. Analisis Bivariat Spermatisit Primer	54
Tabel 27. Uji <i>Post Hoc</i> Spermatisit Primer	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi Tanaman Bakau	8
Gambar 2. Kulit Batang Bakau	9
Gambar 3. Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Jantan Galur <i>Sprague dawley</i>	10
Gambar 4. Proses Spermatogenesis pada Tikus.....	11
Gambar 5. Tubulus Seminiferus Tikus. a) Sel Spermatogonium, b) Sel Spermatisit, c) Sel Spermatid, d) Sel Sertoli, e) Sel Leydig, f) Lumen tubulus.....	13
Gambar 6. Morfologi Spermatozoa.....	15
Gambar 7. Kerangka Teori.	19
Gambar 8. Kerangka Konsep.....	20
Gambar 9. Alur Penelitian	38
Gambar 10. Gambaran Jumlah dan Morfologi Spermatozoa	50
Gambar 11. Gambaran Motilitas Spermatozoa	51
Gambar 12. Tubulus Seminiferus	56
Gambar 13. Spermatisit Primer	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Persetujuan Etik	79
Lampiran 2. Surat Hasil Uji Determinasi	80
Lampiran 3. Surat Hasil Uji Fitokimia	82
Lampiran 4. Surat Keterangan Hewan Uji Coba	83
Lampiran 5. Surat Izin Penelitian	84
Lampiran 6. Surat Persetujuan Pengambilan Sampel KPH Gunung Balak	85
Lampiran 7. Surat Izin Penelitian Balai Veteriner	85
Lampiran 8. Surat Laporan Hasil Uji	86
Lampiran 9. Surat Izin Penelitian Lab Botani FMIPA	91
Lampiran 10. Proses Penelitian	92
Lampiran 11. Analisis Data	101

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permasalahan fertilitas adalah isu kesehatan global dan terus meningkat dari tahun ke tahun. Di Indonesia, data menunjukkan bahwa angka infertilitas pria cukup signifikan, yang mempengaruhi kualitas hidup dan hubungan sosial pasangan yang mengalaminya (Sinaga *et al.*, 2017). Infertilitas ialah kegagalan mendapat keturunan satu tahun menikah dan melakukan hubungan seksual tanpa memakai kontrasepsi (Dewi *et al.*, 2017).

Menurut *World Health Organization* (WHO), 186 juta orang serta 48 juta pasangan mengalami infertilitas di dunia sehingga perlu jadi perhatian. Infertilitas di Indonesia berada pada angka 20% pasangan (WHO, 2020). terdapat 15% wanita usia 30-34 tahun, 30% 35-39 tahun, dan 55% usia 40-44 tahun mengalami infertilitas disebabkan oleh penurunan kesuburan. Infertilitas mempengaruhi sebanyak 1.712 pria dan 2.055 wanita (Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional, 2020).

Salah satu faktor utama yang dapat mempengaruhi kualitas sperma dan kesehatan testis adalah paparan terhadap obat-obatan tertentu, salah satunya adalah Gentamisin (Susianti, 2013). Gentamisin, yang sering digunakan sebagai antibiotik untuk mengatasi infeksi bakteri, diketahui memiliki efek samping nefrotoksik dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan testis serta mempengaruhi produksi dan kualitas sperma. Kerusakan ini terjadi melalui mekanisme oksidatif yang menyebabkan stres oksidatif pada sel-sel testis (Hochschild *et al.*, 2017).

Gentamisin dikenal dapat menyebabkan penurunan signifikan pada jumlah dan motilitas sperma, serta merusak struktur histologis testis. Efek samping ini menjadi perhatian serius dalam dunia medis, mengingat penggunaan Gentamisin yang luas dalam terapi infeksi (Susianti, 2013). Oleh karena itu, diperlukan strategi yang efektif untuk mengurangi efek samping toksik dari Gentamisin, terutama pada sistem reproduksi pria. Dalam konteks ini, penggunaan bahan-bahan alami sebagai agen pelindung atau terapi adjuvan menjadi fokus penelitian yang menarik (Sutyarso *et al.*, 2018).

Bakau adalah tanaman yang banyak ditemukan di wilayah pesisir Indonesia, telah dikenal memiliki berbagai kandungan bioaktif yang bermanfaat. Kulit batang bakau, mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Berawi, 2018). Senyawa-senyawa ini berpotensi melawan stres oksidatif yang disebabkan oleh Gentamisin, sehingga dapat melindungi sel-sel testis dan meningkatkan kualitas sperma. Penggunaan ekstrak etanol dari kulit batang bakau dalam penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi terapeutiknya dalam melindungi dan memperbaiki jaringan testis yang rusak akibat paparan Gentamisin (Khaki, 2015).

Indonesia memiliki keanekaragaman biota laut yang besar karena merupakan sebuah negara kepulauan (Kusmana dan Hikmat, 2015). Hal tersebut menjadi aset potensial yang bisa dimanfaatkan serta dikembangkan sebagai produk olahan seperti produk farmasi. Jenis organisme yang memiliki potensi pada bidang farmasi ialah tumbuhan laut seperti bakau yang dapat tumbuh di tanah berpasir serta berlumpur pada daerah pesisir dan anak sungai (Rijai, 2019). Masyarakat Indonesia sudah mengenal serta memakai tanaman untuk obat untuk mengatasi masalah kesehatan. Hal itu disebabkan karena ekonomis dan efek samping yang minim. Oleh karena itu pemakaian obat herbal dengan dosis tepat penting dan aman (Astuti, 2018).

Tumbuhan bakau menurut peta baru persebaran *mangrove* menunjukkan 147,000 km² hutan *mangrove* secara global. Indonesia sendiri mempunyai 72 spesies dan 3.311.207 hektar yang tersebar sehingga menjadi yang terbesar di dunia. Bakau banyak digunakan masyarakat pesisir untuk obat alami (Kusmana dan Hikmat, 2015; Rahmanto, 2020). Senyawa inti yang berkhasiat pada bakau (*Rhizophora apiculata*) adalah tanin, saponin, flavonoid, steroid (Mustofa, 2022). Flavonoid punya efek proteksi pada jaringan tubuh akibat terjadinya iskemik (Ruswanti, 2014). Saponin mempercepat hemolitik karena menjadi senyawa antibakteri. Steroid menaikkan kecepatan epitelisasi dalam tubuh. Tanin sendiri dapat menaikkan sikatriks dan kontraksi luka dan menjadi antimikroba yang menaikkan epitelisasi (Wijaya, 2014).

Berbagai penelitian mengenai ekstrak kulit bakau *Rhizophora apiculata* yang telah diteliti. Pada penelitian membuktikan bahwa pemberian ekstrak batang *Rhizophora apiculata* dosis 56,55 mg/kg BB memproteksi kerusakan sel pankreas tikus putih (Mustofa *et al.*, 2018). Efek proteksi dari ekstrak *Rhizophora apiculata* terhadap kerusakan testis yang disebabkan asap rokok dengan dosis 113,10 mg/kgBB (Mustofa dan Hanif, 2019). Penelitian membuktikan bahwa kulit batang *Rhizophora apiculata* mampu melindungi arteri yang terpapar asap rokok dengan dosis optimal 56.55 mg/kg. Penelitian juga membuktikan bahwa ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* dapat menurunkan kadar Malondialdehid (MDA) tikus yang dipapar asap rokok, penurunannya berbanding terbalik dengan dosis ekstrak kulit batang bakau yaitu semakin besar dosisnya semakin menurun kadar MDA. Penelitian juga membuktikan bahwa ekstrak *Rhizophora apiculata* memiliki efek proteksi terhadap histologi hepar tikus (Mustofa *et al.*, 2019).

Beberapa studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat mengurangi kerusakan testis yang diinduksi oleh berbagai agen toksik (Mustofa dan Hanif, 2019). Namun, penelitian mengenai efek protektif ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap kerusakan testis yang diinduksi

oleh Gentamisin masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian dilaksanakan guna mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol kulit batang bakau pada gambaran mikroskopis spermatozoa dan histologi testis pada tikus yang diinduksi dengan Gentamisin (Susianti, 2013).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam bidang biomedis, terutama dalam pengembangan terapi alternatif memakai bahan alami guna menurunkan efek samping. Penelitian ini diharap bisa membuka peluang baru untuk pemanfaatan sumber daya alam Indonesia yang melimpah, seperti tanaman bakau, dalam bidang kesehatan. Diharapkan juga dapat diperoleh bukti ilmiah tentang efektivitas ekstrak etanol kulit batang bakau dalam melindungi dan memperbaiki kualitas sperma serta jaringan testis yang rusak akibat paparan Gentamisin.

Berdasar pada uraian yang ada dilatar belakang, peneliti mempunyai ketertarikan untuk mengamati kualitas serta kuantitas spermatozoa dan histologi testis tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberi ekstrak kulit batang bakau dan diinduksi Gentamisin.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak kulit batang bakau memengaruhi kualitas serta jumlah spermatozoa, dan perubahan histologi testis, termasuk ketebalan tubulus seminiferus pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang telah diberikan Gentamisin?
2. Berapa konsentrasi optimal ekstrak kulit batang bakau yang dapat meningkatkan kualitas dan jumlah spermatozoa, serta memperbaiki histologi testis pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi dengan Gentamisin?
3. Sejauh mana efek ekstrak kulit batang bakau dibandingkan dengan obat standar dalam meningkatkan kualitas dan jumlah spermatozoa serta memperbaiki histologi testis pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi dengan Gentamisin?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengkaji efek ekstrak kulit batang bakau terhadap kualitas dan jumlah spermatozoa, serta kondisi histologi testis, termasuk ketebalan tubulus seminiferus pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diberi perlakuan Gentamisin.
2. Menentukan konsentrasi optimal ekstrak kulit batang bakau yang efektif dalam meningkatkan kualitas dan jumlah spermatozoa serta memperbaiki histologi testis pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.
3. Membandingkan efektivitas ekstrak kulit batang bakau dengan obat standar dalam meningkatkan kualitas dan jumlah spermatozoa serta memperbaiki histologi testis pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi institusi pendidikan

- a. Temuan dari penelitian ini dapat menjadi landasan bagi penelitian lanjutan di masa mendatang.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan bagi mahasiswa dalam memanfaatkan bahan alami untuk perbaikan kualitas dan kuantitas spermatozoa serta histologi testis pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi dengan Gentamisin.

1.4.2 Manfaat bagi masyarakat

- a. Penelitian ini dapat menjadi referensi bagi masyarakat dalam mencari alternatif pengobatan untuk mengatasi masalah infertilitas.
- b. Hasil penelitian ini mendorong pemanfaatan bahan alami dari lingkungan sekitar sebagai dukungan dalam menjaga kesehatan dan pengobatan.
- c. Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dan kajian lanjutan dalam upaya intervensi terhadap kualitas dan

kuantitas spermatozoa serta histologi testis pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Rhizophora apiculata*

2.1.1 Definisi

Bakau (*Rhizophora apiculata*) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang sering ditemukan di berbagai wilayah karena penyebarannya yang luas. Tanaman ini biasanya tumbuh berkelompok di daerah pasang surut dan cenderung berkembang dengan baik di area yang tergenang air atau tanah yang kaya akan kandungan humus (Wiarta, 2017; Selvaraj *et al.*, 2015).

2.1.2 Klasifikasi

Bakau (*Rhizophora apiculata* Blume) termasuk dalam Kingdom Plantae, yang mencakup semua jenis tumbuhan. Tumbuhan ini diklasifikasikan ke dalam Divisi Magnoliophyta, dengan Kelas Magnoliopsida, yang merupakan kelompok tumbuhan berbunga dengan biji tertutup. Ordo bakau adalah Malpighiales, dan termasuk dalam Famili Rhizophoraceae, yang terdiri dari tumbuhan khas daerah pasang surut. Genusnya adalah *Rhizophora*, dengan spesies spesifik yaitu *Rhizophora apiculata* (Cronquist, 1981).

2.1.3 Morfologi

Pohon bakau dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 30 meter dengan diameter batang sekitar 35 cm. Sistem perakarannya berupa akar tunjang yang khas. Kulit luar batangnya memiliki warna yang bervariasi mulai dari abu-abu terang hingga coklat muda dengan tekstur bersisik akibat retakan pada permukaannya. Sementara itu,

bagian dalam kulit batangnya berserabut dan berwarna merah muda hingga merah tua. Bunga pohon bakau tumbuh di ketiak daun, terdiri dari empat mahkota berwarna putih dan empat kelopak bunga berwarna kuning pucat. Buahnya berbentuk lonjong atau memanjang dengan warna hijau kecokelatan. Selain itu, pohon ini memiliki hipokotil berbentuk silindris dengan panjang antara 36 hingga 70 cm dan diameter 2 hingga 3 cm, serta permukaan yang kasar atau berbintil (Wicaksono dan Bagus, 2015).



Gambar 1. Morfologi Tanaman Bakau

2.1.4 Manfaat Tanaman Bakau

Rhizophora apiculata, merupakan tumbuhan pesisir yang banyak dimanfaatkan karena kandungan bahan aktifnya. Seluruh bagian tumbuhan, seperti daun, batang, dan akar, memiliki manfaat yang beragam, termasuk sebagai kayu bakar, bahan bangunan, obat-obatan, dan keperluan perikanan. Ekstrak metabolit sekundernya diketahui memiliki aktivitas biologis, seperti kandungan lyoniresinol-3 α -O- β -arabinopyranoside, lyoniresinol-3 α -O- β rhamnoside, dan afzelechin-3-O-L-rhamnopyranoside yang berperan sebagai antioksidan. Kulit batang bakau memiliki berbagai manfaat pengobatan, seperti mengatasi angina, bisul, infeksi jamur, diare, dan mual. Kulit batang yang dilumatkan juga dapat menghentikan pendarahan, sementara air

buah dan kulit akar muda digunakan sebagai pengusir nyamuk. *Rhizophora apiculata* mengandung senyawa aktif, seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin, dengan tanin berpotensi tinggi sebagai antioksidan (Mustofa *et al.*, 2019; Mustofa *et al.*, 2022; Mustofa dan Dewi, 2023).



Gambar 2. Kulit Batang Bakau

2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

2.2.1 Definisi

Hewan percobaan atau hewan laboratorium adalah hewan yang secara khusus dipelihara dan dibudidayakan untuk digunakan sebagai model penelitian. Hewan ini dimanfaatkan dalam berbagai studi dan pengembangan ilmu pengetahuan dalam skala laboratorium (Otto *et al.*, 2015). Hewan model, atau yang disebut juga sebagai *animal model*, adalah hewan yang digunakan sebagai representasi manusia atau spesies lain untuk mempelajari fenomena biologis atau patobiologis tertentu (Rosidah, 2020).

2.2.2 Klasifikasi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu spesies hewan yang termasuk dalam taksonomi berikut: Kingdom Animalia, Filum Chordata, Kelas Mamalia, Ordo Rodentia, Subordo Myomorpha, Famili Muridae, Genus *Rattus*, dan Spesies *Rattus norvegicus*. Klasifikasi ini menggambarkan posisi tikus putih dalam hierarki biologis, sesuai dengan referensi dari Brower (2015).

2.2.3 Morfologi

Tikus memiliki karakteristik unik yang membedakannya dari hewan percobaan lainnya, salah satunya adalah ketidakmampuannya untuk muntah. Hal ini disebabkan oleh struktur anatomi yang khas pada pertemuan esofagus dengan lambung serta ketiadaan kantong empedu. Selain itu, tikus putih memiliki keunggulan sebagai model penelitian karena dapat merepresentasikan karakteristik fungsional sistem tubuh mamalia (Nugroho *et al.*, 2018). Tikus putih juga menawarkan berbagai kelebihan sebagai hewan uji, seperti kemampuan reproduksi yang cepat, ukuran tubuh yang lebih besar dibandingkan mencit, dan kemudahan pemeliharaan dalam jumlah besar. Secara morfologis, tikus putih memiliki ciri khas seperti albino, kepala kecil, ekor yang lebih panjang dari tubuhnya, pertumbuhan yang cepat, temperamen yang baik, kemampuan laktasi tinggi, dan daya tahan terhadap perlakuan. Berat tubuh rata-rata tikus dewasa biasanya berkisar antara 200-250 gram (Rosidah *et al.*, 2020).

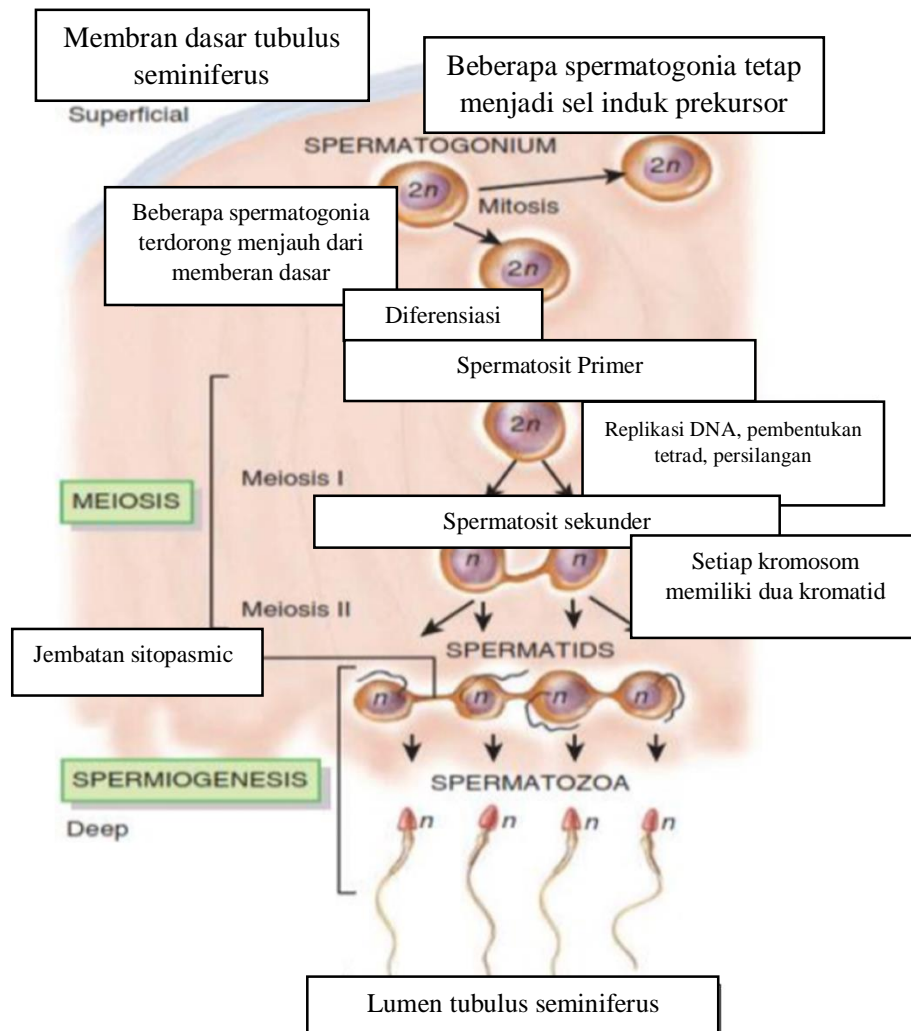


Gambar 3. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* (Triassanti, 2017).

2.2.4 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah rangkaian proses sitologi yang bertujuan menghasilkan spermatozoa dari spermatogonia pada mamalia. Proses ini berlangsung dalam tubulus seminiferus testis secara terus-menerus sepanjang masa reproduksi (Nishimura dan Hernault, 2017). Spermatogenesis diawali dengan pertumbuhan spermatogonium menjadi spermatosit primer, yaitu sel yang lebih besar. Spermatosit

primer kemudian membelah secara mitosis menjadi dua spermatosit sekunder yang memiliki ukuran sama. Selanjutnya, spermatosit sekunder mengalami pembelahan meiosis dan menghasilkan empat spermatid yang juga berukuran sama. Tahap pematangan spermatid menjadi spermatozoa disebut spermiogenesis, yang terjadi setelah proses meiosis selesai. Pada tahap ini, spermatid mengalami serangkaian perubahan teratur yang mengubahnya dari bentuk bulat kecil menjadi spermatozoa yang memanjang dengan ekor (Guyton dan Hall, 2014).



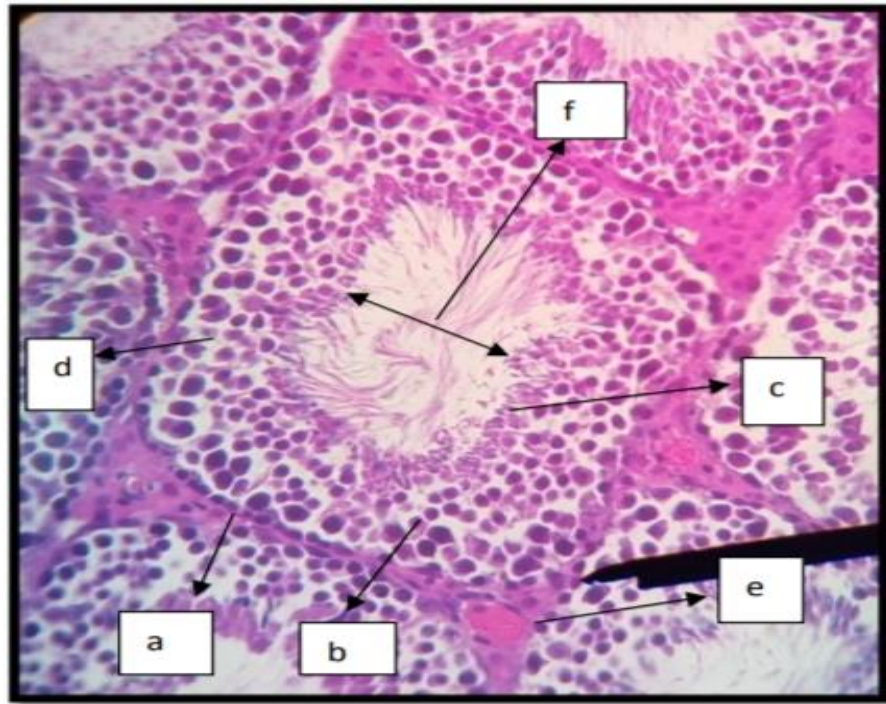
Gambar 4. Proses Spermatogenesis pada Tikus (Cheng, 2010).

2.2.5 Sistem Reproduksi Tikus Jantan

Menurut Kusumawati, alat reproduksi tikus jantan meliputi testis, saluran reproduksi, kelenjar kelamin, dan penis. Tikus memiliki sepasang testis yang terletak di dalam skrotum (Indriyani *et al.*, 2021). Saluran reproduksi bermula dari testis dan berlanjut ke uretra, yang berfungsi sebagai jalur gabungan untuk urin, sekresi kelenjar kelamin, serta sel kelamin jantan. Kelenjar kelamin berada di sekitar uretra dan bermuara ke dalamnya (Fitria, 2015).

Testis berbentuk bulat memanjang dengan orientasi vertikal. Testis memiliki dua fungsi utama, yaitu menghasilkan hormon seks jantan (androgen) dan gamet jantan (sperma). Testis dibungkus oleh kulit dan tunika albuginea, serta terdiri atas beberapa lobus. Lobus ini berupa kantung kecil berbentuk kerucut yang mengandung tubulus seminiferus, tempat sperma diproduksi. Lebih dari 90% massa testis terdiri dari tubulus seminiferus, sedangkan jaringan stroma mengandung pembuluh darah, limfa, sel saraf, sel makrofag, dan sel Leydig (Nugroho *et al.*, 2018).

Sel generatif muda, yang disebut spermatogonia, mengalami spermatogenesis untuk menjadi spermatozoa. Tubulus seminiferus dilapisi oleh membran basalis yang terdiri dari jaringan ikat dan kaya akan pembuluh darah di bagian luarnya. Nutrisi untuk sel-sel spermatogenik di dalam tubulus diperoleh melalui proses difusi (Bogar, 2016). Potongan melintang tubulus seminiferus menunjukkan lapisan sel-sel turunan spermatogenik, seperti spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, dan spermatid, yang tersebar dalam 4-8 lapisan antara lamina basalis dan lumen tubulus. Sel-sel ini mengalami pembelahan dan diferensiasi hingga menghasilkan spermatozoa (Nugroho *et al.*, 2018).



Gambar 5. Tubulus Seminiferus Tikus. a) Sel Spermatogonium, b) Sel Spermatisit, c) Sel Spermatid, d) Sel Sertoli, e) Sel Leydig, f) Lumen tubulus (Shi *et al.*, 2019).

2.3 Infertilitas

2.3.1 Definisi

Fertilitas ialah kemampuan mendapat keturunan secara biologis. Sedangkan infertilitas ialah sebuah kondisi saat suami istri sudah menikah minimal satu tahun namun tidak bisa mempunyai anak meski sering berhubungan seksual (Gaziansyah *et al.*, 2019).

2.3.2 Etiologi

Penyebab infertilitas pria adalah karena gangguan kesuburan (Hidayah, 2016). Seperti gangguan pretestikuler diluar testis, faktor testicular pada testis, sehingga spermatogenesis jadi terganggu serta ada faktor post testikular yaitu terjadi di luar testis (Gaziansyah *et al.*, 2019).

2.3.3 Klasifikasi

Menurut Saraswati (2015) infertilitas diklasifikasikan sebagai berikut:

1. Infertilitas primer adalah kondisi di mana pasangan belum berhasil mencapai kehamilan meskipun telah mencoba selama satu tahun atau lebih dengan melakukan hubungan seksual secara teratur dan memadai tanpa menggunakan kontrasepsi.
2. Infertilitas sekunder adalah kondisi di mana pasangan sebelumnya telah berhasil mencapai kehamilan, namun setelah itu tidak dapat hamil lagi meskipun telah berusaha selama satu tahun atau lebih dengan hubungan seksual yang teratur dan memadai tanpa menggunakan kontrasepsi (Hidayah, 2016).

2.4 Kualitas Spermatozoa

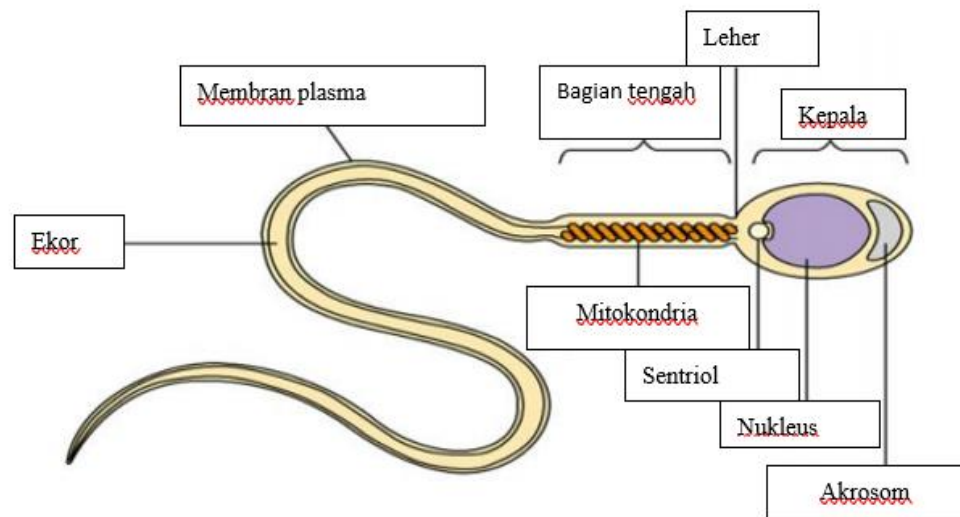
1. Kuantitas

Perhitungan kuantitas sperma sangat penting karena mencerminkan tingkat pengenceran oleh cairan kelenjar aksesori terhadap sel sperma yang dipancarkan dari epididimis melalui uretra saat ejakulasi. Pengukuran kuantitas sperma dilakukan untuk menghitung total sperma dalam ejakulasi, yang didapatkan dengan mengalikan konsentrasi sperma dengan volume air mani (Solihati, 2013). Perhitungan ini umumnya dilakukan menggunakan kamar hitung, salah satunya adalah kamar hitung *Improved Neubauer*. Sebelum perhitungan dilakukan, sperma terlebih dahulu diencerkan menggunakan reagen hitung sperma atau bisa juga dengan menggunakan akuades, dengan pengenceran sekitar 20x. Sperma yang sudah diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung dan diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x pada objektif (Manehat, 2021).

2. Morfologi

Morfologi abnormal spermatozoa pada tikus dapat mencakup berbagai bentuk, seperti kepala yang besar, kepala kecil, kepala ganda, ekor pendek, ekor ganda, dan kepala bulat akibat adanya sisa sitoplasma yang melekat (Diartha *et al.*, 2016). Spermatozoa yang abnormal dapat ditemukan pada

individu yang subur maupun yang mandul. Namun, pada individu yang subur, jumlah spermatozoa abnormal cenderung lebih sedikit dibandingkan pada individu yang mandul. Keberadaan spermatozoa yang abnormal biasanya disebabkan oleh gangguan dalam proses pembentukan sperma, khususnya pada tahap spermiogenesis. Gangguan ini dapat dipicu oleh berbagai faktor, seperti masalah nutrisi, gangguan hormonal, penggunaan obat-obatan, radiasi, dan penyakit tertentu (Wuwungan, 2017).



Gambar 6. Morfologi Spermatozoa (Panahi *et al.*, 2017).

3. Motilitas

Kategori motilitas sperma adalah sebagai berikut:

1. Sperma bergerak cepat
2. Sulit untuk maju lurus
3. Tidak bergerak maju
4. Sperma tidak bisa bergerak (Manehat, 2021).

2.5 Gentamisin

Gentamisin adalah obat prototipe dari golongan aminoglikosida, yang merupakan kelompok antibiotik bakterisid yang berasal dari berbagai spesies *Streptomyces* dan memiliki sifat kimiawi, antimikroba, farmakologi, serta efek toksik yang serupa (Tisa, 2017). Antibiotik ini banyak digunakan karena spektrumnya yang luas, terutama efektif melawan infeksi bakteri aerob gram negatif, dan juga gram positif jika dikombinasikan dengan antibiotik lain seperti β -laktam (Ivaturi, 2019). Aktivitas Gentamisin bersifat bakterisid, bekerja dengan menembus dinding bakteri dan mengikat ribosom di dalam sel, tempat terjadinya sintesis protein (Chaves dan Tadi, 2023).

Semua golongan aminoglikosida memiliki sifat farmakokinetik yang serupa. Ikatan antara aminoglikosida dan protein sangat lemah (protein binding < 10%), dan eliminasi obat ini terjadi terutama melalui filtrasi glomerulus. Lebih dari 90% dari dosis aminoglikosida yang diberikan secara intravena akan terdeteksi dalam urin dalam bentuk utuh pada 24 jam pertama. Sebagian kecil obat ini akan mengalami resirkulasi perlahan ke dalam lumen tubulus proksimalis, dan akumulasi dari resirkulasi ini dapat menyebabkan toksisitas ginjal (Ivaturi, 2019).

2.6 N-Acetylcystein

N-Acetylcystein adalah antioksidan yang digunakan secara klinis untuk mengurangi kerusakan hati akibat kelebihan asetaminofen dan sebagai agen mukolitik. Selain itu, N-Acetylcystein juga digunakan untuk meningkatkan kadar antioksidan guna mencegah kerusakan oksidatif, serta memiliki sifat antiinflamasi dengan menekan aktivasi NFkB. Struktur kimia N-Acetylcystein adalah prekursor dari asam sistein, asam amino alami yang sederhana, dan glutathione yang berkurang (Avdeev *et al.*, 2022). Aktivitas mukolitik N-Acetylcystein pertama kali digunakan dalam pengobatan penyakit pernapasan seperti bronkitis kronis. N-Acetylcystein adalah senyawa yang dapat menembus sel dan berperan sebagai sumber sistein untuk

sintesis glutathione, yang merupakan antioksidan intraseluler (Sintaningrum, 2021).

Sebagai mukolitik, N-Acetylcystein dapat memperbaiki gejala dan fungsi paru dengan mengubah sekresi lendir serta sifat fisiknya. Selain itu, N-Acetylcystein juga merupakan antioksidan tiol yang berpotensi berinteraksi langsung dengan oksidan atau mengisi kembali penyimpanan *glutathione* (GSH) yang habis (Hasan, 2020). N-Acetylcystein dapat menghambat pelepasan mediator inflamasi dari sel epitel dan makrofag, serta menghalangi molekul adhesi, kemotaksis neutrofil, aktivasi, dan agregasi. Efek proteksi antioksidan dari N-Acetylcystein membantu mengurangi inflamasi (Sintaningrum, 2021).

2.7 Efek Kandungan Ekstrak Kulit Bakau Terhadap Gambaran Mikroskopis Spermatozoa Dan Histologi Testis

Gentamisin adalah zat xenobiotik yang dapat menimbulkan efek samping nefrotoksik, ototoksik, dan hepatotoksik. Organ dengan kapasitas metabolik tertinggi untuk xenobiotik ini adalah hati, paru, ginjal, dan mukosa saluran pencernaan. Gentamisin juga dapat merusak arsitektur testis dan sel germinal pada tikus. Selain itu, obat ini berpengaruh negatif terhadap spermatozoa tikus, memengaruhi kuantitas, motilitas, dan morfologi spermatozoa tersebut (Susianti, 2013; Hardiningtyas, 2014).

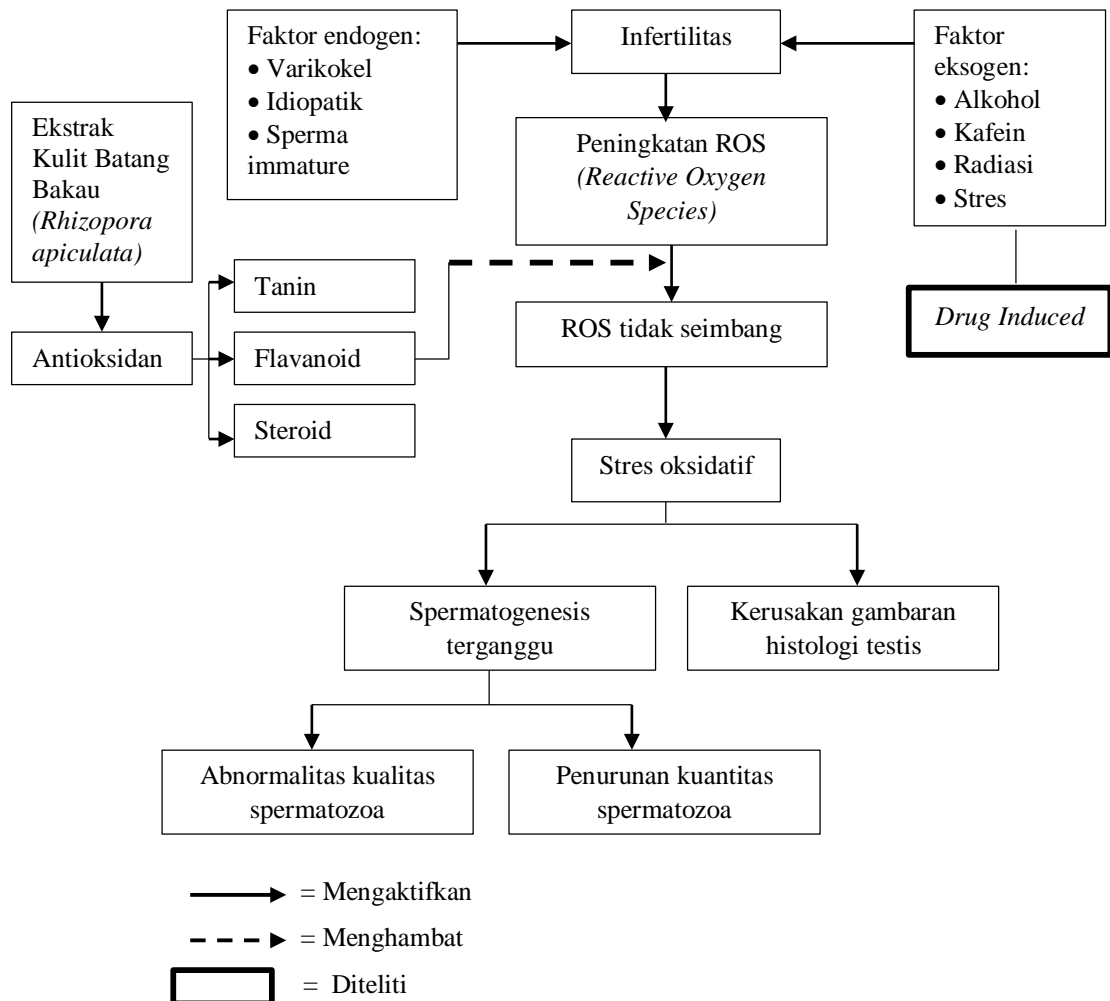
Efek toksik Gentamisin terhadap berbagai organ dapat dinetralkan dengan menggunakan antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman obat dapat menekan stres oksidatif yang diinduksi oleh Gentamisin pada hewan percobaan (Surbakti *et al.*, 2023). Ekstrak tanaman obat berfungsi sebagai pembersih radikal bebas, membentuk kompleks dengan logam (*metal chelation*), dan menstabilkan sistem membran (Abdel-Raheem, 2010). Tanaman obat seperti mahkota dewa, sambiloto, dan jintan hitam terbukti efektif melindungi organ dari efek toksik Gentamisin (Susianti, 2013).

Penelitian fitokimia menunjukkan bahwa *Rhizophora apiculata* mengandung banyak senyawa antioksidan, termasuk flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, terpenoid, dan steroid, yang dapat menangkal radikal bebas (Mustofa *et al.*, 2019). Berbagai bagian tanaman *Rhizophora apiculata*, seperti buah, daun, batang, kulit batang, dan akar, semuanya mengandung antioksidan. Penelitian juga menunjukkan bahwa kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* memiliki kemampuan tertinggi dalam menangkap radikal bebas (Berawi dan Marini, 2018).

Flavonoid, yang terdapat dalam *Rhizophora apiculata*, memiliki pengaruh besar terhadap aktivitas antioksidan. Antioksidan ini berperan penting dalam mengurangi penumpukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang berhubungan dengan masalah infertilitas pada laki-laki. Diperkirakan bahwa sekitar 25% laki-laki infertil memiliki konsentrasi ROS yang tinggi dalam cairan semen. Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan peroksidasi asam lemak tak jenuh, yang diperlukan untuk motilitas sperma dan proses fusi membran. Hal ini menyebabkan hilangnya motilitas sperma dan kerusakan pada reaksi serta kemampuan sperma (Surbakti *et al.*, 2023).

2.8 Kerangka Penelitian

2.8.1 Kerangka Teori

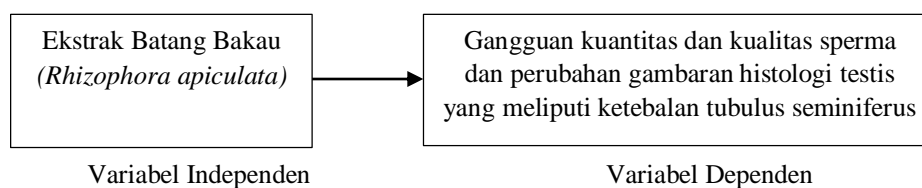


Gambar 7. Kerangka Teori (Mustafa *et al.*, 2019; Mustafa *et al.*, 2023; Susianti, 2013).

Infertilitas adalah ketidakmampuan pasangan yang aktif melakukan hubungan seksual tanpa kontrasepsi untuk terjadinya kehamilan dalam kurun waktu satu tahun. Salah satu penyebab infertilitas adalah stress oksidatif. Stres oksidatif adalah proses pergeseran keseimbangan oksidan dan antioksidan yang cenderung pada oksidan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan timbulnya stres oksidatif. ROS merupakan suatu molekul oksigen yang dihasilkan dari hasil metabolisme sel dalam keadaan normal tetapi dapat berdampak negatif jika jumlahnya cukup tinggi, maka dari itu stres oksidatif dapat

dicegah keberadaannya oleh tubuh manusia. Antioksidan dapat digunakan untuk mencegah tingginya stres oksidatif dalam tubuh. Antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman. Salah satu tanaman yang dapat berperan sebagai antioksidan alami adalah ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dan bahan sintetikny adalah N-Acetylcystein (NAC). Kandungan kimia aktif yang ada pada hasil ekstraksi kayu tanaman bakau adalah tannin, saponin, flavonoid, dan kuinon. Sehingga dari teori dasar yang telah dipaparkan, dasar kuat dalam menjalankan penelitian ini dapat mempermudah peneliti untuk mendapatkan hasil yang diinginkan (Huda *et al.*, 2013. Mustofa dan Paleva, 2020).

2.8.2 Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep

Berdasarkan kerangka konsep yang tertera pada gambar 8, konsep yang dibentuk dalam penelitian ini adalah untuk membuktikan kandungan antioksidan dari ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dalam menetralkan ketidakseimbangan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbukti pada studi terdahulunya bahwa akan membuat spermatogenesis menjadi terganggu dan membuat perubahan gambaran histologi dari testis. Selain itu, perbandingan efektivitas daya antioksidan terhadap mikroskopis spermatozoa dan gambaran histologi testis yang diinduksi Gentamisin dengan pemberian ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dan N-Acetylcystein (NAC) juga diuji, sehingga dari penelitian ini dapat mengetahui substansi yang lebih efektif dalam berperan sebagai

pelindung spermatozoa dan gambaran histologi testis (Susianti, 2013; Sintaningrum, 2021).

2.9 Hipotesis

1. Hipotesis Pengaruh Terhadap Kualitas Spermatozoa

H0: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

H1: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

2. Hipotesis Pengaruh Terhadap Kuantitas Spermatozoa

H0: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap kuantitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

H1: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap kuantitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

3. Hipotesis Pengaruh Terhadap Histologi Testis

H0: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap histologi testis yang meliputi ketebalan tubulus seminiferus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

H1: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau terhadap histologi testis yang meliputi ketebalan tubulus seminiferus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi Gentamisin.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan ialah *post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan metode true experimental untuk menganalisis fenomena hubungan sebab-akibat melalui pemberian perlakuan pada subjek penelitian, kemudian mengamati efek dari perlakuan tersebut. Subjek penelitian berupa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipilih secara acak (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Agustus-November 2024. Dilakukan di Balai Veteriner Lampung dan *Animal House* FK Unila. Pembuatan ekstrak dilakukan di Lab Kimia FMIPA Unila. Terminasi, pengukuran kualitas dan kuantitas sperma, dan histologi dilakukan di Balai Veteriner Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah darah tikus yang diberi perlakuan. Besar sampel dihitung dengan *Federer*, 1963 sebagai berikut

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t= Kelompok perlakuan

n= Jumlah sampel untuk 1 kelompok perlakuan

N= Besar sampel

Lalu untuk mengantisipasi kematian, perlu ditambahkan jumlah tikus yang dihitung dengan rumus berikut (Mustofa dan Hanif, 2019).

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

$$N = \frac{4}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{4}{1 - 0,1}$$

$$N = 4.444$$

Berdasar rumus diatas, jumlah sampel dari 6 kelompok ialah 5 ekor tikus/kelompok. Sehingga dibutuhkan 30 tikus putih jantan (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.3.3 Kelompok Perlakuan

1. Kelompok Normal (K0): Diberikan makan, minum tanpa perlakuan
2. Kelompok Kontrol + (K+): Diinduksi Gentamisin dan obat standar
3. Kelompok Kontrol - (K-): Diinduksi Gentamisin yang tidak diberi ekstrak kulit bakau
4. Kelompok Perlakuan 1: Diinduksi Gentamisin dan diberi ekstrak 14mg/kgBB

5. Kelompok Perlakuan 2: Diinduksi Gentamisin dan diberi ekstrak 28mg/kgBB
6. Kelompok Perlakuan 3: Diinduksi Gentamisin dan diberi ekstrak dosis 56mg/kgBB (Mustofa dan Hanif, 2019).

3.3.4 Teknik Sampling

Dalam penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik *probability sampling*, di mana setiap anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk dipilih sebagai sampel. Metode yang digunakan adalah *simple random sampling*, yaitu pengambilan sampel secara acak sederhana. Hal ini dilakukan karena populasi tikus putih jantan disiapkan dengan cara yang seragam dan memiliki karakteristik yang homogen (Mustofa *et al.*, 2023).

3.4 Kriteria Penelitian

3.4.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang sehat
2. Berat 150-200g
3. Jantan
4. Usia 8-12 minggu
5. Tidak ada kelainan anatomis (Mustofa dan Hanif, 2019).

3.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus mati
2. Adanya penurunan berat (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.5 Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional

3.5.1 Variabel Bebas

Ekstrak kulit batang bakau dan Gentamisin (Susianti, 2013).

3.5.2 Variabel Terikat

Kualitas dan kuantitas spermatozoa dan histologi testis (Susianti, 2013).

3.5.3 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Ekstrak etanol kulit batang bakau (<i>Rhizopora apiculata</i>)	Pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau (<i>Rhizopora apiculata</i>) (Mustofa dan Hanif, 2019).	Pipet tetes	Ekstrak kulit batang bakau sesuai konsentrasi.	Dosis ekstrak <i>Rhizopora apiculata</i> K1: 14mg/kgBB K2: 28mg/kgBB K3: 56mg/kgBB	Nominal
2.	Jumlah rerata Spermatisit Primer	Spermatisit primer memiliki inti yang besar, kromatin seperti benang-benang Panjang (Mustofa dan Paleva, 2023).	Mikroskop	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Jumlah rerata spermatisit primer.	Numerik
3.	Motilitas Spermatozoa	Pergerakan spermatozoa yang terlihat bergerak atau tidak bergerak diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Mustofa dan Paleva, 2023).	Mikroskop	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Presentase spermatozoa motil dibandingkan dengan total spermatozoa yang diamati	Numerik
4.	Morfologi Spermatozoa	Diamati bentuk spermatozoa dengan 5 lapang pandang mikroskop dalam jumlah	Mikroskop	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Presentase spermatozoa bentuk normal	Numerik

		100 spermatozoa (Mustofa dan Paleva, 2023).				
5.	Kuantitas spermatozoa	Konsentrasi spermatozoa yang ada dalam pengamatan (Mustofa dan Paleva, 2023).	<i>Improved Neubauer</i>	Hasil pengamatan dicatat dalam lembar observasi	Juta/ sel	Numerik
6.	Ketebalan tubulus seminiferus	Tubulus seminiferus yang berbentuk bulat (Mustofa dan Hanif, 2019).	Mikroskop	Diukur dengan mikroskop.	Ketebalan tubulus seminiferus	Numerik

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Bahan pembuatan Ekstrak

Untuk melakukan penelitian ini, beberapa bahan dan alat digunakan secara terintegrasi. Proses awal melibatkan kulit batang *Rhizopora apiculata*, yang kemudian dihancurkan menggunakan blender untuk mendapatkan ukuran partikel yang lebih kecil. Ekstraksi dilakukan dengan bantuan etanol sebagai pelarut utama, yang kemudian dituangkan ke dalam tabung elenmeyer untuk pencampuran. Campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu dari larutan. Selanjutnya, larutan yang telah disaring diproses menggunakan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dan memperoleh ekstrak pekat. Pengukuran volume larutan dilakukan dengan menggunakan gelas ukur, sementara pengambilan volume kecil dilakukan dengan pipet ukur. Untuk analisis lebih lanjut, sampel ekstrak ditempatkan ke dalam tabung reaksi untuk pengujian laboratorium.

3.6.2 Alat Bahan selama perlakuan

Dalam penelitian ini, berbagai alat dan bahan digunakan untuk mendukung proses percobaan. Hewan coba ditempatkan di kandang hewan coba yang dilengkapi dengan tempat minum dan makan serta diberi pakan sesuai kebutuhan. Penimbangan hewan dilakukan menggunakan timbangan untuk memastikan dosis perlakuan yang tepat. Pemberian perlakuan dilakukan menggunakan sonde lambung, dengan bantuan spuit 5 untuk pengambilan larutan. Selama proses ini, peneliti menggunakan *handscoon* untuk menjaga kebersihan dan sterilisasi. Selain itu, gelas beker digunakan untuk mencampur dan menyiapkan larutan yang akan diberikan kepada hewan coba.

3.6.3 Bahan dalam Pembuatan Ekstrak

Etanol dan Kulit batang bakau

3.6.4 Bahan Selama Perlakuan

Penelitian ini melibatkan penggunaan tikus putih (*Rattus novergicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley* sebagai hewan coba utama. Tikus-tikus ini diberi pakan dan air minum yang cukup untuk menjaga kondisi kesehatan selama penelitian. Sekam digunakan sebagai alas kandang untuk menciptakan lingkungan yang nyaman dan higienis bagi tikus. Dalam proses penelitian, etanol 96% digunakan sebagai pelarut utama, sedangkan akuades berfungsi sebagai pelarut tambahan. Selain itu, NaCl 0,9% digunakan untuk menjaga keseimbangan elektrolit dalam prosedur tertentu.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan *Ethical Clearance*

Pada awal penelitian, diawali dengan mengajukan *ethical clearance* (Mustofa dan Hanif, 2019).

3.7.2 Pengadaan dan Adaptasi Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diperoleh dari *Animal Vet* di Bogor melalui kerja sama dengan *IPB University*. Tikus-tikus ini menjalani masa adaptasi selama 7 hari di animal house Fakultas Kedokteran Universitas Lampung setelah tiba dari Bogor. Tikus-tikus tersebut dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Setiap kelompok ditempatkan dalam satu kandang berukuran sekitar 50 cm x 40 cm x 20 cm, dengan penutup kawat dan dasar kandang dilapisi sekam serbuk kayu. Suhu dan kelembapan ruangan dibiarkan alami tanpa pengaturan tambahan. Tikus-tikus diberi pakan berupa pelet standar yang ditempatkan dalam wadah makan, sementara air minum disediakan secara *ad libitum* menggunakan wadah khusus. Pakan dan air minum diganti setiap hari untuk menjaga kebersihan dan kesehatan hewan coba. Kebersihan kandang dijaga dengan mengganti sekam setiap tiga hari sekali (Mustofa *et al.*, 2020).

3.7.3 Ekstraksi Batang Bakau

Setelah didapatkan Kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) sejumlah 10 kg diambil dari Wilayah KPH Gunung Balak di Kecamatan Pasir Sakti, Kota Lampung Timur, Provinsi Lampung selanjutnya dicuci dan dihaluskan. Serbuk simplisia bakau sejumlah 1000 gr dimasukkan ke dalam gelas *Erlenmeyer* yang berukuran 5 L kemudian dimasukkan etanol 96% sejumlah 4 L untuk dilakukan perendaman dengan rasio 1 : 4 (1 kg simplisia dalam 4 L etanol) kemudian direndam selama 6 jam dan lakukan pengadukan sesekali dan didamkan selama 18 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman hasilnya disaring guna mendapatkan ekstrak. Didapatkan ekstrak kemudian diuapkan dengan *rotatory evaporator* dengan suhu 40°C hingga membentuk ekstrak kental (Mustofa *et al.*, 2018).

Untuk mengetahui massa jenis ekstrak, 1 mL ekstrak kental diambil menggunakan pipet kemudian didiamkan di atas gelas objek dalam waktu 24 jam. Saat mengering, filtrat kering ditimbang menggunakan neraca sehingga didapat massa jenis sejumlah 0,7 gr/mL. Selain itu, volume ekstrak kental hasil evaporasi didapatkan sejumlah 150 mL.

Ekstrak kental yang sudah melalui proses evaporasi diencerkan menggunakan akuades dengan perbandingan 1:100 untuk pemberian ekstrak ke tikus melalui PO sesuai dengan dosis 14 mg/kg, 28 mg/kg, dan 56 mg/kg.

3.7.4 Uji Fitokimia

1. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 1g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan HCl dan dipanaskan selama 15 menit di atas penangas air. Kehadiran flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga (Adjeng *et al.*, 2019).

2. Identifikasi Tanin

Sebanyak 1g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10ml air panas dan didihkan selama 5 menit. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditambahkan 3-4 tetes FeCl₃. Positif mengandung tanin katekol jika terbentuk warna hijau biru (hijau-hitam), dan positif mengandung tanin pirogalol jika terbentuk warna biru hitam (Muthmainnah, 2017).

3. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditetesi dengan 5ml HCl 2N, kemudian dipanaskan. Setelah didinginkan, larutan dibagi menjadi tiga tabung reaksi, masing-masing 1 mL, dan ditambahkan pereaksi pada setiap tabung. Kehadiran alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kuning pada tabung yang diberi pereaksi Mayer, dan

terbentuknya endapan jingga pada tabung yang diberi pereaksi Dragendorff (Muthmainnah, 2017).

4. Identifikasi Saponin

Sebanyak 1g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10ml air panas. Setelah didinginkan, campuran dikocok kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm yang tidak hilang setelah 10 menit dan tidak hilang pula setelah penambahan 1 tetes HCl 2N (Muthmainnah, 2017).

5. Identifikasi Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 2g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2ml etil asetat, kemudian dikocok. Lapisan etil asetat dipindahkan dan ditetesi pada plat tetes, kemudian dibiarkan hingga kering. Setelah kering, tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Kehadiran terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau kuning, dan kehadiran steroid ditandai dengan warna hijau (Muthmainnah, 2017).

3.7.5 Perhitungan Dosis

Tikus dengan berat badan 200 g membutuhkan dosis sebagai berikut:

Dosis untuk P1:

$$P1 = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 14 \text{ mg}$$

$$P1 = 2,8 \text{ mg/sekali pemberian}$$

Dosis untuk P2:

$$P2 = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 28 \text{ mg}$$

$$P2 = 5,6 \text{ mg/sekali pemberian}$$

Dosis untuk P3:

$$P3 = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 56 \text{ mg}$$

$$P3 = 11,2 \text{ mg/sekali pemberian (Mustofa dan Paleva, 2023).}$$

Pemberian ekstrak kulit batang bakau dalam sehari adalah 2 kali mempertimbangkan dengan jumlah pemberian yang sama per harinya seperti NAC. Oleh karena itu, dosis pemberian ekstrak dalam sehari terhadap masing-masing kelompok di antaranya:

P1 : $2 \times 2,8 \text{ mg}$, pagi dan sore hari, secara per oral (PO)

P2 : $2 \times 5,6 \text{ mg}$, pagi dan sore hari, secara per oral (PO)

P3 : $2 \times 11,2 \text{ mg}$, pagi dan sore hari, secara per oral (PO)

Untuk menentukan volume ekstrak yang diberikan terhadap setiap kelompok perlakuan, maka digunakan rumus massa jenis sebagai berikut:

$$\rho(\text{mg/ml}) = \frac{\text{massa (mg)}}{\text{volume (mL)}}$$

Diketahui:

$$\rho = 0,7 \text{ gr/mL atau } 700 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Massa dosis P1} = 2,8 \text{ mg}$$

$$\text{Massa dosis P2} = 5,6 \text{ mg}$$

$$\text{Massa dosis P3} = 11,2 \text{ mg}$$

Maka, volume pemberian untuk masing-masing kelompok perlakuan sebagai berikut:

$$\text{Volume (ml)} = \frac{\text{massa (mg)}}{\rho(\text{mg/mL})}$$

Volume untuk P1:

$$V1 = \frac{2,8 \text{ mg}}{700 \text{ mg/mL}}$$

$$V1 = 0,004 \text{ ml/sekali pemberian}$$

Volume untuk P2:

$$V2 = \frac{5,6 \text{ mg}}{700 \text{ mg/mL}}$$

$$V2 = 0,008 \text{ ml/sekali pemberian}$$

Volume untuk P3 :

$$V3 = \frac{11,2 \text{ mg}}{700 \text{ mg/mL}}$$

$$V3 = 0,016 \text{ ml/sekali pemberian (Mustofa dan Paleva, 2023)}.$$

Ekstrak kental yang sudah melalui proses evaporasi diencerkan menggunakan akuades dengan perbandingan 1:100. Oleh karena itu, volume pemberian untuk masing-masing kelompok sebagai berikut:

$$V1 = 0,4 \text{ mL} \times 2, \text{ secara PO, saat pagi dan sore hari}$$

$$V2 = 0,8 \text{ mL} \times 2, \text{ secara PO, saat pagi dan sore hari}$$

$$V3 = 1,6 \text{ mL} \times 2, \text{ secara PO, saat pagi dan sore hari}$$

3.7.6 Induksi Gentamisin dan N-Acetylcystein

Dosis Gentamisin adalah 80 mg/kgBB. Berikut adalah perhitungan dosisnya:

$$X = \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 80 \text{ mg}$$

$$X = 16 \text{ mg}$$

Karena sediaan Gentamisin adalah 40mg/mL, maka dosis pemberiannya adalah sebagai berikut:

$$X = \frac{16 \text{ mg}}{40 \text{ mg/mL}}$$

$$X = 0,4 \text{ mL}$$

Maka dosis pemberian Gentamisin terhadap tikus yakni sebesar 0,4 mL/hari yang diberikan secara *intramuscular* (Linting *et al.*, 2012)

Bentuk sediaan NAC yang diberikan adalah *effervescent* dengan dosis terapi yang diketahui dari penelitian sebelumnya adalah 2 x 600 mg dan dosis sediaan 600 mg. Oleh karena itu, perhitungan untuk menentukan seberapa banyak cairan NAC yang akan diberikan kepada tikus sebagai berikut:

Penentuan dosis untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* menggunakan konversi dosis 0.018

Maka dosis tikus untuk sekali pemberian sebagai berikut.

Dosis obat manusia dalam sekali minum \times Koefisien Konversi Tikus

dengan berat 200 g = Dosis pemberian obat ke tikus sekali minum

$$\begin{aligned} \text{Dosis NAC Tikus} &= 600 \text{ mg/sekali pemberian} \times 0,018 \\ &= 10,8 \text{ mg/sekali pemberian} \end{aligned}$$

Jika 600 mg *effervescent* NAC dilarutkan ke dalam air dengan volume 150 ml, maka volume yang dapat diberikan kepada tikus agar dosis yang diberikan menjadi 10,8 mg:

$$\begin{aligned} \frac{x}{10,8 \text{ mg}} &= \frac{150 \text{ mL}}{600 \text{ mg}} \\ x &= \frac{150 \text{ mL} \times 10,8 \text{ mg}}{600 \text{ mg}} \end{aligned}$$

$$x = 2,52 \text{ mL/ sekali pemberian}$$

Karena dosis pemberian NAC sehari adalah 2 kali, maka pemberian NAC kepada tikus diberikan sebanyak 2 \times 2,52 mL saat pagi dan sore hari secara PO dengan menggunakan spuit 3 cc dan sonde lambung. Pemberian volume tersebut masih dapat ditoleransi karena kapasitas volume normal lambung tikus secara umum yaitu 3 mL – 5 mL

3.7.7 Perlakuan Hewan Coba

Gentamisin diberikan secara injeksi *intramuscular* dengan dosis menggunakan spuit 1 cc di bagian paha tikus. Pemilihan jalur pemberian melalui injeksi *intramuscular* dikarenakan konsentrasi puncak *Gentamisin* dapat diraih dalam waktu 30-90 menit. Proses pemberian NAC terhadap tikus dilakukan melalui sonde lambung yang dimasukkan melalui oral tikus (Mustofa dan Hanif, 2019). Setelah perlakuan, masing-masing hewan coba diterminasi. Setelah diterminasi dengan diberikan anesthesia dengan menggunakan *Ketamine-xylazine* lalu proses pembedahan dan pengambilan sampel organ (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.7.8 Pengamatan Motilitas, Morfologi dan Jumlah Spermatozoa

Cara mendapatkan spermatozoa didapat saat pembedahan, diambil dan diletakkan ke cawan petri dan campurkan dengan NaCl 0,9%. Observasi dibawah mikroskop perbesaran 400 kali. Lalu kauda epididimis dimasukkan ke gelas kemudian keluarkan cairannya dan tersuspensi dengan NaCl 0,9% untuk mengamati kuantitas, motilitas, serta morfologi spermatozoa (Mustofa dan Hanif, 2019).

3.7.8.1 Motilitas Spermatozoa

Cara menentukan motilitas spermatozoa diambil spermatozoa dari kauda epididimis seperti penjelasan di atas kurang lebih 10-15 μ l 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 lapang pandang yang diperiksa untuk memperoleh seratus spermatozoa secara berurutan yang kemudian diklasifikasi sehingga menghasilkan persentase setiap kategori motilitas. Pengamatan dilakukan empat sampai

enam lapang pandang dengan kriteria motilitas sebagai berikut:

A : Berjalan cepat dan lurus

B : Berjalan lambat

C : Bergerak di tempat

D : Tidak bergerak sama sekali

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Motil } (n)}{\text{Jumlah Total Spermatozoa Tidak Bergerak + Motil } (N)} \times 100 \%$$

(Mustofa dan Hanif, 2019).

3.7.8.2 Morfologi Spermatozoa

Untuk menentukan morfologi spermatozoa diambil spermatozoa dari kauda epididimis seperti penjelasan di atas. Kemudian di bawah mikroskop cahaya diamati dan dihitung dalam satu lapang pandang dengan pembesaran 100x. Interpretasi normal morfologi spermatozoa adalah didapatkan bila >30%

$$\% \text{ Morfologi} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Normal } (n)}{\text{Jumlah Total Spermatozoa Normal + Abnormal } (N)} \times 100 \%$$

(Mustofa dan Hanif, 2019).

3.7.8.3 Kuantitas Spermatozoa

Penghitungannya dilakukan dengan mengencerkan sampel menggunakan NaCl 0,9%. Sebanyak 10 µl sampel diambil dan dimasukkan ke dalam kotak-kotak pada *hemocytometer Improved Neubauer*, kemudian ditutup dengan kaca penutup. Di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x, hemositometer ditempatkan dan jumlah spermatozoa dihitung pada kotak kamar hitung. Hasil perhitungan jumlah spermatozoa tersebut kemudian dimasukkan ke dalam rumus untuk menentukan jumlah spermatozoa per ml dalam suspensi sekresi kauda epididimis:

$$\text{Kuantitas spermatozoa} = n \times \text{pengenceran} \times 10.000(\text{juta/ml})$$

(Mustofa dan Hanif, 2019).

3.7.9 Prosedur Pembuatan Preparat Histologi

1. Fiksasi

Fiksasi dalam larutan BNF 10% selama 48 jam.

2. *Trimming*

Selanjutnya dilakukan *trimming* setebal $\pm 0,5$ cm.

3. Dehidrasi

Proses dehidrasi menggunakan cairan alkohol dengan konsentrasi 80%, 90%, dan absolut selama 2 jam.

4. *Clearing*

Clearing atau penjernihan merupakan proses yang bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan yang telah dilakukan saat proses dehidrasi. Proses *clearing* dilakukan secara dua tahapan dengan menggunakan reagen *xylol*.

5. *Embedding* atau *impregnation*

Proses pengeluaran cairan pembening

6. *Blocking*

Proses untuk memblok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom.

7. *Mounting*

pemotongan preparat dengan ketebalan 4-5 μ m

8. *Staining*

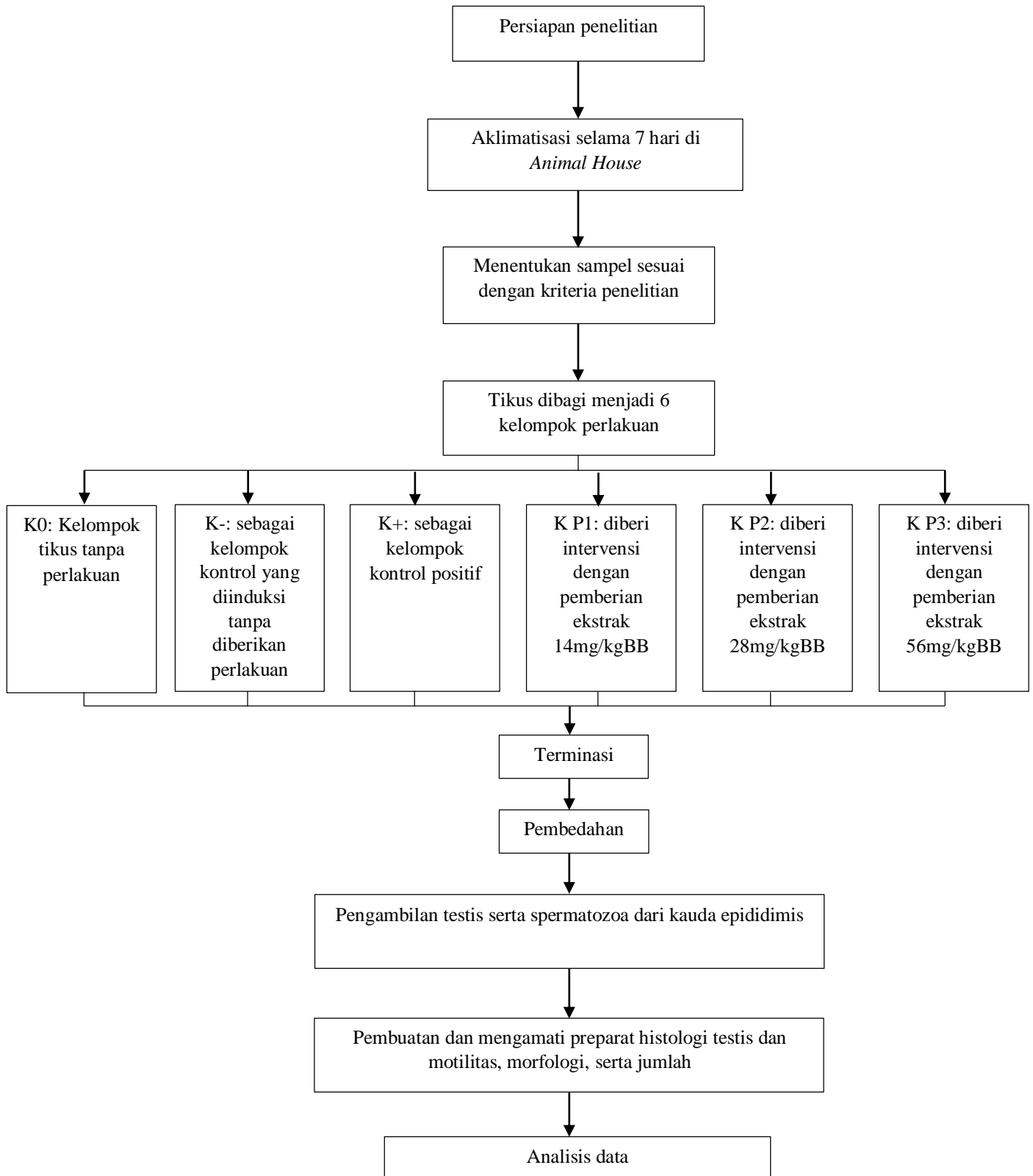
Proses pewarnaan menggunakan sediaan pewarna Mayers's Hematoxyllin (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.7.10 Prosedur Pemeriksaan Mikroskop

Gambaran kerusakan mikroskopis testis dengan melakukan pengamatan terhadap sediaan histologi menggunakan mikroskop cahaya. Bagian yang akan diukur dari histologi testis adalah ketebalan

tubulus seminiferus dan jumlah rerata sel spermatosit primer. Jumlah sel spermatosit primer akan diamati dengan mikroskop perbesaran 200x lalu dibagi 4 lapang pandang, tiap lapang pandang dipilih tubulus yang sesuai dan dihitung jumlah sel spermatosit primer (Mustofa dan Hanif, 2019).

3.8 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

Alur Penelitian adalah sebagai berikut:

1. Persiapan Penelitian

Tikus tiba di *Animal House*, peneliti sebelumnya sudah menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan selama aklimatisasi.

2. Aklimatisasi Tikus selama 7 Hari

Tikus menjalani masa adaptasi selama 7 hari di *Animal House*. Masa adaptasi ini penting untuk memungkinkan tikus beradaptasi dengan lingkungan baru dan mengurangi stres yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian.

a) Penentuan Sampel sesuai Kriteria Penelitian

Setelah masa adaptasi, sampel tikus ditentukan berdasarkan kriteria penelitian yang telah ditetapkan sebelumnya. Kriteria ini bisa meliputi faktor-faktor seperti usia, berat badan, jenis kelamin, dan kondisi kesehatan.

b) Pembagian Tikus menjadi 6 Kelompok perlakuan

Tikus-tikus tersebut kemudian dibagi menjadi enam kelompok berbeda untuk tujuan penelitian. Pembagian ini dilakukan untuk memastikan bahwa setiap kelompok menerima perlakuan yang sesuai dengan desain penelitian.

a. Kelompok K0 (Kelompok Tikus Tanpa Perlakuan)

Kelompok ini berfungsi sebagai kontrol negatif, di mana tikus tidak menerima perlakuan apapun. Kelompok ini digunakan sebagai pembandingan dasar untuk melihat efek dari perlakuan pada kelompok lain.

b. Kelompok K- (Kontrol Negatif dengan Perlakuan Induksi)

Kelompok ini merupakan kelompok kontrol negatif yang diberikan induksi namun tidak diberi perlakuan lebih lanjut.

c. Kelompok K+ (Kontrol Positif)

Kelompok kontrol positif ini diberikan Gentamisin dan obat standar.

d. Kelompok KP1 (Intervensi dengan Ekstrak Kulit Batang Bakau 14 mg/kgBB)

Tikus dalam kelompok ini diberikan intervensi berupa ekstrak kulit batang bakau dengan dosis 14 mg/kgBB. Ini adalah kelompok pertama dari tiga kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda.

- e. Kelompok KP2 (Intervensi dengan Ekstrak Kulit Batang Bakau 28 mg/kgBB)

Kelompok ini menerima dosis yang lebih tinggi dari ekstrak kulit batang bakau, yaitu 28 mg/kgBB. Tujuannya adalah untuk mengamati efek dari peningkatan dosis terhadap hasil penelitian.

- f. Kelompok KP3 (Intervensi dengan Ekstrak Kulit Batang Bakau 56 mg/kgBB)

Kelompok terakhir ini diberikan dosis tertinggi dari ekstrak kulit batang bakau, yaitu 56 mg/kgBB. Ini dilakukan untuk melihat efek maksimal dari perlakuan ekstrak tersebut.

Dengan pembagian ini, penelitian dapat mengevaluasi efek dari berbagai dosis ekstrak kulit batang bakau dan membandingkannya dengan kontrol negatif dan positif untuk mendapatkan hasil yang akurat dan menyeluruh (Mustofa dan Hanif, 2019).

3.9 Analisis Data

3.9.1 Uji Normalitas

Untuk menganalisis normalitas data dengan memakai uji analisis *Shapiro Wilk* atau *Kolmogorov Smirnov* (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.9.2 Analisis Bivariat

Setelah uji normalitas, maka selanjutnya dilakukan analisis bivariat dengan uji *One Way Anova* jika uji normalitas hasilnya normal. Jika uji normalitas hasilnya tidak normal maka digunakan uji alternatif *Kruskal Wallis* (Mustofa dan Paleva, 2023).

3.10 Ethical Clearance

Penelitian telah didaftarkan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan telah disetujui dengan nomor surat 4569/UN26.18/PP.05.02.00/2024.

Proses pelaksanaan meliputi prinsip 3R, yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement*.

1. *Replacement*

Replacement merujuk pada penggunaan dan pemanfaatan hewan coba yang telah dipilih dengan cermat berdasarkan pengalaman sebelumnya atau literatur yang ada, untuk memperoleh data dan hasil penelitian yang valid. Penggunaan hewan coba tidak dapat digantikan dengan organisme lain seperti sel atau kultur jaringan. Dalam penelitian ini, hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

2. *Reduction*

Reduction berarti penggunaan hewan dalam penelitian dengan jumlah yang seminimal mungkin, namun tetap dapat menghasilkan data yang optimal sesuai tujuan penelitian. Dalam penelitian ini, jumlah sampel hewan coba dihitung menggunakan rumus Federer, dan diperoleh jumlah hewan coba yang digunakan sebanyak 30 ekor.

3. *Refinement*

Refinement adalah prinsip yang menekankan perlakuan manusiawi terhadap hewan coba, dengan memastikan bahwa hewan-hewan tersebut dipelihara dengan baik dan tidak disakiti. Selain itu, prinsip ini juga berfokus pada upaya untuk meminimalkan perlakuan yang dapat menyebabkan rasa sakit pada hewan coba sepanjang proses penelitian.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- a. Pemberian ekstrak bakau terbukti secara signifikan dalam mempengaruhi kuantitas dan kualitas spermatozoa serta histologi testis yang diinduksi gentamisin dengan *P-value* <0.005.
- b. Hasil penelitian menunjukkan dosis paling efektif yaitu dosis 28mg/kgBB untuk percobaan pada jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa. Pada kelompok tubulus seminiferus dan spermatosit primer, dosis paling efektif berada pada dosis 56mg/kgBB.
- c. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara obat standar N-Acetylcystein pada K+ dengan dosis efektif ekstrak bakau pada kelompok jumlah spermatozoa, motilitas spermatozoa. Lalu pada kelompok morfologi spermatozoa, tubulus seminiferus, spermatosit primer tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara obat standar pada K+ dengan dosis efektif ekstrak bakau.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk menggunakan berbagai spesies atau galur tikus agar hasilnya lebih dapat digeneralisasi. Selain itu, variasi dosis gentamisin dan durasi penelitian yang lebih panjang dapat membantu menilai dampak jangka panjang pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak. Penelitian lebih lanjut juga perlu mengoptimalkan teknik histologi dan menguji berbagai dosis ekstrak untuk menentukan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan kualitas dan kuantitas spermatozoa serta kesehatan testis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2016. *Imunologi Dasar Abbas Edisi ke-5*. Singapura: Elsevier
- Abdel-Raheem IT. 2010. Gastroprotective Effect of Rutin against Indomethacin-Induced Ulcers in Rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 742-750.
- Actor JK. 2019. *Introductory Immunology*. 2nd ed. London: Academic Press.
- Adelati, S., Juniarto, A. Z., & Miranti, I. P. (2016). Histologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes Melitus. *Jurnal Kedokteran Diponegoro (Diponegoro Medical Journal)*, 5(4), 1760-1769.
- Adjeng ANT, Hairah S, Herman S, Ruslin, Fitrawan LOM, Sartinah, A, Sabarudin. 2019. Skrining Fitokimia Dan Evaluasi Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Salak Pondoh (*Salacca Zalacca (Gaertn.) Voss.*) Sebagai Antioksidan. *Pharmauho*, 5(2), 21–24.
- Aksu D, Sağlam YS, Serkan Y, Aksu T. 2017. Cellular and Molecular Biology Effect of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice on kidney, liver, heart and testis histopathological changes, and the tissues lipid peroxidation and antioxidant status in lead acetate-treated rats. *Cellular and Molecular Biology*. 63. 10.14715/cmb/2017.63.10.5.
- Alhaddad Z, Wahyudi D, Tanod W. 2019. Bioaktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia sp.*. 12. 12-22. 10.21107/jk.v12i1.4752.
- Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph BV, Aleesa FM, AlMssallem MQ. 2022. Flavonoid as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*. 27(9);1-24.
- Ananda, M., & Rusmiati, R. (2024). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Muda Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Terhadap Jumlah dan Morfologi Normal Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *Manilkara: Journal of Bioscience*, 3(1), 22–32. <https://doi.org/10.33830/manilkara.v3i1.9823.2024>
- Astuti IKA, Riyanto S. 2018. Antioxidant and Antibacterial Activities of Mangrove (*Rhizophora mucronata*) Bark Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*.12(6);100-105.

- Avdeev SN, Gaynitdinova VV, Merzhoeva ZM, Berikkhanov ZGM. 2022 “N-acetylcysteine for the treatment of COVID-19 among hospitalized patients,” *The Journal of infection*. 2021/07/10. The British Infection Association. Published by Elsevier Ltd.84(1);94–118
- Azizah N, Sutyarso, Putri GT. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Jumlah Dan Kualitas Sperma Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Yang Diinduksi Alkohol. *Medical Profession Journal of Lampung*, 9(2), 300-307.
- Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional Republik Indonesia. Laporan Kinerja 2020. Jakarta: BKKBN.
- Batchelor HK, Marriott JF. 2015. 2015. Paediatric pharmacokinetics: Key considerations. *British Journal of Clinical Pharmacology*.79(3);395–404.
- Bei A. 2021. Mengenal Mangrove. Balikpapan: Mangrove Center Graha Indah
- Berawi KN. 2018. Efektivitas Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Sebagai Antioksidan. *J Agromedicine*.412-417.
- Bogar BD. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik (eBm)*.4(1);201-205.
- Brower M, Grace M, Kotz CM, Koya V. 2015. Comparative Analysis Of Growth Characteristics Of Sprague dawley Rats Obtained From Different Sources. *Laboratory Animal Research*. 31(4);166–73.
- Budiono B, Ristanti RS. 2019. Pengaruh Pemberian Contrast Bath dengan Elevasi Kaki 30 Derajat terhadap Penurunan Derajat Edema pada Pasien Congestive Heart Failure. *Health Information: Jurnal Penelitian*. 11(2);91-99.
- Chaves B, Tadi, P. 2023. *Gentamycin*. Treasure Island: StatPearl Publishing. [Online] [Diakses 9 Oktober 2024] Tersedia dari: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/
- Cheng C, Mruk D. 2010. The biology of spermatogenesis: The past, present and future. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 365. 1459-63. 10.1098/rstb.2010.0024.
- Coórdova C, Gutiérrez B, Martínez-García C, Martín R, Muñoz PG, Hernández M, et al. 2014. Oleanolic Acid Controls Allergic and Inflammatory Responses in Experimental Allergic Conjunctivitis. *PLoS ONE*. 9(4);1–11.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, New York, 248-250.
- Dewi NWAT, Suardika A, Mulyana RS. 2019. Faktor penyebab infertilitas pasien program IVF (In Vitro Fertilization) di Klinik Graha Tunjung RSUP Sanglah. *Intisari Sains Medis*, 10(3).

- Diartha IWW, Ni WS, Iriani S. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Tauge Ditambah Madu Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus L.*). *Jurnal Simbiosis*. 4(1): 1-5.
- Fang SC, Hsu CL, Yen GC. 2016. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. *J. Agric. Food Chem*. 56;4463–4468.
- Farzam K, Sabir S, O'Rourke MC. 2021. *Antihistamines*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC.
- Fitria L. 2015. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa. *Jurnal Biologi Papua* Issn: 2086-3314, 25-36.
- Gaziansyah MP, WulaAJ, Djausal AN. 2019. Efek Rujak Polo Dan Ginseng India Sebagai Terapi Mutakhir Terhadap Infertilitas Pria. *Majority*.8(2);215-220
- Guo M, Zhu S, Liu Y, Duan J. 2017. Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of *Rhizophora apiculata* Bark Extract. *Journal of Ethnopharmacology*.199;36-44.
- Guyton, Hall. 2016. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Elsevier Singapore Pte Ltd. 901-1061
- Hadi AM, Irawati MH. 2016. *Karakteristik Morfo-Anatomi Struktur*. 1688– 1692.
- Hardiningtyas SD, Purwaningsih S, Handharyanie. 2014. Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1).
- Haryanto A, Mulyani E. 2019. Potensi Antimikroba Ekstrak Kulit Batang Bakau (*Rhizophora spp.*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*. 19(2);140-145.
- Hasan MJ. 2020. “N-acetylcysteine in Severe Covid-19: The Possible Mechanism,” *International Journal of Infection*.7(4);7–9.
- Hidayah N. (2016). Identifikasi dan pengelolaan stres infertilitas. *Ui*.25–33
- Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. 2017. *The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017*. *Human reproduction (Oxford, England)*, 32(9), 1786–1801.
- Huda N, Halim A, Auni N, Abidin Z & Me R. 2013. A study of chemical compounds in *Rhizophora apiculata*. *Bentham Open*. pp.108–110.
- Idacahyati K, Nofiantim T, Aswa GA, Nurfatwa M. 2019. Hubungan tingkat kejadian efek samping antiinflamasi nonsteroid dengan usia dan jenis kelamin. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6(2);56-61.
- indriyani I, Busman H, Sutyarso S. 2021. Penurunan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak

- Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*.4(1);75-85.
- Ivaturi V, Wang H, Sherwin C, Gobburu JVS. 2019. Population Pharmacokinetic Modeling of Gentamisin in Pediatrics. *The Journal of Clinical Pharmacology*.1–13.
- Kasturi J, Palla PR, Bakshi V, Boggula N. 2019. Non-steroidal antiinflammatory drugs : an overview. 9:442–448.
- Katzung BG. 2018. *Basic Clinical Pharmacology*. 14th Ed. North America : Mc Graw Education.
- Khaki A. 2015. Assessment on the adverse effects of aminoglycosides and flouroquinolone on sperm parameters and male reproductive tissue: A systematic review. *Iran J Reprod Med*.13(3):125–134.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Jerrold R. 2021. *Robbins Cotran Pathologic Basis of Disease*. 10th ed. New York: Elsevier Inc.
- Kumar V, Abbas AK, Asyer JC. 2020. *Buku ajar patologi robbins*. Edisi ke-10. Jakarta : EGC
- Kusmana C, Hikmat A. 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*.5(2):187–98.
- Latief, M., Tarigan, I. L., et al. (2021) 'Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan', *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), pp. 23–37. doi: 10.23917/pharmacon.v18i01.1288 0.
- Latief, M., Sari, P. M., et al. (2021) 'Antidiabetic Activity of Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Leaves Ethanol Extract on the Male Mice Induced Alloxan Monohydrate', *Pharmacology and clinical Pharmacy Research*, 6(2). doi: 10.15416/pcpr.v4i3.31666.
- Lobascio AM, Felici MD, Anibaldi M, Greco P, Minasi MG, Greco E. 2015. Involvement of seminal leukocytes, reactive oxygen species, and sperm mitochondrial membrane potential in the DNA damage of the human spermatozoa. *Andrology*, 3(2): 1-6.
- Manehat FX. 2021. "Motility, Viability, Spermatozoa Abnormality, and PH of Bali Cattle Semen in Another-Yellow Water Driller Stored in A Different TIME." *Journal of Tropical Animal Science and Technology*. 3(2)
- Marini, A., Safitri, D., & Muda, I. (2018). Managing school based on character building in the context of religious school culture (Case in Indonesia). *Journal of Social Studies Education Research*, 9(4), 274–294. <https://doi.org/10.17499/jsser.11668>
- Minutello K, Gupta V. 2021. *Cromolyn Sodium*. Treasure Island: StatPearlsPublishing.

- Mustika DI, Rusdiana O, Sukendro A. 2014. Pertumbuhan bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) di persemaian mangrove Desa Muara Teluk Naga, Tangerang, Banten The development of *Rhizophora apiculata* at mangrove nursery of Muara Teluk Naga Village, Tangerang District, Banten. *Bonorowo Wetlands*. 4(2):108–116.
- Mustofa S. 2024. Pengantar Metabolisme Lemak. CV Rizky Karunia Mandiri, Bandar Lampung. 1-90
- Mustofa S, Adjeng ANT, Kurniawaty E, Ramadhita L, Tamara T. 2024. Influence of *Rhizophora apiculata* barks Extract on Cholesterol, Trglyceride, LDL, and HDL Levels of *Rattus norvegicus* (Sprague Dawley) Fed High Cholesterol Diet. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 17(1); 396- 0.
- Mustofa S, Adli FK, Wardani DWSR, Busman H. 2022. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Rhizophora apiculata* terhadap Kolesterol Total dan Trigliserida *Rattus norvegicus* Galur Sprague dawley yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Kesehatan*. 13(3);472-478.
- Mustofa S, Akbar MY. 2024. Comparison of Histology of The Kidneys of Rats Exposed To Cigarette Smoke After Administration of Ethanol Extract Methanol and N-Hexane *Rhizophora apiculata* Bark. Atlantis Press. *Proceedings of the International Conference on Medical Science and Health, Advances in Health Sciences Research*.184-189
- Mustofa S, Alfa N, Wulan AJ, Rakhmanisa S. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Etanol 95 % terhadap Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Galur Sprague dawley yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*. 3(1);28–33.
- Mustofa S, Anisya V. 2020. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol *Rhizophora Apiculata* Pada Tikus Yang Dipaparkan Asap Rokok Hepatoprotective effects of *rhizophora apiculata* extract in Rats exposed to cigarette smoke. 4; 12–17.
- Mustofa S, Bahagia W, Kurniawati E, Rahmanisa S, Audah K. 2018. The Effect Of Mangrove (*Rhizophora apiculata*) Bark Extract Ethanol On Histopathology Pancreas Of Male White Rats Sprague Dawley Strain Exposed To Cigarette Smoke. 153;15–22.
- Mustofa S, Caesario B, Oktaria B. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 95% Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap Kadar MDA Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Medula*. 9(1): 43-47.
- Mustofa S, Ciptaningrum I, Zuya CS. 2020. subacute TOKSIKity test of *rhizophora apiculata* bark extract on liver and pancreas histoptaology of rats. *Acta Biochimica Indonesiana*, 3; 89–97.
- Mustofa S, Dewi SN. 2023. *Rhizophora apiculata* Bark Ethanolic Extracts Prevent

Kidney Damage Caused by Cigarette Smoke in Male Rats. *Sriwijaya Journal of Medicine*, 6(1): 17-23.

- Mustofa S, Kurniawaty E, Kurniaji I, Eka Yuniyanto A. 2024. The Effect of Giving Mangrove Leaf Extract (*Rhizophora apiculata*) on the Healing of Burn Wounds in Male White Rats (*Rattus norvegicus*) of the Sprague Dawley Strain. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*.25(19). doi:10.62877/66-ijcbs-24-25-19-66
- Mustofa S, Hanif F. 2019. the Protective Effect of *Rhizophora Apiculata* Bark Extract Against Testicular Damage Induced By Cigarette Smoke in Male Rats. *Acta Biochimica Indonesiana*. 2(1); 23–31.
- Mustofa S, Paleva R. 2023. A Subacute toxicity Test of *Rhizophora apiculata* Stem Bark Ethanol Extract on the Number, Motility, and Morphology of Male *Rattus Norvegicus* Spermatozoa. *Sriwijaya Journal of Medicine*. 6(2); 72-78.
- Mustofa S, Utama RANA, Syachrani F, Rosti NY, Lenka PR. 2021. Efek Antidislipidemia Ekstrak Kulit Pisang Kepok Lampung (*Musa paradisiaca* L) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigleserida Tikus Putih Dengan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Kesehatan Unila*. 5 (1); 35-44.
- Mustofa S, Wardina MA, Malarangeng ANTA. 2023. Review Article: Potential of *Rhizophora apiculata* As *Phytopharmaca*. *Medical Profession Journal of Lampung*. 13(2); 137-146.
- Mustofa S. 2019. Lipid; biokimia, pencernaan, penyerapan dan transportnya di dalam tubuh. Lampung: Aura CV.
- Muthmainnah, B. 2017. “Skrinning Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna”. *Media Farmasi*. Vol 13(2).
- Nishimura H, L'Hernault SW. 2017. Spermatogenesis. *Curr. Biol*.27.R988– R994.
- Nugroho SW, Fauziyah KR, Sajuthi D, Darusman HS. 2018. Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague Dawley. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 6(2): 32–37
- Nurjannah. (2019). 30 hari Bimbingan Positif Hamil. *Elif medika*
- Otto GM, Franklin CL, Clifford CB. 2015. *Biology and Diseases Of Rats*. In *Laboratory Animal Medicine*. Edisi ke-3. hlm. 151–207. Elsevier.
- Panahi S, Abdollahifar MA, Aliaghaei A, Nazarian H, Paktinat S, Abdi S, Farahani RM. Application of stereological methods for unbiased estimation of sperm morphology in the mice induced by busulfan. *Anat Cell Biol*. 2017 Dec;50(4):301-305. doi: 10.5115/acb.2017.50.4.301. Epub 2017 Dec 29. PMID: 29354302; PMCID: PMC5768567.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*. 5(47);1–15.

- Pandya KG, Ravindranath V. 2019. Antiallergic Activity of Herbal Formulation: A Review. *International Journal of Herbal Medicine*. 7(3);1-8.
- Papi S, Ahmadizar F, Hasanvand A. 2019. The role of nitric oxide in inflammation and oxidative stress. *Immunopathologia Persa*; 5(1)
- Rahman S, Wati A, Asariningtyas EM. 2017. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Pada Mencit (*Mus musculus*). *J Ilm As-Syifaa*. 9(1);51-57.
- Rahmanto BD. 2020. Peta Mangrove Nasional dan Status Ekosistem Mangrove di Indonesia.
- Rahmi, S., A. Sumiarsih, dan Eni. 2017. Struktur Komunitas *Bivalvia* pada Ekosistem Mangrove di Teluk Buo, Kecamatan Bungus, Kabupaten Teluk Kabung, Padang, kawasan Mangrove di Desa Bedono Kecamatan Sayung Kabupaten Demak. *Journal of Maquares*. 7 (2): 172-179
- Rijai L. 2019. Reviuw Beberapa Bioaktivitas dan Senyawa Kimia Organisme Laut untuk Kefarmasian. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 2(1);70–82.
- Rini R. 2017. Evaluasi Aktivitas Antialergi Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) pada Model Tikus. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 14(1);45-51.
- Rosidah I, Ningsih S, Renggani TN, Agustini K, Efendi J. 2020. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Sparague Dawley JRamadhani N, Sumiwi SA. Aktivitas antiinflamasi berbagai tanaman diduga berasal dari flavonoid. *Farmaka*. 14(2);111-123.
- Rusdi, P. H. N., Oenzil, F., & Chundrayetti, E. (2018). Pengaruh Pemberian Jus Jambu Biji Merah (*Psidium Guajava.L*) Terhadap Kadar Hemoglobin dan Ferritin Serum Penderita Anemia Remaja Putri. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(1), 74. <https://doi.org/10.25077/jka.v7.i1.p74-79.2018>
- Ruswanti, Cholil O, Sukmana B. 2014. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya*) 100% Terhadap Waktu Penyembuhan Luka. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 4; 162–68.
- Santoro T, Azevedo CT, Silva PMR, Martins MA, Carvalho VF. 2019. Glucocorticoids Decrease The Numbers and Activation of Mast Cells by Inducing The Transactivation Receptors of AGEs. *Journal of Leukocyte Biology*. 105(1);131–142.
- Saraswati, A., 2015. Infertility. *J Majority*.4(5).
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang.
- Selvaraj G, Kaliamurthi S, Thirungnasambadam R. 2015. Identification Of Medicinal Mangrove *Rhizophora apiculata* Blume: Morphological, Chemical And DNA Barcoding Methods. *International Journal Of Scientific And Engineering Research*. 6(2): 1283–90.

- Shi Z, Enayatullah H, Lv Z, Dai H, Wei Q, Shen L, et al. 2019. Freeze-Dried Royal Jelly Proteins Enhanced the Testicular Development and Spermatogenesis in Pubescent Male Mice. *Animals*. 9(11):977.
- Simorangkir D, Hutagalung J, Tarigan P. 2020. Uji Aktivitas Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Terhadap Tikus Putih Jantan (Galur Wistar). *Jurnal Penelitian Farmasi Herbal*. 2(2)
- Sinaga L, Hardiani, Prihanto PH. 2017. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Tingkat Fertilitas di Perdesaan (Studi pada Desa Pelayangan Kecamatan Muara Tembesi Kabupaten Batanghari), *Jurnal Paradigma Ekonomika*.12(1)
- Sintaningrum EP, Saputro ID, Zarasade L. 2021. Pengaruh Oral N-Acetylcystein terhadap Pola Faktor Pertumbuhan Vaskular (Vegf) dan Fibroblast Growth Factor (Fgf) pada Model Kereta Listrik Tikus. *Jurnal Rekonstruksi dan Estetik*. 5.(1)
- Solihati N. 2013. Perkembangan Sel-Sel Spermatogenik dan Kualitas Sperma Pasca Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*).18(3);192–201
- Surbakti LA, Dasrul, Wahyuni S, Akmal M, Riady G, Rusli. 2022. The Effect of Administration Putat Seed Extract (*Barringtonia Racemosa L*) on Tubulus Seminiferous Histomorphometry of White Rats (*Rattus Norvegicus*) Which is Exposed to Cigarette Smoke. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET)*, 6(3), 177-189
- Susianti. 2013. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa L.*) terhadap Gambaran Histologi Hepar, Paru, dan Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Gentamisin. *Jurnal Sainsmat*.2(2);107-118
- Sutyarso, Annida S, Kanedi M, Busman H, Nurcahyani N. 2018. Penurunan Laju Penuaan Reproduksi Mencit Jantan (*Mus Muculus Linn*). *J Biol Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*.5(1):1–10.
- Tanamal MT, Papilaya PM, Smith A. 2017. Kandungan Senyawa Flavonoid Pada Daun Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbuh. *Biopendix J Biol Pendidik dan Terap*. 3(2);142-147.
- Tandi J, Rizky M, Mariani R, Alan F. 2017. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis (Parkinson Ex FA Zom)*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Ureum dan Kreatinin Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(8); 384-396
- Tanno LK, Calderon MA, Smith HE, Sanchez-Borges M, Sheikh A, Demoly P, et al. 2016. Dissemination of Definitions and Concepts of Allergic and Hypersensitivity Conditions. *World Allergy Organization Journal*. 9(24);1-9.
- Triassanti, Dina (2017) Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Ketapang (*Terminalia Catappa*) Sebagai Kandidat Antifertilitas Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*)

Berdasarkan Kadar Sod (Soperoxide Dismutase) Pada Testis Dan Jumlah Sel Spermatozoa. Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.

- Tisa AS. 2017. Produksi Siderofor Dan Karakterisasi Dari Mutan *Enterobacter Sp. Bm-18*. Universitas Andalas.
- Wiarta R, Astiani D, Indriyani Y, Mulia F. 2017. Pendugaan jumlah karbon tersimpan pada tegakan jenis bakau (*R.apiculata*) di IUPHHK PT. bina ovivipari semesta kabupaten kubu raya. *J Hutles*. 5(2); 356-64.
- Wicaksono F, Bagus M. 2015. Komposisi Jenis Pohon dan Struktur Tegakan Hutan Mangrove di Desa Pasarbanggi, Kabupaten Rembang, Jawa Tengah. *Bonorowo Wetlands*. 5; 55–62.
- Wijaya B, Citraningtyas B, Wehantoue F. 2014. Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocacia Esculenta*) Sebagai Alternatif Obat Luka Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(3)
- Wolfensohn S, Lloyd M. 2013. *Handbook Of Laboratory Animal Management And Welfare*. Edisi ke-4. Wiley Blackwell.
- World Health Organization (WHO). 2020. Infertility. [Online] [Diakses pada 26 Juli 2024] Tersedia dari: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
- Wuwungan C. 2017. Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle L.*). *Pharmacon*. 6(3).
- Yasir M, Goyal A, Bansal P, Sonthalia S. 2021. *Corticosteroid Adverse Effects*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC.