

**PENGARUH PEMBERIAN ENZIM BROMELIN DAN VITAMIN C
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) JANTAN SETELAH DIINDUKSI *CYCLOPHOSPHAMIDE***

HIJRAWIYAH SYARIF

C031 20 1025



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



**THE EFFECT OF BROMELIN ENZYME AND VITAMIN C ON THE
QUALITY OF MALE WHITE RAT SPERMATOZOA (*Rattus norvegicus*)
AFTER *CYCLOPHOSPHAMIDE* INDUCED**

HIJRAWIYAH SYARIF

C031 20 1025



VETERINARY MEDICINE STUDY PROGRAM

FACULTY OF MEDICINE

HASANUDDIN UNIVERSITY

MAKASSAR, INDONESIA

2024



**Pengaruh Pemberian Enzim Bromelin Dan Vitamin C Terhadap
Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Setelah
Diinduksi *Cyclophosphamide***

HIJRAWIYAH SYARIF

C031 20 1025

SKRIPSI

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

Pada

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

Pengaruh Pemberian Enzim Bromelin Dan Vitamin C Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Setelah Diinduksi Cyclophosphamide

HIJRAWIYAH SYARIF

C031 20 1025

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada

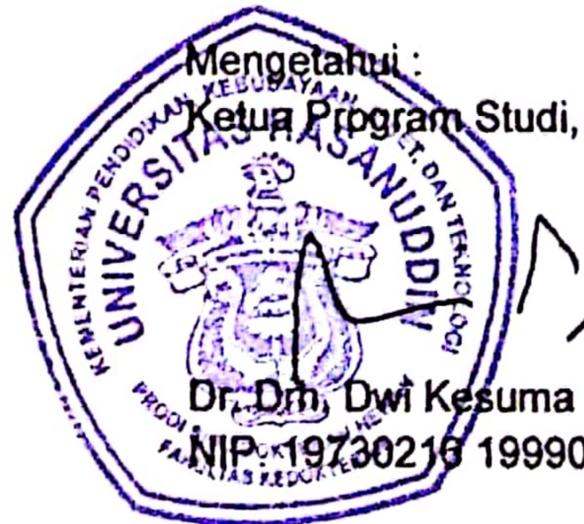
**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

Mengesahkan :
Pembimbing Tugas Akhir



Drh. Nur Alif Bahmid, M.Si
NIP. 19920510 202001 5 001

Mengetahui :
Ketua Program Studi,



Dr. Dri. Dwi Kesuma Sari, AP.Vet
NIP. 19730216 199903 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Pengaruh Pemberian Enzim Bromelin Dan Vitamin C Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Setelah Diinduksi *Cyclophosphamide*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing drh. Nur Alif Bahmid M.Si, sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Sri Gustina, S.Pt, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin

Makassar, 11 Juni 2024



HIJRAWIYAH SYARIF

C031 20 1025

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur kehadirat Allah SWT, Tuhan yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, dan pencipta seluruh alam. Setiap kemampuan dan kemudahan telah diberikan-Nya sehingga saya selaku penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk mendapat gelar S-1 Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penyelesaian skripsi ini juga dipersembahkan untuk keluarga tercinta penulis, orang tua penulis Syarif dan Hasmuliana. Saudara-saudara penulis Taufik Hidayat Syarif dan Mutiyani Pratiwi. Seluruh keluarga besar penulis yang tidak bisa penulis tuliskan satu persatu. Terima kasih atas begitu banyak bentuk cinta yang luar biasa, semua doa dan dukungan yang diberikan kepada Penulis. Semoga senantiasa diberikan kemudahan, kekuatan dan rasa syukur.

Dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi ini, penulis juga sangat membutuhkan kerjasama, bantuan, bimbingan, pengarahan, petunjuk, saran-saran, dan dukungan dari berbagai pihak. Terima kasih penulis hanturkan kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, SP.PD-KGH, Sp.GK, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
3. Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, Ap.Vet selaku Ketua Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
4. Drh. Nur Alif Bahmid, M.Si dan Dr. Sri Gustina, S.Pt, M.Si sebagai dosen pembimbing yang telah memberi banyak arahan dan masukan selama pengerjaan skripsi.
5. Dr. drh. Fika Yuliza Purba, M.Sc dan drh. Rasdianah, M.Si sebagai dosen pembahas yang telah membantu dan memberi saran demi kesempurnaan penelitian.
6. Bapak/Ibu dosen pengajar Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas semua ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
7. Staf tata usaha program studi Kedokteran Hewan ibu Ida, kak Ayu, kak Marta dan pak Heri.
8. Sahabat-sahabat penulis, "**Kareba**" (Agim, Babang, Diat, Fikar, Nunung dan Usnul) yang telah menjadi teman perjuangan penulis dari SD; "**Always Wacana**" (Ara, Dea, Didi, Dila, Farwan, Hatman, Nammel, Thiya, dan Ulun) yang selalu menyemangati dan mendukung serta mendengarkan semua keluhan penulis; "**KBS**" sebagai tempat bercerita penulis; "**Berbagi Indah**" (Puput Fidela dan Putri Wulandari) yang selalu membantu penulis menjalankan perkuliahan dan menemani penulis hingga saat ini; "**Dreation**" yang juga telah menyemangati penulis dan ikut mengapresiasi segala pencapaian penulis; teman-teman "**DEWATA dan HPMM Kom. Unhas**" terkhusus (Puja, Yusra, Inna) yang menjadi rumah kedua bagi penulis;

“Sahabat Penelitian” penulis (Putri Wulandari, Andi Ulfiah Septianti, Chandra Juliyanti dan Kiki Sri Wulandari) yang telah bersama-sama menyelesaikan penelitian ini; teman-teman **“Asisten Laboratorium Reproduksi Veteriner”** (Andi Akbar Pelani, Muhammad Haikal Ramadan, Putri Wulandari dan Chandra Juliyanti).

9. Teman-teman dari angkatan 2020, Cione sebagai teman-teman yang telah kebersamai penulis selama masa perkuliahan.
10. Kepada semua pihak yang telah berkontribusi, baik secara langsung maupun tidak langsung, tetapi tidak bisa penulis sebutkan satu per satu di sini, terima kasih telah menjadi bagian penting dalam perjalanan penulis dalam menempuh pendidikan ini.

Kepada semua yang telah disebutkan diatas, semoga Tuhan membalas segalanya dengan balasan yang lebih dari kalian berikan. Penulis telah berusaha memberi yang terbaik dalam menyelesaikan skripsi ini. Namun, penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati dan keterbukaan penulis menerima segala saran dan kritik demi lebih baiknya skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat digunakan dan dimanfaatkan sebagaimana mestinya.

Makassar, 11 Juni 2024

Hijrawiyah Syarif

ABSTRAK

HIJRAWIYAH SYARIF. Pengaruh Pemberian Enzim Bromelin Dan Vitamin C Terhadap Morfologi Testis Dan Kualitas Makroskopis Semen Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Yang Diinduksi *Cyclophosphamide*. (dibimbing oleh drh. Nur Alif Bahmid, M.Si dan Dr. Sri Gustina, S.Pt, M.Si).

Latar Belakang. *Cyclophosphamide* merupakan salah satu obat anti kanker yang sering digunakan baik pada hewan dan manusia. Penggunaan obat ini tidak lepas dari dampak negatif yang ditimbulkan. Salah satu efek sampingnya adalah terjadinya infertilitas pada hewan jantan. Meski demikian, infertilitas dapat dicegah dengan pemberian zat antioksidan seperti vitamin C dan enzim Bromelin. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk Untuk mengetahui kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi *cyclophosphamide* setelah pemberian vitamin C dan enzim Bromelin. **Metode.** Metode penelitian terdiri dari 4 tahapan, yakni : 1) tahapan persiapan, dengan aklimatisasi tikus selama 7 hari; 2) tahapan kedua dengan pengelompokan tikus yang dikelompokkan dalam 5 perlakuan, yaitu kelompok kontrol (K0), perlakuan dengan injeksi 0,6 mL *cyclophosphamide* (KP1), perlakuan dengan injeksi 0,6 mL *cyclophosphamide* dan pemberian 1 mL secara oral enzim Bromelin (KP2), perlakuan injeksi 0,6 mL *cyclophosphamide* dan pemberian 1 mL vitamin C secara oral (KP3) dan perlakuan dengan injeksi 0,6 mL *cyclophosphamide*, pemberian 1 mL enzim Bromelin dan vitamin C secara oral (KP4); 3) tahapan pengamatan sampel setelah tikus dimatikan dan dinekropsi; dan 4) tahapan analisis data. Data yang terkumpul dianalisis secara statistik, dengan menggunakan uji *one way ANOVA* ataupun *Kruskal-Wallis*. **Hasil.** Hasil pemeriksaan motilitas dan morfologi spermatozoa menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. **Kesimpulan.** Pemberian enzim Bromelin dan vitamin C berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi *cyclophosphamide*.

KataKunci : *Cyclophosphamide*, Enzim Bromelin, Morfologi Spermatozoa, Motilitas Spermatozoa.

ABSTRACT

HIJRAWIYAH SYARIF. *Effect of Giving Bromelain Enzymes and Vitamin C on Testicular Morphology and Macroscopic Quality of Male Rat (Rattus norvegicus) Semen Induced by Cyclophosphamide. (supervised by Drh. Nur Alif Bahmid, M.Si and Dr. Sri Gustina, S.Pt, M.Si).*

Background. Cyclophosphamide is one of the anti-cancer drugs that is often used in both animals and humans. The use of this drug cannot be separated from the negative effects caused. One of the side effects is infertility in male animals. However, infertility can be prevented by administering antioxidants such as vitamin C and Bromelain enzyme. **Objective.** This study aims to determine the quality of spermatozoa of male white rats (*Rattus norvegicus*) induced by cyclophosphamide after administration of vitamin C and Bromelain enzyme. **Method.** The research method consists of 4 stages, namely: 1) preparation stage, with acclimatization of mice for 7 days; 2) the second stage by grouping mice into 5 treatments, namely control group (K0), treatment with injection of 0.6 mL of cyclophosphamide (KP1), treatment with injection of 0.6 mL of cyclophosphamide and oral administration of 1 mL of Bromelain enzyme (KP2), treatment with injection of 0.6 mL of cyclophosphamide and administration of 1 mL of vitamin C orally (KP3) and treatment with injection of 0.6 mL of cyclophosphamide, administration of 1 mL of Bromelain enzyme and vitamin C orally (KP4); 3) sample observation stage after the rat is killed and necropsied; and 4) data analysis stages. The collected data was analyzed statistically, using one way ANOVA or Kruskal-Wallis tests. **Results.** The results of the examination of motility and morphology of spermatozoa showed a significant effect between the control group and the treatment group. **Conclusion.** The administration of Bromelain enzyme and vitamin C has an effect on the spermatozoa quality of male rat (*Rattus norvegicus*) induced by cyclophosphamide.

Keywords: Cyclophosphamide, Bromelain Enzyme, Spermatozoa Morphology, Spermatozoa Motility.

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Hipotesis	3
1.6 Keaslian Penelitian.....	3
1.7 Kajian Pustaka	3
1.7.1 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	3
1.7.2 Reproduksi Tikus Putih Jantan.....	4
1.7.3 Spermatogenesis	5
1.7.4 Kualitas Spermatozoa	5
1.7.5 Enzim Bromelin	6
1.7.6 Vitamin C.....	7
1.7.7 Cyclophosphamide.....	7
BAB II. METODE PENELITIAN	8
2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	8
2.2 Jenis Penelitian	8

2.3	Materi Penelitian	8
2.3.1	Hewan Percobaan	8
2.3.2	Alat dan Bahan	9
2.4	Tahapan Penelitian	9
2.4.1	Tahap Persiapan	9
2.4.2	Prosedur Persiapan Produk	9
2.4.3	Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Coba	10
2.4.4	Pengamatan Spermatozoa	11
2.5	Analisis Data	11
2.6	Alur Penelitian	12
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN		13
3.1	Motilitas Spermatozoa	13
3.2	Morfologi Spermatozoa	14
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN		19
4.1	Kesimpulan	19
4.2	Saran	19
DAFTAR PUSTAKA		20
LAMPIRAN		23

DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1. Hasil persentase motilitas spermatozoa tikus berdasarkan perlakuan...	13
2. Hasil persentase morfologi spermatozoa tikus berdasarkan perlakuan .	14



DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Reproduksi tikus putih	4
2. Sperma tikus putih.....	6
3. Alur penelitian	12
4. Morfologi spermatozoa tikus.	15



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Dokumentasi Penelitian.....	23
2. Pemberian cyclophosphamide, vitamin C dan enzim Bromelin.....	24
3. Euthanasia dan nekropsi tikus	25
4. Pemeriksaan sampel penelitian	26
5. Data Penelitian.....	27



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infertilitas merupakan keadaan berkurangnya atau tidak adanya kemampuan untuk menghasilkan keturunan yang layak. Penyebab fungsional infertilitas adalah faktor sekunder yang disebabkan oleh faktor nutrisi, keturunan, dan stres. Infertilitas hewan jantan merupakan salah satu gangguan reproduksi paling kritis yang didorong oleh kondisi lingkungan. Fungsi sperma yang rusak diidentifikasi sebagai penyebab paling umum infertilitas. Morfologi sperma juga menjadi faktor penting menurunnya kesuburan. Kelainan morfologi sperma menjadi penyebab menurunnya potensi reproduksi (El-Newary et al., 2022). Menurut Hosseini et al. (2018), kondisi infertilitas ini dapat disebabkan dari berbagai faktor, baik internal maupun eksternal. Faktor ini sebagian besar menyebabkan perubahan parameter terhadap spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa yang rendah, motilitas sperma yang buruk, dan morfologi sperma yang tidak normal adalah penyebab yang paling berpengaruh. Ada beberapa faktor lain yang dapat menyebabkan gangguan infertilitas seperti obat-obatan, kemoterapi, radioterapi, apoptosis, spesies oksidatif radikal, dan defisiensi protamine.

Agan perusak DNA merupakan salah satu agan antikanker yang paling efektif dalam penggunaan klinis termasuk agan alkilasi seperti *cyclophosphamide*. Pengobatan dengan obat antikanker sering dilakukan pada hewan. Pengobatan dengan agan kemoterapi dapat menyebabkan kerusakan DNA yang persisten pada sel germinal jantan kemungkinan konsekuensi jangka panjang terhadap kesuburan dan hasil keturunan (Liu et al., 2014). *Cyclophosphamide* adalah suatu agan alkilasi dan sitotoksik dengan sifat antitumor dan immunosupresan, banyak digunakan untuk pengobatan jenis kanker seperti kanker prostat. Sehingga sering dikaitkan dengan berbagai efek samping dalam sistem reproduksi. Setelah pemberian *cyclophosphamide*, fungsi hati mengubahnya menjadi metabolit aktif yaitu *mustard fosforamida* dan *akrolein*. *Akrolein* berhubungan dengan efek samping yang berdampak negatif terhadap reaksi biokimia dan menciptakan stres oksidatif yang mengurangi kesuburan pada pasien yang menjalani pengobatan. Selain itu, *akrolein* juga menghambat sintesis testosteron dan meningkatkan apoptosis sel spermatogenik yang akhirnya menyebabkan infertilitas pada hewan jantan (Watcho et al., 2019). Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa paparan *cyclophosphamide* dapat mengganggu keseimbangan redoks jaringan dan menunjukkan bahwa gangguan biokimia dan fisiologis mungkin disebabkan oleh stres oksidatif. Oleh karena itu, penting untuk terus mencari senyawa model efektif yang akan melindungi terhadap *cyclophosphamide*, menginduksi toksisitas reproduksi dan mengurangi masalah toksisitas yang terkait dengan kemoterapi (Abarikwu et al., 2012).

Penurunan produksi dan kualitas spermatozoa juga dapat disebabkan oleh keadaan stres oksidatif di testis. Salah satu penyebabnya yaitu kekurangan vitamin C. Vitamin C membantu meningkatkan imunokompetensi dengan menyesuaikan enzim fungsional (Ziamajidi et al., 2023). Vitamin C dipertahankan dalam keadaan tereduksi oleh reduktase dehidroaskorbat yang bergantung pada GSH, yang banyak terdapat di testis. Pada beberapa penelitian, vitamin C telah terbukti meningkatkan motilitas dan meningkatkan kualitas semen dan kesuburan pada tikus (Vijayprasad et al., 2014). Selain vitamin C, keadaan stres oksidatif juga dapat dikurangi dengan pemberian enzim Bromelin. Enzim Bromelin adalah sekelompok enzim yang mengandung sulfur dari *Ananas comosus* yang dikenal karena aplikasi pengobatannya dan implementasi terapeutik serta kemampuan untuk melindungi tubuh terhadap toksisitas oksidatif baik (Jebur et al., 2020). Menurut Khazaeel et al. (2021), enzim Bromelin merupakan penggabungan alami enzim yang berasal dari nanas, mengandung berbagai tiol endopeptidase dan protease inhibitor. Enzim Bromelin secara nyata dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan menghambat stres oksidatif. Selain itu juga telah terbukti untuk menjaga kelangsungan hidup sperma. Sifat antioksidan enzim Bromelin dapat memperbaiki kerusakan yang melemahkan sistem reproduksi

Berdasarkan penjelasan di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai antioksidan yang paling efektif dalam penanganan dampak dari *cyclophosphamide*. Berbagai antioksidan dapat memberikan efek terhadap perbaikan reproduksi tikus akibat efek pemberian *cyclophosphamide*. Dalam penelitian ini, akan diketahui efek vitamin C, enzim Bromelin atau kombinasi keduanya yang menjadi antioksidan paling efektif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat diketahui bahwa rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi *cyclophosphamide* setelah pemberian vitamin C dan enzim Bromelin.

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi *cyclophosphamide* setelah pemberian vitamin C dan enzim Bromelin.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai tambahan ilmu pengetahuan dan literatur dalam mengembangkan penelitian mengenai kualitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi *cyclophosphamide* setelah pemberian vitamin C dan enzim Bromelin. Sehingga menjadi acuan dalam peningkatan atau penurunan tingkat reproduksi hewan.

1.5 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian enzim Bromelin, vitamin C ataupun kombinasi dari keduanya terhadap kualitas sperma tikus putih jantan.

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh pemberian enzim Bromelin dan vitamin C terhadap kualitas sperma tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksikan *cyclophosphamide* belum pernah dilakukan. Namun penelitian serupa pernah dilakukan oleh Yulianti et al. (2020), dengan judul penelitian “Efek Protektif Zink terhadap Stres Oksidatif dan Kualitas Sperma pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) setelah Diinduksi *Cyclophosphamide*”.

1.7 Kajian Pustaka

1.7.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Menurut (Aisyah et al., 2023), klasifikasi dari *Rattus norvegicus* adalah sebagai berikut.

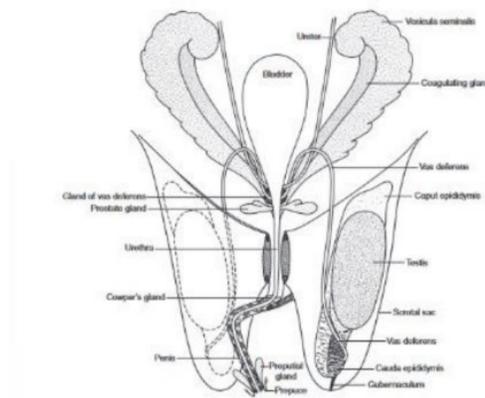
Kingdom	: Animalia
Filum	: <i>Chordata</i>
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: <i>Mammalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Famili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Penggunaan hewan coba sangat diperlukan dalam penelitian *in vivo* di bidang biomedik. Hewan coba berkontribusi untuk memahami tentang fungsi gen, etiologi dan mekanisme suatu penyakit, uji efektivitas dan keamanan suatu obat atau bahan kimia. Hewan coba yang banyak digunakan untuk penelitian antara lain tikus, mencit dan hewan pengerat lainnya. Tikus sebagai hewan coba telah banyak digunakan pada penelitian dikarenakan siklus hidupnya pendek, biaya perawatan lebih murah, relatif mudah perawatannya dan tersedia database dalam menginterpretasikan data yang relevan (Rosidah et al., 2020).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau juga dikenal sebagai *Norway Rat* merupakan hewan yang sering digunakan untuk penelitian biomedik. Dalam penelitian laboratorium, tikus sebagai hewan coba harus memenuhi persyaratan tertentu. Persyaratan tersebut antara lain memiliki galur yang sama, jenis kelamin tertentu, rentang usia tidak jauh berbeda, berat badan merata, menunjukkan fisik yang sehat yang dicirikan dengan mata cerah, aktivitas motorik normal, bulu tidak berdiri dan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian (Rosidah et al., 2020).

1.7.2 Reproduksi Tikus Putih Jantan

Sistem reproduksi hewan jantan vertebrata pada umumnya berupa sepasang testis, dengan saluran spermatozoa yang terdiri dari epididimis, vas deferens, urethra, dan alat kopulasi serta dilengkapi dengan kelenjar tambahan yang menghasilkan substansi untuk kehidupan spermatozoa (Atourrohman, 2019).



Gambar 1. Reproduksi tikus putih (Maynard dan Downes, 2019).

a. Testis

Testis merupakan organ kelamin jantan yang berfungsi sebagai tempat sintesis hormon androgen (terutama testosteron) dan tempat berlangsungnya proses spermatogenesis. Biosintesis androgen berlangsung di sel Leydig di dalam jaringan interlobular, sedangkan proses spermatogenesis berlangsung dalam epitel tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus terdiri atas deretan sel epitel yang akan mengadakan pembelahan mitosis dan meiosis sehingga menjadi sperma. Sel-sel yang terdapat di antara tubulus seminiferus disebut interstisial (Leydig). Sel ini menghasilkan hormon seks jantan yang disebut *testosterone* (Atourrohman, 2019).

b. Epididimis

Epididimis merupakan suatu struktur berbentuk koma yang menahan batas posterolateral testis. Epididimis dibentuk oleh saluran yang berlekuk-lekuk secara tidak teratur yang disebut duktus epididimis. Duktus ini berawal dari puncak testis yang merupakan kepala epididimis dan berakhir pada ekor epididimis. Epitel epididimis memiliki dua fungsi, yaitu mensekresikan plasma epididimis yang bersifat kompleks tempat sperma tersuspensi dan mengalami pematangan serta mengabsorpsi kembali cairan testikuler yang mengangkut sperma dari tubulus seminiferus (Atourrohman, 2019).

c. Vas deferens

Duktus deferens memiliki panjang 5-6 cm dan berjalan di korda spermatica dari ekor epididimis hingga bergabung dengan uretra saat melewati kelenjar prostat. Saat mendekati uretra prostat, duktus melebar menjadi ampulla, tempat saluran vesika seminalis bergabung dengan duktus. Bagian duktus yang masuk ke uretra prostatika disebut saluran ejakulasi (Maynard dan Downes, 2019).

d. Penis

Anatomi penis tikus mirip dengan manusia, tetapi memiliki os penis atau *baculum* dan memiliki anatomi glans penis yang lebih rumit. Os penis tikus memiliki panjang sekitar 7,5 mm dan diameter sekitar 1 mm. Kadang-kadang ditemukan dua potongan tulang kecil, satu di depan yang lain (Maynard dan Downes, 2019).

e. Accessory Sex Glands

Sistem reproduksi pada tikus dilengkapi dengan kelenjar kelamin pelengkap (*accessory sex glands*), yaitu vesikula seminalis, kelenjar koagulasi, prostat, bulbouretralis (kelenjar Cowper) dan ampulla. Kelenjar-kelenjar ini menghasilkan berbagai sekret yang berperan dalam transportasi spermatozoa, *buffer*, suplai nutrisi dan substrat metabolik untuk kehidupan spermatozoa terutama motilitas dan fertilitas, fungsi lubrikasi, dan membentuk *vaginal plug* (Fitria et al., 2018).

1.7.3 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses dimana sel germinal berkembang dari spermatogonia yang relatif tidak berdiferensiasi menjadi spermatozoa. Spermatogonia adalah sel bulat yang bersentuhan dengan membran basal tubulus seminiferus. Mereka adalah sel induk dari sistem, yang membelah untuk mempertahankan jumlahnya dan menghasilkan sel yang memulai proses perkembangan menjadi spermatozoa. Spermatogonia membelah secara mitosis menjadi tipe A dan B. Tipe A adalah sel pengganti dan tipe B adalah sel yang berkembang menjadi spermatosit. Spermatogonia tipe B awal tidak dapat dibedakan dari spermatogonia pada umumnya, namun mereka segera membesar dan memulai proses meiosis yang kompleks. Meiosis adalah proses pematangan dua tahap. Pembelahan pertama menghasilkan spermatosit sekunder dan pembelahan pematangan kedua menghasilkan spermatid, yang tidak mengalami pembelahan lagi dan berkembang menjadi spermatozoa. Meiosis menyebabkan pengurangan jumlah kromosom dari bilangan diploid menjadi bilangan haploid, yang berarti pengurangan dari 42 menjadi 21 (Maynard dan Downes, 2019).

1.7.4 Kualitas Spermatozoa

Spermatozoa terdiri atas kepala, akrosom, bagian tengah dan ekor. Kepala terutama dari nukleus yang mengandung informasi genetik sperma, terdiri atas sel berinti padat dengan hanya sedikit sitoplasma dan lapisan membran sel di sekitar permukaannya. Di bagian luar, dua pertiga anterior kepala terdapat selubung tebal yang disebut dengan akrosom. Akrosom mengandung enzim *hialuronidase* yang dapat mencerna filamen proteoglikan dari jaringan dan dapat mencerna protein sehingga dapat digunakan sebagai "borensimatik" untuk menembus ovum. Spermatozoa pada tikus lebih panjang dibandingkan dengan spesies mamalian

lainnya, termasuk manusia dan hewan lainnya dan biasanya panjangnya sekitar 150-200 μm . Kepala sperma pada tikus berbentuk kail, hal ini seperti hewan pengerat lainnya (Atourrohman, 2019).



Gambar 2. Sperma tikus putih (Atourrohman, 2019).

a. **Motilitas Spermatozoa**

Motilitas spermatozoa adalah pergerakan spermatozoa tikus. Penilaian terhadap motilitas spermatozoa terbagi atas motilitas normal dan abnormal. Motilitas spermatozoa dapat berupa motilitas normal, spermatozoa yang berenang maju dengan cepat dalam garis lurus dan spermatozoa berenang maju tetapi masih dalam garis melengkung atau bergelombang, atau dalam garis lurus tetapi lambat. Sementara motilitas abnormal dapat berupa spermatozoa yang menggerakkan ekornya tetapi tidak bergerak maju dan spermatozoa yang tidak bergerak maju sama sekali (Lomotu et al., 2019).

b. **Morfologi Spermatozoa**

Morfologi spermatozoa adalah bentuk spermatozoa tikus. Penilaian terhadap morfologi spermatozoa terbagi menjadi morfologi normal dan abnormal. Penilaian morfologi abnormal dilihat dari abnormalitas kepala, leher, dan ekor (Lomotu et al., 2019).

1.7.5 **Enzim Bromelin**

Enzim adalah satu atau beberapa gugus polipeptida (protein) yang berperan sebagai katalis biologi (bio-katalisator) yang mampu mempercepat terjadinya proses reaksi tanpa habis bereaksi dalam suatu reaksi kimia. Salah satu enzim yang berperan dalam hidrolisis protein adalah enzim protease. Salah satu sumber enzim protease adalah buah nanas. Enzim protease juga sering disebut enzim Bromelin. Enzim Bromelin termasuk golongan enzim protease ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti peptida rantai pendek dan asam amino (Dzulqaidah et al., 2021). Sifat antioksidan enzim Bromelin dapat memperbaiki kerusakan yang melemahkan sistem reproduksi (Khazaeel et al., 2021).

1.7.6 Vitamin C

Vitamin C adalah antioksidan yang larut dalam air sepuluh kali lebih tinggi daripada yang ada dalam serum darah dalam plasma semen. Vitamin C berperan penting dalam kesuburan hewan jantan karena menjaga spermatogenesis, mempertahankan kelangsungan hidup sperma, mencegah aglutinasi sperma, dan meningkatkan TES dalam serum. Suplementasi vitamin C juga telah terbukti meningkatkan total keluaran sperma dan konsentrasi sperma (Behairy et al., 2020).

1.7.7 Cyclophosphamide

Cyclophosphamide (CP) merupakan *alkylating agent* dari golongan nitrogen *mustard* dalam kelompok *oxazophorin*. *Cyclophosphamide* akan mengalami aktivasi oleh enzim sel hepatosit yaitu *Cytochrome P450 enzyme system* (CYP) yang selanjutnya akan menjadi 2 unsur kimia berupa zat aktif sebagai *alkylating agent*, dan zat buangan hasil metabolit yaitu *Phosphamide Mustard* (PM) dan *Acrolein*. Sifat *Acrolein* sebagai *aldehyde reactive* menjadi penyebab utama efek samping CP yang dapat merusak sel dengan mekanisme deplesi jalur seluler GSH yang terkonjugasi oleh *Acrolein*, sehingga proses *cytotoxicity* dapat terjadi secara luar. Paparan CP dapat menyebabkan gangguan keseimbangan reaksi oksidatif jaringan. Hasil reaksi akan terbentuk hidrogen peroksida yang mampu menyebabkan dekomposisi produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel dan berdampak pada gangguan perkembangan spermatogenesis (Yulianti et al., 2020). Dalam kedokteran hewan, *cyclophosphamide* digunakan terutama pada hewan kecil (anjing dan kucing) dalam kombinasi dengan agen lain baik sebagai agen antineoplastik (limfoma, leukimia, karsinoma, dan sarkoma) dan sebagai imunosupresan. adalah suatu prodrug dan metabolit siklofosfamid, seperti mustard fosforamida, bertindak sebagai zat pengalkilasi yang mengganggu replikasi DNA, transkripsi dan replikasi RNA, dan pada akhirnya mengganggu fungsi asam nukleat. *Cyclophosphamide* dapat menyebabkan kemandulan (mungkin bersifat sementara) pada hewan jantan (Plumb, 2008).