

SKRIPSI

**GAMBARAN HISTOLOGI TESTIS MENCIT (*Mus musculus*)
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU
(*Luffa cylindrica* Roem)**



OLEH :

BYUTI BERLIANITA

BOJONEGORO - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 8**

GAMBARAN HISTOLOGI TESTIS MENCIT (*Mus musculus*) SETELAH
PEMBERIAN ESKTRAK BIJI BLUSTRU (*Luffa cylindrica* Roem)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh :

BYUTI BERLIANITA

069312009

Menyetujui

Komisi Pembimbing



Eka Pramytha Hestianah, M.Kes., Drh
Pembimbing I

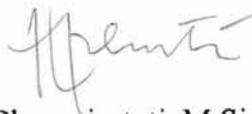


Dr. Bambang Poernomo S., M.S., Drh
Pembimbing II

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh,
kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun
kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar
SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,

Panitia Penguji,



Hani Plumeriastuti, M.Si., Drh.

Ketua


Julien Supraptini, SU., Drh.

Sekretaris


Poedji Srianto, M.Kes., Drh

Anggota


Eka Pramytha H, M.Kes.,Drh

Anggota


Dr. Bambang Poernomo S, M.S., Drh

Anggota

Surabaya, 23 September 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,


Dr. Ismudiono, MS., Drh

Nip 130 687 297

GAMBARAN HISTOLOGI TESTIS MENCIT (*Mus musculus*) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU (*Luffa cylindrica* Roem)

Byuti Berlianita

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologi testis mencit setelah pemberian ekstrak biji blustru.

Penelitian ini menggunakan 28 ekor mencit jantan galur BALG-G berumur 2 bulan dengan berat badan 25-30 gram. Mencit diadaptasikan, kemudian dibagi secara acak menjadi empat perlakuan, masing-masing tujuh ulangan. Mencit dipelihara dalam kandang berdasarkan kelompok perlakuan dan diberi pakan ayam Park-G dan minum secara tak terbatas. Suspensi ekstrak biji blustru diberikan dengan menggunakan *syringe disposable* 1 cc yang dilengkapi sonde secara oral selama 35 hari. Kelompok kontrol hanya diberi CMC Na 0,5% tanpa diberi ekstrak biji blustru. Kelompok PI, PII dan PIII diberi ekstrak biji blustru berturut-turut dosis 25, 50, 100 mg/kg berat badan. Setelah itu dilakukan pembedahan dan pembuatan sediaan histologi testis, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa pada enam tubulus seminiferus dari tiga potongan testis tiap perlakuan dan ulangan yang berbeda. Desain percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Beda nyata Terkecil (BNT) 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji blustru dengan dosis 25 mg/kg berat badan belum mampu menurunkan jumlah sel kelamin, sedangkan dosis 50 mg/kg berat badan sudah mampu menurunkan jumlah sel-sel kelamin mencit.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	v ^v
DAFTAR GAMBAR.....	vi ^v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii ^v
BAB I PENDAHULUAN.....	1 ¹
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1 ¹
1.2 Perumusan Masalah.....	3 ³
1.3 Landasan Teori.....	3 ³
1.4 Tujuan Penelitian.....	4 ⁴
1.5 Hipotesis.....	4 ⁵
1.6 Manfaat Penelitian.....	4 ⁵
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5 ⁶
2.1 Tinjauan Umum tentang Tanaman Blustru.....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Blustru.....	5
2.1.2 Nama Daerah Tanaman Blustru.....	5
2.1.3 Morfologi.....	5
2.1.4 Khasiat Tanaman.....	6
2.1.5 Kandungan Kimia.....	7
2.1.6 Mekanisme Fisiologi Kandungan Biji Blustru sebagai Bahan Antifertilitas pada Hewan Jantan.....	7

2.2 Sistem Reproduksi Hewan Jantan	8
2.2.1 Tinjauan Umum tentang Testis	8
2.2.2 Histologi Testis	10
2.2.3 Pengaturan Fungsi Testis	11
2.2.4 Spermatogenesis.....	12
BAB III MATERI DAN METODE.....	15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2 Materi penelitian.....	15
3.2.1 Hewan Percobaan.....	15
3.2.2 Bahan-bahan Penelitian.....	15
3.2.3 Alat-alat penelitian.....	16
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.3.1 Tahap Persiapan	16
3.3.1.1 Pembuatan Ekstrak Biji Blustru	16
3.3.1.3 Persiapan Hewan Percobaan	17
3.3.2 Tahap Perlakuan.....	17
3.3.3 Tahap Pengamatan	17
3.3.4 Peubah yang Diamati.....	19
3.3.5 Rancangan Penelitian	19
3.3.6 Analisis Data	19

BAB IV. HASIL PENELITIAN	21
BAB V. PEMBAHASAN	24
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	29
6.1. Kesimpulan.....	29
6.2. Saran.....	29
RINGKASAN	30
DAFTAR PUSTAKA.....	32

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT atas rahman dan rahim-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Upaya memanfaatkan bahan alam sebagai bahan antifertilitas dengan berbagai pertimbangan terus dilakukan. Serangkaian percobaan pemberian ekstrak biji blustru pada mencit dilakukan dilaboratorium dan hasilnya dituangkan dalam tulisan ini .

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Ibu Eka Pramyrtia Hestiana, M.kes, Drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. Bambang Poernomo S, M.S. Drh selaku dosen pembimbing kedua atas semua saran dan bimbingannya. Demikian pula ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Drh. Anam Al Arif yang telah banyak membantu selama penelitian berlangsung.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak dan Ibu tersayang yang telah memberi dorongan, semangat dan doa restu. Tidak lupa penulis sampaikan terima kasih kepada rekan-rekan '93 dan adik- adiku '94 yang telah banyak membantu hingga terselesainya skripsi ini.

Akhirnya penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, semoga hasil yang tertuang dalam skripsi ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Surabaya, September 1998

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Eyang Kakung, Ayahanda dan Ibunda tercinta.
2. Mas teguh, Mbak Annie, Aguk, Bestanti terkasih.
3. Adikku sayang : Ira, Denni.
4. Teman-temanku : Tini, SKH., Herlina, SKH., Nella, SKH., Ay Ling, Bambang, Istar, Mas April, SKH., Sri Saebani, dan semua teman kost.
5. Adik-adikku maniez : Rini, Irma, Wulan, Iswan, Gamjar, Romy.
6. Mas Aries dan mas Wawan (Citra Rental), atas semua pertolongannya.

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Jumlah Rata-rata Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus Testis.....	21
2. Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit Primer dalam Tubulus Seminiferus Testis.....	22
3. Jumlah Rata-rata Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus Testis.....	22

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Tanaman Blustru.....	6
2. Grafik Jumlah Sel Spermatogonia, Spermatisit Primer dan Spermatozoa pada Tubulus Seminiferus Testis Mencit pada Masing-masing Perlakuan.....	23
3. Skema mekanisme Penghambatan Spermatogenesis oleh beberapa zat aktif dari Ekstrak Biji Blustru.....	28
4. Sel -sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit, Pewarnaan HE, Pembesaran 400 X	36
5. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan Kontrol, Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X.....	37
6. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan I, Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X.....	37
7. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan II, Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X	38
8. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan III, Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Pembuatan Ekstrak Biji Blustru	39
2. Penentuan Dosis Ekstrak	40
3. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus Mencit	43
4. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatisit Primer dalam Tubulus Seminiferus Mencit	47
5. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus Mencit	51
6. Pembuatan Sediaan Histologi Testis	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Usaha penekanan jumlah kelahiran dalam dunia kedokteran hewan juga merupakan hal yang penting. Ada beberapa tujuan yang menyebabkan hewan-hewan tertentu perlu ditekan atau dibatasi populasinya. Pembatasan jumlah populasi ini dimaksudkan agar hewan-hewan tersebut tidak mencapai suatu jumlah yang dianggap mengganggu lingkungan sekitarnya. Penekanan jumlah kelahiran pada hewan ditujukan mulai dari hewan liar, ternak sampai hewan kesayangan. Di antara hewan-hewan tersebut adalah anjing dan kucing. Pada dasarnya penekanan jumlah kelahiran berhubungan dengan perencanaan perkawinan untuk memperoleh keturunan yang dikehendaki dan berguna bagi kesejahteraan hewan dan manusia (Ismudiono, 1991). Salah satu caranya yaitu dengan membuat hewan jantan menjadi infertil (Toelihere, 1981).

Infertilisasi pada penjantan cukup banyak metodenya. Metode-metode tersebut meliputi infertilisasi dengan pembedahan atau yang dikenal dengan metode mekanik dan infertilisasi tanpa pembedahan atau metode kimiawi (Partodihardjo, 1992). Infertilisasi secara mekanik dapat dilakukan dengan cara Vasektomi dan kastrasi, sedangkan infertilisasi kimiawi adalah dengan pemberian bahan-bahan kimia yang dapat menghambat produksi sperma (Nalbandov, 1990).

Menurut Soehadi (1937) bahan antifertilitas pada jantan menurut cara kerjanya dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu yang mempengaruhi proses

pembelahan mitosis maupun meiosis sel kelamin, yang mempengaruhi sistem hormonal dan yang mempengaruhi fertilitas sperma. Bagaimanapun cara kerjanya, yang pasti pemilihan bahan kimia sebagai antifertilitas yang baik adalah bahan yang mempunyai kemampuan menghambat produksi sperma, bersifat *reversible* dan tidak menurunkan libido (Lestari, 1987).

Pencarian bahan antifertilitas yang *reversible* masih terus dilakukan, antara lain dengan memanfaatkan bahan-bahan yang berasal dari alam. Hal ini sesuai dengan Indonesia yang beriklim tropis, banyak tersedia aneka ragam tanaman yang kemungkinan besar dapat dikembangkan menjadi obat antifertilitas yang aman dan efektif (Usman, 1982).

Suku Cucurbitaceae dapat dimanfaatkan sebagai antifertilitas mengingat terdapat beberapa zat kimia di dalamnya yang digunakan sebagai bahan antifertilitas. Salah satu jenis tanaman tersebut adalah *Luffa cylindrica* Roem yang biasa dikenal dengan nama blustru (Evans, 1989). Menurut Fransworth *et al.* (1975), Yeung dan Chan (1993) biji blustru dapat dimanfaatkan sebagai bahan antifertilitas pada hewan betina, hal tersebut dibuktikan dengan adanya degenerasi sel telur dan terjadi pengurangan jumlah anak yang dilahirkan. Menurut Mulyani (1992) biji blustru juga dapat digunakan sebagai bahan antifertilitas pada hewan jantan.

Untuk memperoleh informasi lebih jauh tentang khasiat biji blustru sebagai bahan antifertilitas hewan jantan, maka pada kesempatan ini akan diteliti pengaruh pemberian biji blustru pada hewan jantan, terutama terhadap proses spermatogenesis.

1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

Apakah pemberian ekstrak biji blustru dapat menghambat spermatogenesis sehingga mempengaruhi gambaran histologi testis mencit ?

1.3 Landasan Teori

Biji blustru mengandung α -spina sterol yang merupakan salah satu sumber hormon steroid. Steroid merupakan senyawa yang mempunyai aktifitas biologi sangat penting, antara lain untuk perkembangan atau untuk kontrol dari alat reproduksi dan untuk kontrasepsi (Tyler, 1976). Hormon steroid dari biji blustru bersifat antiandrogen. Suatu senyawa kimia yang bersifat antiandrogen bila diberikan dengan dosis 5-10 mg/hari selama 20 minggu menyebabkan penurunan kadar testosteron plasma, namun tidak dijelaskan lebih lanjut jenis hewannya. Penurunan tersebut menyebabkan tidak sempurnanya spermatogenesis (Arsyad dalam Panjaitan, 1991).

Biji blustru juga mengandung Kukurbitasin (Wijayakusuma dkk., 1994). Senyawa ini merupakan kelompok triterpeneoid yang mempunyai aktifitas sebagai antikanker. Beberapa zat antikanker yang berasal dari tanaman dapat bersifat antimitosis serta dapat dipergunakan sebagai antispermatogenik. Glikosida kukurbitasin dari biji blustru ini diberi nama luffin-a, luffin-b dan luffin-s (Mariatun, 1986; Yeung dan Chan, 1994).

Senyawa lain yang terdapat dalam ekstrak biji blustru adalah triterpena. Senyawa ini bekerja pada saat pembelahan meiosis dari sel kelamin dengan cara mengadakan hambatan terhadap pembelahan sel tersebut (Koralkovas *et al.*, 1981).

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologi testis mencit setelah pemberian ekstrak biji blustru secara oral.

1.5 Hipotesis

Pada penelitian ini dikemukakan hipotesis bahwa :
Terjadi perubahan gambaran histologi testis yang berupa penurunan sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa setelah pemberian ekstrak biji blustru secara oral.

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang khasiat biji blustru sebagai artifertilitas hewan jantan dan nantinya dapat digunakan sebagai alternatif untuk menginfertikan hewan jantan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan umum tentang Tanaman Blustru (*Luffa cylindrica* Roem)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Blustru

Tanaman blustru termasuk dalam divisi Spermatophyta, Sub divisi Angiospermae, Kelas Dicotyledone, bangsa Cucurbitales, suku Cucurbitaceae, marga *Luffa*, jenis *Luffa cylindrica* Roem (Sugati dan Hutapea, 1991).

Luffa cylindrica Roem mempunyai nama lain *Luffa aegytiace* Mill, *Luffa petandra* Roxb dan *Luffa cestupivicena* Ser (Heyne, 1987 ; Steenis, 1987).

2.1.2 Nama Daerah Tanaman Blustru

Luffa cylindrica Roem dikenal dengan nama daerah diantaranya : Blustru (Jakarta), Harung, Blustru, Bestru, Gambas (Jawa), Lopang, Oyong emas (Sunda), Dohadala, Petalo cina (Halmahera), Podahala (Maluku), Petola (Medan) (Heyne, 1987; Steenis, 1987).

2.1.3 Morfologi Tanaman Blustru

Tanaman blustru tumbuh menjalar, berbau tidak enak (Steenis, 1987). Batangnya persegi, hijau. Daunnya tunggal, bertaju lima sampai tujuh, ujung runcing, pangkal, tepi bergerigi, panjang 7,5-25 cm, warnanya hijau. Bunganya majemuk, bentuk tandan, diketiak daun, kelopak bentuk lonceng, kuning,

benangsari lima, kepala putik tiga, kuning, mahkota bulat, bertaju lima, bertulang kuat, kuning. Buahnya panjang, diameter 5-10 cm, hijau. Biji pipih, licin, tepi bersayap, berwarna putih jika masih muda dan hitam jika sudah tua (Sugati dan Hutapea, 1991).



Gambar 1. Tanaman Blustru
(Sumber : Sugati dan Hutapea, 1991)

2.1.4 Khasiat Tanaman Blustru

Dam blustru digunakan untuk pengobatan haid yang tidak teratur, bisul, asma, keracunan, kurang darah dan panas. Buahnya untuk peluruh susu ibu, peluruh air seni, peluruh dahak, pencahar dan untuk obat asthma. Bijinya digunakan sebagai pencahar dan membersihkan darah (Anonimus, 1985). Menurut Wijayakusuma dkk. (1994) biji blustru juga dapat digunakan untuk mengobati batu saluran kemih dan wasir.

2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman Blustru

Tanaman ini mengandung antara lain : silosa, manosa, galaktosa, saponin, sapogenin, triterpena, zat pahit luffanamin, vitamin A, vitamin B, vitamin C, lemak sterol, zat putih telur (Anonimus, 1985; Heyne, 1987). Bijinya mengandung kukurbitasin B, triterpena, α -spina sterol, minyak lemak, protein (Wijayakusuma dkk, 1994). Luffin-a, luffin-b, luffin-s (Yeung dan Chan, 1994).

2.1.6 Mekanisme Fisiologi Kandungan Biji Blustru sebagai Bahan Antifertilitas pada Hewan Jantan

Menurut Yantini (1989) biji blustru mengandung tiga jenis senyawa sterol, yang satu diantaranya menunjukkan spektrum massa yang identik dengan stigmasterol. Stigmasterol ada yang dalam bentuk bebas dan ada yang sebagai glikosida sederhana (Harborn, 1987). Pada saat ini zat tersebut banyak digunakan untuk pembuatan bahan kontrasepsi dan penting untuk sintesis hormon seks dan kortikosteroid (Bernat, 1982).

Steroid yang terdapat dalam biji blustru adalah α -spina Sterol yang berperan sebagai antiandrogen dan mempunyai pengaruh terhadap perubahan jalur fungsi hipotalamus-bipofisis anterior-gonad, sehingga terjadi gangguan yang berupa penurunan sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) atau yang pada hewan jantan disebut *Interstitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH). Akibat penurunan tersebut akan terjadi pula penurunan aktivitas testis, antara lain sel Leydig kurang aktif menghasilkan testosteron, kemudian diikuti dengan penghambatan terhadap spermatogenesis sehinggaterjadi penurunan produksi sperma (Arsyad dalam panjaitan, 1991; Mulyani, 1992).

Wijayakusuma dkk., (1994)) menyatakan adanya kukurbitasin B di dalam biji blustru ini. Dewasa ini telah dapat diisolasi tujuhbelas macam kukurbitasin, yang sebagian besar berasal dari famili Cucurbitaceae dan paling banyak dijumpai adalah kukurbitasin B dan kukurbitasin E. Semua kukurbitasin merupakan salah satu golongan triterpenoid yang mempunyai khasiat sebagai antikanker. Menurut Yeung dan Chan (1994) biji blustru mengandung luffin-a, luffin-b dan luffin-s, zat tersebut adalah nama glikosida kukurbitasin yang terdapat pada biji blustru.

Triterpena mempunyai mekanisme kerja yang berpijak pada kemampuannya berinteraksi terutama dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan sterol yang terdapat dalam membran sel kelamin (Anisimov *et al.*, 1978). Adanya ikatan kompleks triterpena dengan senyawa kolesterol dalam membran sel menyebabkan terjadinya perubahan perbandingan kolesterol dan fosfolipid dengan cairan membran sel. Perbedaan perbandingan tersebut akan mengakibatkan kelainan fungsi sel pada saat pembelahan meiosis (Koralkovas *et al.*, 1981).

2.2 Sistem Reproduksi Hewan Jantan

2.2.1 Tinjauan Umum tentang Testis

Alat dan organ kelamin jantan terdiri dari alat kelamin primer berupa sepasang testis dan alat kelamin sekunder berupa kelenjar asesoris yaitu kelenjar bulb uretralis, kelenjar vesikula seminalis dan kelenjar prostata serta alat kelamin kopulasi yang disebut penis (Poernomo dkk., 1998).

③ Testis berkembang dalam rongga abdomen dan dalam keadaan normal bermigrasi ke skrotum selama perkembangan fetus (Ganong, 1990). Menurut Frandson (1992) testis agak bervariasi dari spesies ke spesies dalam hal bentuk, ukuran dan lokasi tetapi struktur penyusun utamanya sama.

⑤ Testis terbungkus dalam kantung skrotum. Skrotum terdiri dari dua lobus yang masing-masing mengandung satu testis. Pada golongan rodensia (misalnya kelinci, tikus, mencit) testis dapat dengan mudah berpindah-pindah dari skrotum ke dalam rongga perut. Pada musim kawin, testis berada di dalam skrotum, sedangkan diluar musim kawin testis berada di dalam rongga perut (Hardjopranjoto, 1995). Fungsi skrotum adalah melindungi testis dari gangguan luar berupa pukulan, panas, dingin, dan gangguan-gangguan mekanis lainnya. Fungsi terpenting adalah mempertahankan suhu testis sampai beberapa derajat di bawah suhu tubuh sehingga memungkinkan spermatogenesis berlangsung secara sempurna. Terhadap suhu luar, skrotum dapat melindungi testis dengan jalan mengkerut atau mengendorkan dinding skrotum (Ganong, 1990 ; Hardjopranjoto, 1995).

2.2.2 Histologi Testis

① Permukaan luar testis dilapisi tunika vaginalis propria yang merupakan modifikasi dari lapisan peritoneal. Di sebelah dalamnya dilapisi tunika albugenia, merupakan lapisan tebal yang terdiri dari jaringan ikat fibrosa, yang membungkus jaringan fungsional testis. Pada beberapa posisi lapisan ini membentuk sekat-sekat ke dalam yang disebut septula testis. Septula testis ini membagi testis

menjadi beberapa lobuli testis. Pada masing-masing lobuli terdapat suatu bentukan yang disebut tubulus seminiferus. Di dalam tubulus seminiferus inilah proses spermatogenesis berlangsung (Poernomo dkk., 1998).

✓ Pada potongan melintang dari testis akan nampak bentukan tubulus yang banyak sekali. Dinding yang ada pada tubulus seminiferus ini terdiri dari tiga lapisan, yaitu dari luar ke dalam tunika propria yang terdiri dari jaringan fibroblastik, lamina basalis dan lapisan epitalium. Lapisan tunika propria ini pada hewan berfungsi sebagai alat transport sel spermatozoa dari tubulus seminiferus ke epididimis dengan jalan berkontraksi, sehingga sel spermatozoa bisa keluar. Pada lapisan epitelium terdiri dari dua jenis sel yaitu, sel sertoli dan sel germinatif (Frandsen, 1992).

ⓐ ✓ Sel-sel germinal atau sel-sel spermatogenik menyusun suatu lapisan epitelium berlapis pipih, empat sampai delapan lapis sel, yang meliputi bagian dalam tubulus seminiferus. Sel-sel ini mengalami perubahan yang progresif mulai dari daerah dasar tubulus seminiferus mengarah kepusat lumen. Akibat jumlah yang meningkat maka sel-sel ini didesak ke arah lumen (Frandsen, 1992).

ⓑ Sel sertoli mempunyai bentukan yang panjang dan kadang seperti piramid, terletak dekat atau di antara sel-sel germinal. Ada sel lain yang berperan pula dalam spermatogenesis yaitu sel Leydig, yang terdapat di luar tubulus seminiferus (Hardjopranto, 1995).

2.2.3. Pengaturan Fungsi Testis

✓ Fungsi endokrin dari testis yang utama adalah menghasilkan testosteron, hormon kelamin jantan yang dihasilkan sel Leydig. Sel Leydig merupakan sel target dari ICSH yang aktif membentuk hormon androgen yang penting untuk spermatogenesis terutama pada proses maturasi spermatozoa di dalam epididimis. (Soehadi, 1987). Testosteron memacu perkembangan dan fungsi kelenjar-kelenjar kelamin aksesori yang menyebabkan berkembangnya karakteristik kelamin sekunder dan mengontrol sekresi ICSH (Frandsen, 1992).

Sel-sel sertoli berfungsi memberi makan pada sel-sel spermatozoa dan mempunyai kemampuan memakan sel-sel spermatozoa yang telah mati atau mengalami degenerasi (Hardjopranjoto, 1995). Sel sertoli juga berperan dalam menyediakan lingkungan yang perlu untuk berdiferensiasi dan pematangan sel kelamin, termasuk sekresi *Androgen Binding Protein* (ABP) sebagai respon terhadap FSH. ABP berguna untuk mengangkut dan mengkonsentrasikan testosteron ke dalam tubulus seminiferus dan epididimis. Selain itu sel sertoli juga membentuk inhibin, suatu hormon yang berperan sebagai umpan balik untuk menghambat produksi FSH (Graner, 1987; Ganong, 1990).

Hormon kelamin dihasilkan di bawah pengaruh hormon gonadotropin dari hipofisis anterior, sebaliknya sekresi gonadotropin diatur oleh androgen dan estrogen. Peningkatan jumlah keduanya akan menyebabkan penurunan sekresi hormon gonadotropin. Hormon-hormon gonadotropin yang utama adalah FSH dan ICSH (Salisbury dan Van Demark, 1985). FSH dan ICSH terutama mengontrol fungsi testiskular. Siklus ini kemudian secara langsung diatur oleh

faktor *releasing* di dalam hipotalamus otak yang mengatur pelepasan FSH dan ICSH atau secara tidak langsung diatur oleh mekanisme umpan balik negatif akibat peningkatan kadar hormon-hormon tersebut dalam darah (Frandsen, 1992).

Akibat pengaruh ICSH, sebagian testosteron yang disekresi sel-sel Leydig membasahi epitel tubulus seminiferus dan memberikan konsentrasi ideal androgen dalam testis yang diperlukan untuk spermatogenesis secara normal. Pemberian testosteron secara terus menerus tidak meningkatkan kadar androgen dalam testis dalam jumlah tinggi tetapi justru akan menghambat sekresi ICSH (Ganong, 1990).

2.2.4 Spermatogenesis

✓ Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa dari spermatogonium yang terjadi di tubulus seminiferus testis melalui perkembangan yang kompleks dan teratur. Proses spermatogenesis pada mamalia dibagi menjadi empat tahap, yaitu tahap proliferasi, tahap pertumbuhan, tahap pematangan dan tahap transformasi (Poernomo dkk., 1998).

Tahap proliferasi terjadi sebelum lahir sampai beberapa waktu setelah lahir. Bakal sel kelamin yang terletak pada membran basal dari tubulus seminiferus ini relatif kecil, kromatinnya tidak teratur dan membentuk kelompok-kelompok kasar. Sel ini mengalami mitosis berurutan dan terbentuk dua macam sel spermatogonia yaitu jenis A dan B. Spermatogonia A membelah secara mitosis, setengah menjadi sel jenis A lagi dan setengahnya lagi menjadi sel jenis B, sedangkan spermatogonia B juga membelah secara mitosis dan akan meneruskan proses spermatogenesis dengan berdiferensiasi sampai menjadi spermatozoa (Johnson dan Everitt, 1988).

✓ Saat tahap pertumbuhan, spermatogonia membelah diri secara mitosis sebanyak empat kali sehingga dihasilkan 16 spermatosit primer. Spermatosit primer, merupakan hasil akhir dari pembelahan secara mitosis sel-sel spermatogonium jenis B. Spermatosit primer mempunyai inti yang lebih besar dari sel-sel yang lain, lokasi inti terletak ditengah (Dellman dan Brown, 1992 ; Hardjopranjoto 1995).

Tahap pematangan merupakan tahap pembelahan meiosis sehingga spermatosit primer menjadi empat sel spermatosit sekunder. Jumlah kromosomnya menjadi setengah dari jumlah kromosom semula (haploid). Sel ini sukar ditemukan dalam potongan testis karena interfasenya sangat cepat dan masuk meiosis kedua menjadi spermatid. Spermatid lebih kecil daripada spermatogonia dan spermatosit primer, kromosomnya haploid. Spermatid terletak dekat dengan bagian tengah tubulus seminiferus (Johnson dan Everitt, 1988).

✓ Pada tahap transformasi terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid membentuk sel spermatozoa. Inti spermatid menjadi kepala spermatozoa, badan golgi membentuk tudung anterior, bila sudah terbentuk vakuola, badan golgi akan berpindah ke leher. Plasma membran menjadi selubung spermatozoa. Mitokondria menuju kedepan ekor spermatozoa, membentuk spiral yang disebut selaput mitokondria (Poernomo dkk., 1998).

Pembagian lain dari spermatogenesis adalah fase pertumbuhan jaringan spermatogenik dengan pembelahan mitosis. Kemudian diikuti pembelahan reduksi (meiosis). Pada pembelahan reduksi ini jumlah kromosom dibagi dua sama banyak yaitu diploid ($2n$) menjadi haploid (n). Fase ini dikenal dengan

nama spermasitogenesis yang diakhiri dengan terbentuknya sel spermatid. Fase kedua dari spermatogenesis adalah spermiogenesis. Pada fase ini, sel spermatid akan mengalami metamorfosa sehingga menyebabkan terbentuknya sel mani secara sempurna (Hardjopranto, 1995).

④ ✓ Siklus spermatogenesis pada tikus dan mencit dimulai saat masa pubertas bersamaan dengan penurunan testis kedalam skrotum. Waktu dan siklus spermatogenesis adalah konstan. Pada mencit proses mitosis membutuhkan waktu 8 hari, sedangkan proses meiosis berlangsung selama 13 hari dan proses spermiogenesis berlangsung selama 13,5 hari. Jadi siklus spermatogenesis secara lengkap pada mencit berlangsung selama 34,5 hari (Wittinghan dan Wood, 1993).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di ruang bedah bangkai Laboratorium Patologi Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pembuatan ekstrak biji blustru dilakukan di Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Pembuatan sediaan histologi dan pemeriksaan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pelaksanaan penelitian dimulai tanggal 30 Desember 1997 sampai dengan tanggal 9 Februari 1998.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 28 ekor mencit jantan galur BALB-G yang sudah dewasa kelamin, berumur dua bulan, dengan berat badan 25 - 30 gram. Mencit-mencit tersebut dibeli dari Pusat Veterineria Farma Surabaya.

3.2.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : biji blustru, alkohol 96%, *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) Na 0,5%, akuades,

pakan ayam Par G produksi P.T. Comfeed Indonesia, kloroform dan kapas. Sedangkan bahan-bahan untuk pembuatan sediaan histologi yaitu : larutan Bouin, alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, Xylol I dan II, pewarnaan HE (Hematoxylon Eosin), parafin dan Canada balsem.

3.2.3 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan terdiri atas alat-alat pembuatan ekstrak biji blustru yaitu seperangkat alat Soxhlet, open, *Waterbath*, alat penggiling buatan Arthur H. Thomas. Untuk pemeliharaan mencit dipergunakan 10 buah kandang plastik, tempat makan dan minum terbuat dari mika. Timbangan Sartorius untuk menimbang bubuk biji blustru dan ekstrak, *syringe disposable* 1 cc yang dilengkapi dengan sonde digunakan untuk memberikan suspensi ekstrak secara oral. Sedangkan alat untuk pengambilan testis yaitu : scalpel, pinset dan gunting. Untuk pembuatan sediaan histologi digunakan serangkaian alat dehidrasi, mikrotom, *hot plate*, *objek glass*, mikroskop.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Tahap Persiapan

3.3.1.1 Pembuatan Ekstrak Biji Blustru

Biji blustru kering, digiling sampai menjadi bubuk halus. Bubuk halus tersebut diekstraksi menggunakan alat Soxhlet dengan pelarut alkohol 96%. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan open hingga didapatkan ekstrak kental.

Setelah itu dimasukkan kedalam *waterbath*. Ekstrak ini dibuat sekali untuk digunakan selama waktu penelitian berlangsung. Pembuatan ekstrak secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.1.2 Persiapan Hewan Percobaan

Mencit dipelihara selama satu minggu dengan harapan mencit tersebut dapat beradaptasi dengan lingkungan dan pakan yang baru, kemudian dibagi secara acak menjadi empat perlakuan, masing-masing dengan tujuh ulangan. Setelah itu mencit ditempatkan dalam kandang berdasarkan kelompok perlakuan.

3.3.2 Tahap Perlakuan

Empat perlakuan dengan masing-masing tujuh pada 28 ekor mencit adalah sebagai berikut :

- Perlakuan 0 : tujuh ekor mencit tanpa pemberian ekstrak biji blustru, hanya mendapatkan CMC Na 0,5%, perlakuan ini sebagai kontrol.
- Perlakuan I : tujuh ekor mencit mendapat ekstrak biji blustru dosis 25 mg/kg berat badan.
- Perlakuan II : tujuh ekor mencit mendapat ekstrak biji blustru dosis 50 mg/kg berat badan.
- Perlakuan III : tujuh ekor mencit mendapat ekstrak biji blustru dosis 100 mg/kg berat badan.

Cara pemberian menggunakan *syringe disposable* 1 cc yang dilengkapi dengan sonde secara oral, dan diberikan setiap hari sekali sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing selama 35 hari.

Pada hari ke 36 mencit-mencit dari semua perlakuan dikorbankan dengan cara memasukkan mencit ke dalam toples kaca berisi kapas yang telah dibasahi kloroform. Segera setelah mencit tersebut mati, maka dilaksanakan pembedahan untuk mengambil testis. Masing-masing testis dimasukkan ke dalam pot obat yang berisi larutan Bouin selama tidak lebih dari empat hari *. Larutan Bouin digunakan untuk fiksasi sediaan testis karena hasilnya lebih baik dibanding dengan larutan lain (Hariani,1996). Setelah itu dilakukan pembuatan sediaan histologi. Prosedur pembuatannya dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.3.3 Tahap Pengamatan

Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop dengan menggunakan pembesaran 100 X, kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 400 X. Cara penilaiannya dengan melakukan penghitungan pada tiga potongan testis yang berbeda untuk setiap ulangan pada masing-masing perlakuan. Tiap potongan dilakukan pengamatan pada dua tubulus seminiferus yang besarnya kurang lebih sama. Hasilnya diambil rata-rata dari jumlah masing-masing perhitungan.

* Poemomo, .B.S. 1998. Komunikasi pribadi.

3.3.4 Peubah yang Diamati

Pengamatan dilakukan terhadap histologi testis yang meliputi jumlah spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa.

1. Sel spermatogonia : letaknya paling dekat dengan membran tubulus seminiferus dan merupakan sel asal dari rantai spermatogenesis. Inti bulat dan banyak mengandung kromatin (Dellman dan Brown, 1992).
2. Sel spermatosit primer : sel ini merupakan sel yang besar dan lokasinya lebih ketengah tubulus seminiferus dibandingkan dengan letak spermatogonia (Dellman dan Brown, 1992).
3. Sel spermatozoa : sel ini adalah sel kelamin yang telah sepenuhnya terbentuk. Intinya gelap memanjang dan mempunyai flagela atau ekor, letaknya berbatasan dengan lumen tubulus seminiferus (Dellman dan Brown, 1992).

3.3.5 Rancangan Penelitian

Disain percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 7 ulangan.

3.3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian tersebut dianalisis dengan menggunakan sidik ragam.

Kriteria uji dengan sidik ragam sebagai berikut :

Bila $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$, berarti ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan.

Bila $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$, berarti tidak ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan.

Adanya perbedaan yang nyata dalam pengujian sidik ragam akan dilanjutkan ke uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% untuk membandingkan antar perlakuan tersebut (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian tentang gambaran histologi testis mencit setelah pemberian ekstrak biji blustru dosis 25 mg/kg berat badan, 50 mg/kg berat badan dan 100 mg/kg berat badan diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus Mencit.

Perlakuan	Jumlah Sel Spermatogonia ($\bar{X} \pm SD$)
P ₀	35,9142 ± 2,5753 ^a
P _I	35,1000 ± 3,4353 ^{ab}
P _{II}	32,2000 ± 2,1040 ^{bc}
P _{III}	29,7286 ± 2,7897 ^c

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kelompok yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji BNT 5%.

Hasil uji analisis statistik dengan sidik ragam, menunjukkan perbedaan jumlah sel spermatogonia yang nyata ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan. Setelah dilakukan uji BNT 5%, kelompok kontrol menunjukkan jumlah spermatogonia yang terbanyak, meskipun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan I (PI). Sedangkan jumlah sel spermatogonia terendah diperoleh pada perlakuan III (PIII) yang tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan II (PII). Pada kelompok PII tidak berbeda nyata dengan PI.

Tabel 2. Jumlah Sel Spermatisit Primer dalam Tubulus Seminiferus Mencit

Perlakuan	Jumlah Sel Spermatisit Primer ($\bar{X} \pm SD$)
P ₀	44,7000 \pm 3,2614 ^a
P _I	42,3143 \pm 3,9814 ^a
P _{II}	37,0837 \pm 3,9814 ^b
P _{III}	32,9143 \pm 3,4945 ^c

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kelompok yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji BNT 5%.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan jumlah sel spermatisit primer yang nyata antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Setelah dilakukan uji BNT 5%, menunjukkan bahwa kelompok kontrol mempunyai jumlah sel spermatisit primer terbanyak dibandingkan dengan yang lainnya, meskipun tidak berbeda nyata dengan kelompok P_I. Sedangkan kelompok P_{III} mempunyai jumlah spermatisit terkecil dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

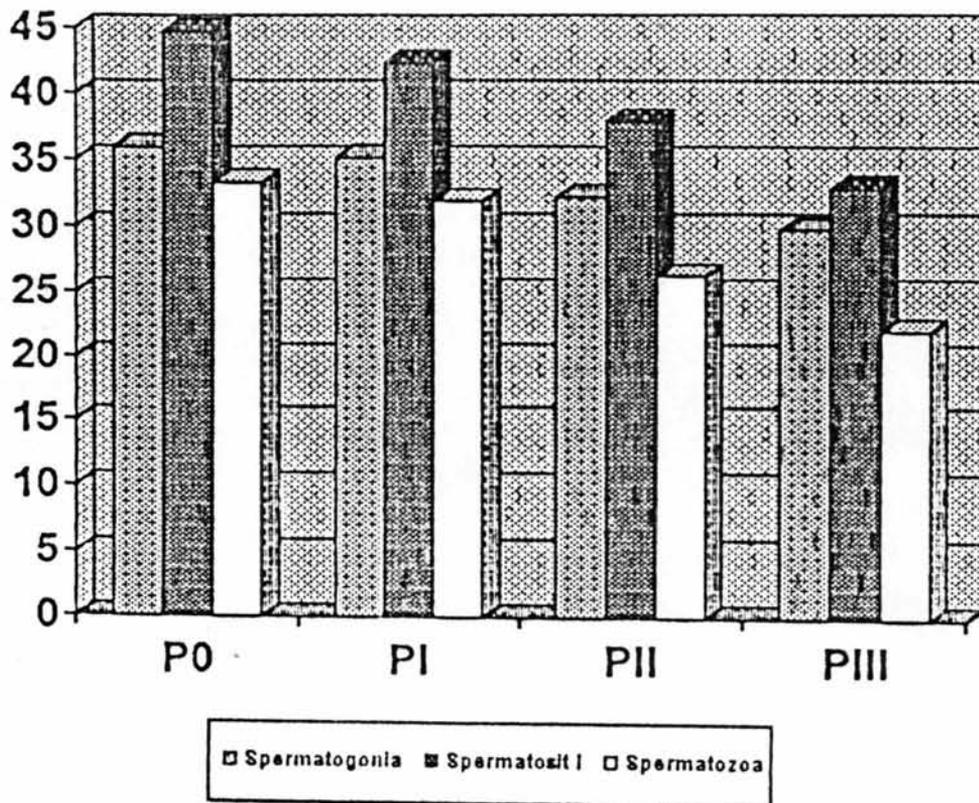
Tabel 3. Jumlah Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus Mencit

Perlakuan	Jumlah Sel Spermatozoa ($\bar{X} \pm SD$)
Kontrol	33,3143 \pm 4,2768 ^a
P _I	31,8857 \pm 1,9489 ^a
P _{II}	26,2857 \pm 2,4953 ^b
P _{III}	21,9857 \pm 2,3505 ^c

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kelompok yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji BNT 5%.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan jumlah spermatozoa yang nyata antara kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Setelah dilakukan uji BNT 5%, menunjukkan bahwa kelompok Kontrol mempunyai jumlah sel

spermatozoa terbanyak meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan I. Sedangkan perlakuan II mempunyai jumlah spermatozoa terkecil dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.



Gambar 2: Grafik jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatozoa pada tubulus seminiferus testis mencit pada masing-masing perlakuan.

BAB V

PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak biji blustru dosis 25 mg/kg berat badan, 50 mg/kg berat badan, 100 mg/kg berat badan, selama 35 hari pada mencit jantan mengakibatkan penurunan jumlah sel kelamin pada testis mencit secara nyata bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa cenderung mengalami penurunan karena adanya hambatan perkembangan akibat pengaruh zat aktif yang terkandung dalam ekstrak biji blustru. Zat-zat tersebut antara lain adalah α -spina sterol, triterpena, luffin-a, luffin-b, luffin-s.

α -spina sterol adalah salah satu sumber hormon steroid yang mempunyai sifat antiandrogen. Suatu zat yang mempunyai sifat antiandrogen akan menekan atau menurunkan kadar testosteron sehingga menyebabkan spermatogenesis tidak sempurna (Arsyad dalam Panjaitan, 1991 ; Bernat, 1982). Penurunan testosteron oleh hormon antiandrogen melalui suatu mekanisme umpan balik negatif terhadap hipotalamus yang selanjutnya menyebabkan sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (Gn-RH) terhambat. Akibat penurunan tersebut, akan terjadi pula penurunan sekresi FSH dan ICSH (Anonimus, 1995).

Penurunan FSH akan berpengaruh terhadap pertumbuhan tubulus seminiferus yang berfungsi sebagai tempat untuk memulai spermatogenesis (Toelihere, 1981). Penurunan FSH juga akan berpengaruh terhadap aktifitas sel

sertoli, yang berupa penurunan produksi dan sekresi ABP ke dalam lumen tubulus seminiferus. ABP berguna untuk mengangkut dan mengkonsentrasikan testosteron ke dalam tubulus seminiferus dan epididimis. Mekanisme ini penting untuk mencapai kadar testosteron yang dibutuhkan untuk spermatogenesis secara sempurna (Ganong, 1990).

Penurunan ICSH menyebabkan gangguan aktifitas sel Leydig untuk menghasilkan testosteron. Testosteron merupakan hormon testis yang utama. ICSH dan testosteron secara bersama-sama mendorong lebih lanjut pertumbuhan sel kelamin (Hardjopranjoto, 1995). Jelaslah bahwa kebutuhan testosteron untuk spermatogenesis tidak diragukan lagi. Testosteron berfungsi menjaga integritas sel-sel kelamin jantan, selain itu juga mempunyai peranan penting terhadap aktifitas pembelahan meiosis dan mitosis (Soehadi, 1987). Nalbandov (1990) dan Setyabudi (1991) menginformasikan bahwa testosteron juga berpengaruh terhadap perubahan gonosit menjadi sel spermatogonia. Testosteron yang disekresi sedikit, tidak mampu merangsang gonosit untuk menjadi spermatogonia, Sebagai akibatnya terjadi penurunan jumlah sel spermatogonia, sehingga jarak sel-sel kelamin menjadi lebih lebar.

Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran jarak antar sel-sel kelamin, tetapi dilakukan perhitungan jumlah sel-sel kelamin. Perhitungan jumlah sel kelamin dilakukan supaya dapat diketahui efek depresi pada proses spermatogenesis setelah pemberian ekstrak biji blustru. Selain itu juga untuk mendeteksi letak dan waktu terjadinya depresi. Pada perhitungan jumlah sel

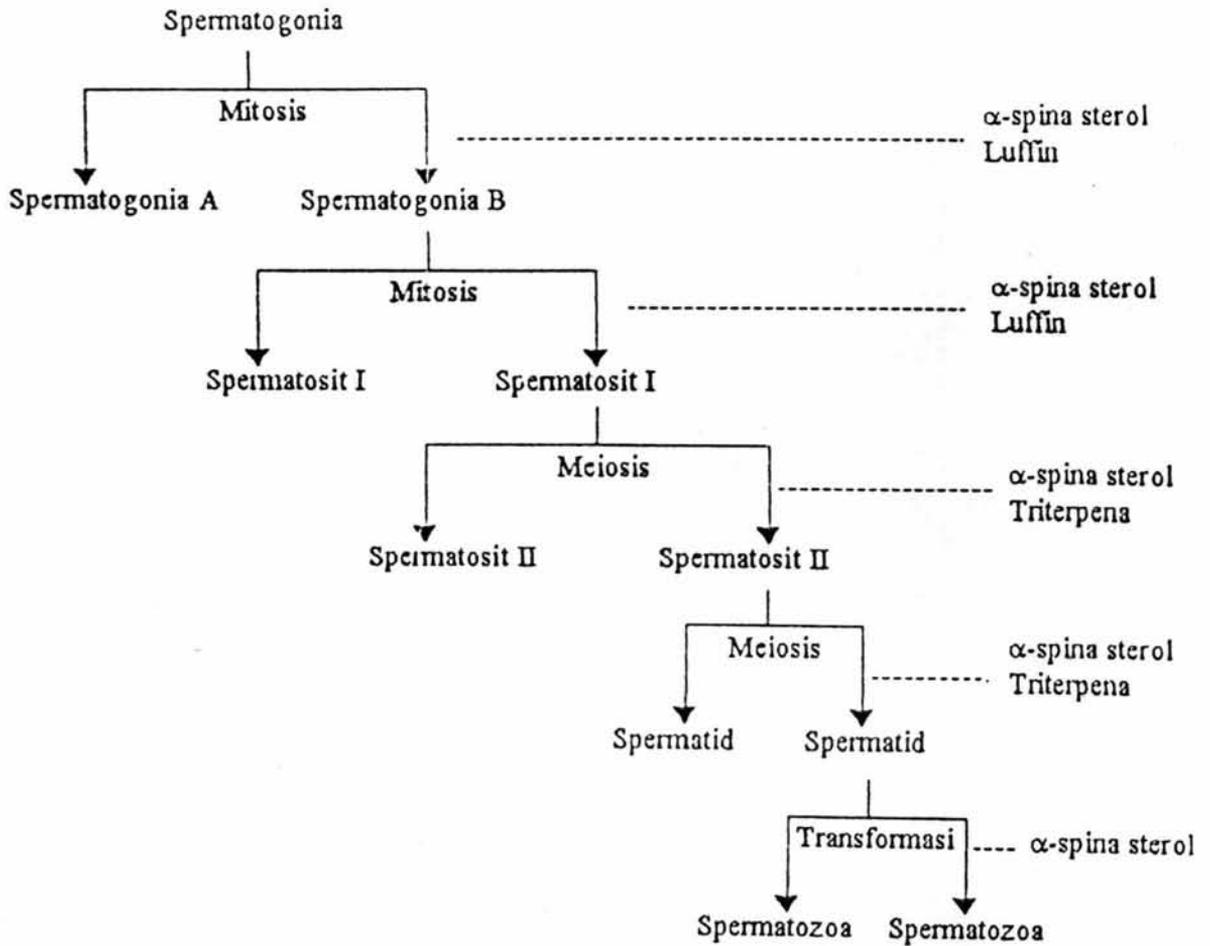
spermatogonia menunjukkan adanya penurunan jumlah jika dibandingkan dengan kontrol, tetapi setelah dilanjutkan dengan uji ENT 5%, diketahui bahwa kelompok kontrol menunjukkan jumlah sel spermatogonia yang terbanyak jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok PL. Seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan maka makin menurun pula jumlah sel spermatogonia yang di hasilkan. Penurunan tersebut selain karena pengaruh α -spina sterol dengan mekanisme yang telah diuraikan sebelumnya, juga diduga karena pengaruh luffin-a, luffin-b dan luffin-s. Keadaan ini sesuai dengan pendapat Yeung dan Chan (1993) yang mengatakan bahwa luffin-a, luffin-b, luffin-s yang terdapat dalam ekstrak biji blustru bersifat antiproliferatif, sehingga akan menghambat spermatogenesis pada tahap proliferasi.

Pemberian ekstrak biji blustru ternyata juga menyebabkan penurunan jumlah rata-rata sel spermatosit primer dibanding kontrol. Penurunan jumlah tersebut disebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia yang terjadi sebelumnya dan gagalnya sejumlah spermatogonia membelah diri secara mitosis akibat adanya luffin-a, luffin-b, luffin-s yang bersifat antimitosis (Yeung dan Chan, 1993).

Proses selanjutnya adalah spermiogenesis. Pada proses ini terjadi penyempurnaan spermatid menjadi spermatozoa yang berlangsung dibawah pengaruh peranan ICSH dan testosteron (Partodihardjo, 1992). Perhitungan sel

spermatozoa pada penelitian ini menunjukkan adanya penurunan. Kegagalan proses spermiogenesis disebabkan karena rendahnya kadar testosteron. Penurunan kadar testosteron ini sebagai akibat menurunnya produksi ICSH yang disebabkan oleh karena terganggunya hubungan fungsional Hipotalamus-hipofisis anterior-gonad oleh α -spina sterol (Arsyad dalam Panjaitan, 1991; Mulyani, 1992). Penurunan jumlah sel spermatozoa juga karena terjadi hambatan terhadap pembelahan meiosis akibat pengaruh triterpena pada tahap pertumbuhan dan tahap pemasakan, sebagai akibatnya jumlah spermatosit dan spermatid menjadi sedikit atau berkurang yang diikuti dengan berkurangnya jumlah sel spermatozoa. Mekanisme triterpena berpijak pada kemampuannya merubah permeabilitas membran sel kelamin dan mengakibatkan kelainan fungsi sel tersebut pada saat pembelahan sel kelamin secara meiosis (Anisimov *et al.*, 1978 ; Koralkovas *et al.*, 1981).

Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa triterpena, luffin-a, luffin-b, luffin-s bekerja secara langsung terhadap sel kelamin, sedangkan α -spina sterol bekerja secara tidak langsung terhadap sel kelamin. Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja dari masing-masing zat aktif tersebut. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat melalui skema sebagai berikut :



Keterangan :

Skema ini merupakan modifikasi dari skema yang telah dibuat oleh Christsetiani (1995).

Gambar 3:Skema mekanisme penghambatan spermatogenesis oleh beberapa zat aktif dari ekstrak biji blustru.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang gambaran histologi testis mencit setelah pemberian ekstrak biji blustru secara oral, selama 35 hari, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak biji blustru dosis 25 mg/kg berat badan, belum mampu menyebabkan penurunan sel spermatogonia, spermatosit primer dan spermatozoa secara nyata jika dibandingkan dengan kontrol.
2. Pemberian ekstrak biji blustru dosis 50 mg/kg berat badan sudah dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa, sehingga terjadi perubahan gambaran histologi testis.

6.2. Saran

1. Untuk memperoleh efek antifertilitas dari ekstrak biji blustru sebaiknya menggunakan dosis tidak kurang dari 50 mg/kg berat badan.
2. Perlu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak biji blustru terhadap jumlah sel Leydig dan libido.

RINGKASAN

Pengaturan pertambahan jumlah dalam suatu populasi hewan, dimaksudkan agar hewan-hewan tersebut tidak mencapai jumlah yang dianggap mengganggu lingkungan sekitarnya. Upaya tersebut dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, misalnya, melakukan kastrasi atau melakukan infertilisasi dengan menggunakan ekstrak biji blustru terutama pada pejantan.

Ekstrak biji blustru mengandung tiga zat aktif yang berperan sebagai antifertilitas, yaitu : α -spina sterol, triterpena dan luffin. Mekanisme kerja luffin dengan cara mengadakan hambatan terhadap pembelahan mitosis sel kelamin, sedangkan triterpena mengadakan hambatan terhadap pembelahan meiosis sel kelamin. Mekanisme kerja α -spina sterol menyebabkan penurunan produksi dan sekresi testosteron yang sangat penting dalam proses spermatogenesis. Keseluruhan zat aktif tersebut pada akhirnya menyebabkan gangguan proses spermatogenesis yang diikuti dengan penurunan jumlah sel-sel kelamin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologi testis mencit setelah pemberian ekstrak biji blustru secara oral, khususnya menyangkut perubahan yang berupa penurunan jumlah sel kelamin.

Dalam penelitian ini digunakan 28 ekor mencit jantan umur 2 bulan dengan berat badan 25-30 gram. Mencit dibagi secara acak menjadi empat kelompok perlakuan. Kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak biji blustru. Kelompok PI, PII,

PIII masing-masing diberikan ekstrak biji blustru dengan dosis 25, 50, 100 mg/kg berat badan setiap hari selama 35 hari. Pada hari berikutnya setiap mencit diambil testisnya untuk dibuat sediaan histologi. Pengamatan sediaan histologi dilakukan untuk menghitung jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa masing-masing pada 6 tubulus seminiferus dari 3 irisan testis.

Penelitian ini menggunakan disain Rancangan Acak Lengkap. Data dianalisis menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji blustru dengan dosis tertentu menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa. Pada pemberian dosis 25 mg/kg berat badan belum mampu menurunkan jumlah sel-sel kelamin. Pada pemberian dosis 50 mg/kg berat badan sudah mampu menurunkan jumlah sel-sel kelamin. Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan menggunakan dosis ekstrak biji blustru tidak kurang dari 50 mg/kg berat badan untuk memperoleh efek antifertilitas, serta disarankan untuk meneliti lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak biji blustru terhadap jumlah sel Leydig dan libido.

DAFTAR PUSTAKA

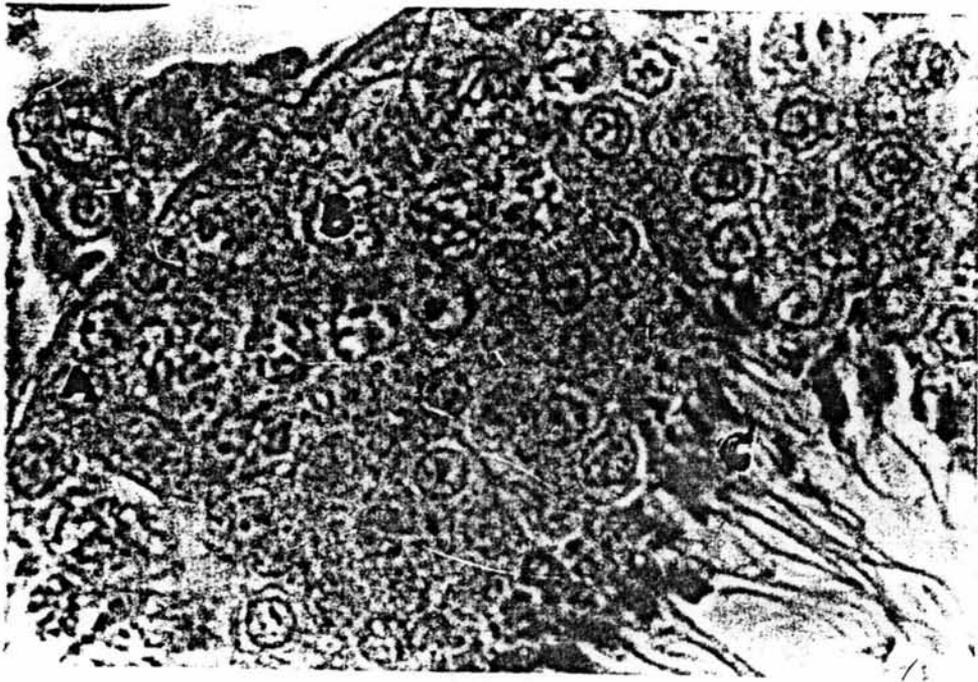
- Anisimov, M.M, E.B. Sentshsova, E.V.V. Scheglov., L.I Strignina, Y.N. Shumilov., N.S. Chetyrina, G.B. Elyukov. 1978. Mechanis of Cytotoxic Action of Some Triterpena Glikoside. Pregamon Press. 207-218
- Anonimus. 1985. Tanaman obat Indonesia. Jilid II Departemen Kesehatan RI. Jakarta 65
- Anonimus. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. Gaya Baru. Jakarta. 443-449.
- Bernat, J. 1982. Sitosterol dan stigmasterol merupakan bahan dasar untuk produksi obat-obatan kontrosepsi. Sinopsis Seminar Nasional Produksi Bahan Baku Kontrasepsi Oral. BKKBN. Jakarta.
- Christsetiani, R.F. 1995. Pengaruh Perbedaan Selang Waktu Pemberian Ekstrak Daun Api-Api (*Avicenta marina* Vierh) terhadap Gambaran Histologi Testis Mencit Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.25-26
- ✓ Dellman, H.D. dan E.M. Brown. 1992. Buku Teks Histologi Veteriner. Terjemahan : R. Hartono dan S.S. Juwono. Universitas Indonesia Jakarta. 451-461
- Evans, W.C. 1989. Pharmacognosy. Edisi 13th. Proc. Toronto. Sydney. Philadelphia 481-491
- ✓ Frandson, R.D. 1992. Anatomi Dan Fisiologi. Edisi 4. Terjemahan : B. Srigondo. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 774-779
- Fransworth, N.R., A.S. Bingel., G.A. Cordell., F.A. Grane and H.S. Fong. 1975. Potensial value of plant as source of new antifertility agen I J. Pharm Sci. 64 (4). 535-598
- ✓ Ganong, W.F. 1990. Fisiologi Kedokteran. Edisi 4. Terjemahan : A. Darma. EGC Penerbit Buku kedokteran. Jakarta. 373-379
- Ghosh and Scild, 1971. Fundamental of Experimental Pharmacology. Scientific Book Agency. Calcuta.
- Granner, P.K. 1987. Biokimia Harper. Terjemahan : I Darmawan. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 223-225

- ✓ Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia Edisi 2. Terjemahan : P. Kosasih. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 123-158
- ✓ Hardjopranto, S. 1995. Ilmu Kemajiran Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. 61-62
- Hariani, T.J. 1996. Pengaruh Ekstrak Rimpang Pancing (*Costus spiciosus* Koen) Terhadap Spermatogenesis Mencit. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 16-17
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia III, Cet III. Badan Litbang. Jakarta. 1385-1386
- ✓ Ismudiono, 1991. Binatangpun perlu ber-KB. Teknologi Tepat Guna. Jawa Pos. Oktober. 6
- Johnson, M. dan B. Everitt. 1988. Essential Reproduction, 3th.ED. Blackwell Scientific Publication. London. Edinburgh. Boston. 50-62
- Koralkovas, Takado, Fukushima and T. Sawada. 1981. Structure of Prospogenin Obtained from Saponin of *Gleditsia Japonica*. Phitochemistry.
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan Dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 53-94
- Lestari, P. 1987. Metode keluarga berencana untuk pria. Cermin Dunia Kedokteran. 17-18
- Mariatun. 1986. Pengaruh Supernatan Biji Saga (*Abrus Pucatorius* Linn) Terhadap Spermatogenesis Tikus. Thesis. Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya. 18-23
- Mulyani, H.D. 1992. Pengaruh Isolat Biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem) terhadap Spermatogenesis Mencit. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya. 43-45
- ✓ Nalbandov, A.V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 258-259
- Panjaitan, H. 1991. Pengaruh Fraksi Eter Biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem) Terhadap Kadar Testosteron Pada Serum *Rattus norvegicus*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya. 30-36
- ✓ Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. Jakarta. 25-42

- Poernomo, B.S. Widjiati, E.M. Luqman, M. Mafruchati dan D.M. Endang. 1998. Diktat Embriologi. Laboratorium Ilmu Mudigah. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 10-35
- Salisbury, G.W. dan N.L. Dermark. 1985. Fisiologi Dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan : R. Djanuar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 207-210.
- Setyabudi, G.. 1991. Pengaruh Ekstrak Buah *Avicennia marina* (Forsk) Vierh Pada Spermatogenesis Serta Gambaran Histologi Hati Dan Ginjal Mencit Dalam Upaya Pencarian Kontrasepsi Pria. Tesis. Universitas Airlangga. Surabaya. 48-49
- Soehadi, K. 1987. Mencari kontrasepsi pria dengan meneliti khasiat obat-obatan tradisional. Medika. 13-17
- Steenis, Van C.G.G.J. 1987. Flora Untuk Sekolah Di Indonesia. Pradnya Paramita. Jakarta. 405-407
- Sugati, S. dan Hutapea, J. 1991. Inventaris tanaman obat Indonesia I Departemen Kesehatan RI. 356-357
- Toelihere, M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Angkasa. Bandung. 9-11
- Tyler, V.E. 1976. Pharmacognosy, 7th. Lea Febiger. Philadelphia. 197-217
- Usman, S.A. 1982. Pemanfaatan Obat Tradisional Dalam Pelayanan Kesehatan Masyarakat. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. 12
- Whitingham, D.G dan M.J. Wood. 1983. ⁹²Reproduction and Phisiologi Ln. Foster, H.L.J.D. Smal and J.G. Fox the Mouse in Biomedical Research. Ed II Vol II Academic Press Linc. Boston. 453-457
- Wijayakusuma, H.M., S. Dalimartha, A.S. Wirian, Y. Thomas dan B. Wibowo. 1994. Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia. Jilid II. Pustaka Kartini. Jakarta. 30-31
- Yantini, A. 1989. Isolasi dan Identifikasi Sterol Dari Biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem). Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya. 21-32

Yeung, H.W. dan Chan W.Y. 1993. Antiproliferative and terotogenic activities from seed of *Luffa aegyptiaca*. Gen-Pharmacology. 24 (3) : 655

Yeung, H.W dan Chan, W.Y. 1994. Changes in ovulatory and steriogenesis responses in mice after administration of the ribosome inactivating protein luffacullin. Gen- Pharmacol. Jan 25 (1) : 19-21

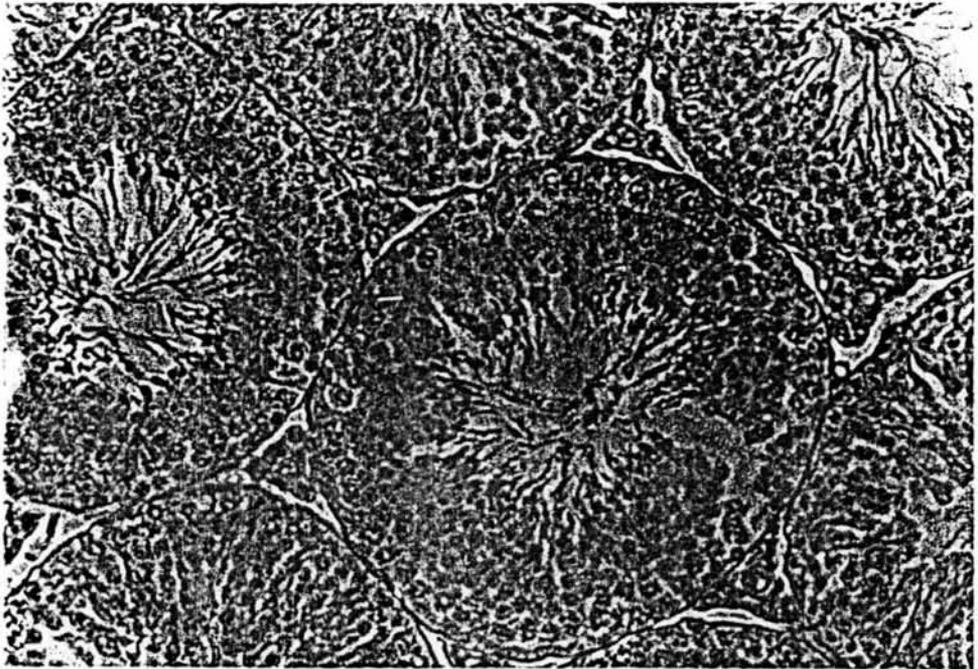


Keterangan : A = Spermatogonia

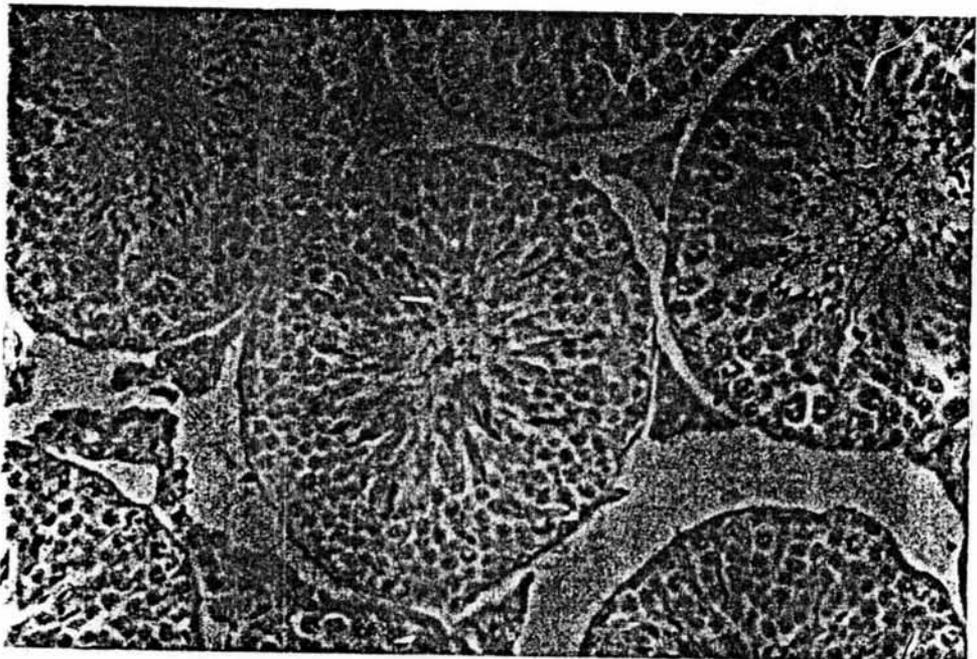
B = Spermatosit primer

C = Spermatozoa

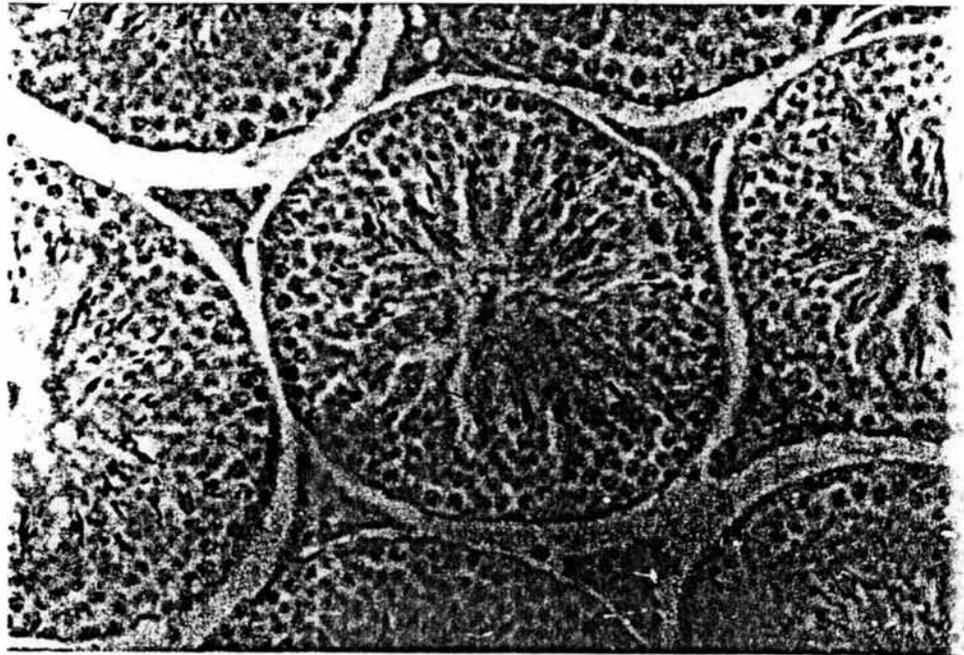
Gambar 4. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit, Pewarnaan HE, Pembesaran 400 X



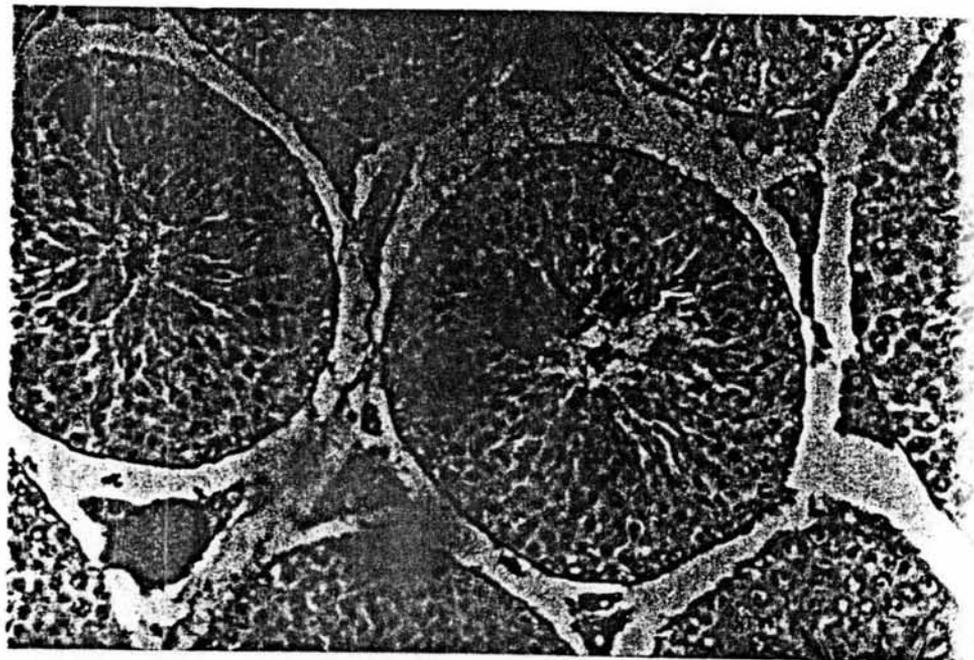
Gambar 5. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan Kontrol Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X



Gambar 6. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan I Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X



Gambar 7. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan II Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X



Gambar 8. Sel-sel Kelamin dari Irisan Melintang Testis Mencit Perlakuan II Pewarnaan HE, Pembesaran 100 X

Lampiran 1.**PEMBUATAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU**

Biji blustru kering didapat dari Desa Ngumber, Kecamatan Kepuh Baru, Kabupaten Bojonegoro. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Makanan Ternak, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pertama-tama biji blustru yang sudah kering digiling dengan penggiling Arthur H. Thomas, sehingga didapat bubuk yang halus. Bubuk biji blustru sebanyak 248,005 gram dibasahi dengan cairan penyari (alkohol 96 %) kurang lebih 500 cc kemudian mengaduk dan meratakan pembasahan sehingga seluruh bagian bubuk biji blustru benar-benar terbasahi. Bubuk biji blustru yang sudah dibasahi dipindahkan ke dalam alat Soxhlet. Selanjutnya menuangkan cairan penyari secukupnya hingga bahan terendam semua dan membiarkan selama 24 jam, setelah itu melakukan penampungan ekstrak cair dengan kecepatan konstan. Kemudian menambahkan pelarut bila bagian atas bahan alat Soxhlet sudah mulai tidak terendam lagi. Penampungan ekstrak cair dihentikan bila telah didapatkan sampai 80 % dari jumlah pelarut. Sisa di dalam alat Soxhlet diperas dengan kain flanel dan ditambahkan pada penampungan pertama. Kemudian menghitung jumlah ekstrak yang didapat.

Ekstrak cair disimpan dalam wadah tertutup selama dua hari. Pemekatan dilakukan dengan alat pemekat, selanjutnya dimasukkan ke dalam open-sampai didapatkan ekstrak kental. Setelah itu dimasukkan ke dalam *Waterbath*. Ekstrak inilah yang dibuat untuk penelitian (Anonimus, 1972 dalam Hariani, 1996).

Lampiran 2.

PENENTUAN DOSIS EKSTRAK

Pada Penelitian ini dosis yang digunakan berpatokan pada penggunaan biji blustru secara oral. Menurut Wijayakusuma (1994) orang biasanya menggunakan 5-10 gram blustru kering sebagai obat yang diminum. Kemudian dikonversikan dengan tabel. Konversi manusia ke mencit adalah 0,0026 (Gosh dan Scild, 1971).

Perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$= 10 \text{ gram} \times 0,0026$$

$$= 10.000 \text{ mg} \times 0,0026$$

$$= 26 \text{ mg}/20 \text{ gram berat badan mencit}$$

Dalam penelitian ini berat rata-rata mencit jantan yang digunakan adalah 28 gram maka dosis biji blustru kering untuk mencit tersebut adalah :

$$= \frac{28}{20} \times 26 \text{ mg}$$

$$= 0,036 \text{ mg}/28 \text{ gram berat badan mencit jantan}$$

Hasil ekstrak adalah 10,33 gram dari 265,63 gram biji blustru kering, maka perbandingan hasil ekstrak dengan berat bubuk biji blustru kering : 0,04.

Dosis untuk mencit berat badan 28 gram ialah :

$$= \frac{10,33}{265,63} \text{ gram} \times 0,036 \text{ gram}$$

$$= 0,0014 \text{ gram}/28 \text{ gram berat badan mencit}$$

$$= 1,4 \text{ mg}/28 \text{ gram berat badan mencit}$$

$$= 50 \text{ mg}/\text{kg berat badan mencit}$$

Dengan cara logaritma :

$$P_0 : \log 1 \times 50 \text{ mg/kg bb} = 0$$

$$P_I : \log 3 \times 50 \text{ mg/kg bb} = 25 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

$$P_{II} : \log 10 \times 50 \text{ mg/kg bb} = 50 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

$$P_{III} : \log 100 \times 50 \text{ mg/ kg bb} = 100 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

Jadi dosis yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$P_0 : 0 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

$$P_I : 25 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

$$P_{II} : 50 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

$$P_{III} : 100 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

Perhitungan Pemberian Ekstrak Tiap Hari

$$P_I : \text{dosis } 25 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

Ekstrak yang dibutuhkan untuk tujuh ulangan dalam satu kali perlakuan :

$$\frac{28}{1000} \times 25 \text{ mg} \times 7 = 4,9 \text{ mg ekstrak biji blustru}$$

CMC Na 0,5% (berarti 0,5 gram CMC Na dalam 100 ml akuades) yang dibutuhkan : $0,5 \times 7 = 2,1 \text{ ml CMC Na } 0,5\%$.

$$P_{II} : \text{dosis } 50 \text{ mg/ kg bb mencit}$$

Ekstrak yang dibutuhkan untuk tujuh ulangan dalam satu kali perlakuan :

$$\frac{28}{1000} \times 50 \text{ mg} \times 7 = 9,8 \text{ mg ekstrak biji blustru}$$

CMC Na 0,5% yang dibutuhkan : $0,3 \times 7 = 2,1 \text{ ml CMC Na } 0,5\%$.

PIII : dosis 100 mg/kg bb mencit

Ekstrak yang dibutuhkan untuk tujuh ulangan dalam satu kali perlakuan :

$$\frac{28}{1000} \times 100 \text{ mg} \times 7 = 19,6 \text{ mg ekstrak biji blustru}$$

CMC Na 0,5% yang dibutuhkan : $0,3 \times 7 = 2,1 \text{ ml CMC Na } 0,5\%$.

Lampiran 3. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus Mencit.

Ulangan	Jumlah Sel Spermatogonia			
	Kontrol	P _I	P _{II}	P _{III}
1	34,2	36,8	33,6	30
2	32,4	41,2	31,4	33,6
3	38	34,2	32,8	30
4	37,2	36	31,8	27
5	39,6	34	28,4	33
6	36,6	33,4	35,2	26,5
7	33,8	30,1	32,2	28
Σx	251,8	245,7	225,4	208,1
\bar{x}	35,9714	35,1	32,2	29,7286
SD	2,5753	3,4356	2,4000	2,7897

$$FK = \frac{y^2}{1 \times n} = \frac{(931)^2}{28} = 30955,75$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^7 \sum_{j=1}^4 y_{ij}^2 - FK \\ &= (34,2)^2 + (32,4)^2 + (38)^2 + \dots + (28)^2 - FK \\ &= 31304,65 - 30955,75 \\ &= 348,9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \sum_{i=1}^7 \frac{y_{i...}^2}{n} - FK \\ &= \frac{(251,8)^2 + (245,7)^2 + (225,4)^2 + (208,1)^2}{7} - FK \\ &= \frac{217882,5}{7} - FK \\ &= 31126,0714 - 30955,75 \\ &= 170,3214 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKS &= JKT - JKP \\
 &= 348,9 - 170,3214 \\
 &= 178,5786
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 KTP &= \frac{JKP}{t - 1} \\
 &= \frac{170,3214}{4 - 1} = 56,7738
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTS &= \frac{JKS}{t(n - 1)} \\
 &= \frac{170,3214}{4 - 1} = 56,7738
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F_{hit} &= \frac{KTP}{KTS} \\
 &= \frac{56,7738}{7,4408} = 8,1105
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	170,3214	56,7738	8,1105**	2,96	4,60
Sisa	24	178,5786	7,4408			
Total	27	348,9000				

$$F_{hitung} > F_{tabel}$$

Kesimpulan : Pemberian ekstrak biji Blustru memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatogonia dalam tubulus seminiferus testis mencit.

H_0 = ditolak

UJI BEDA NYATA TERKECIL (BNT 5%)

$$\text{BNT}(\alpha) = t(\alpha) (\text{db. sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \cdot KTS}{n}}$$

$$\text{BNT}(5\%) = t(5\%)(24) \times \sqrt{\frac{2 \cdot 7,4408}{n}}$$

$$= 2,064 \times \sqrt{2,1259}$$

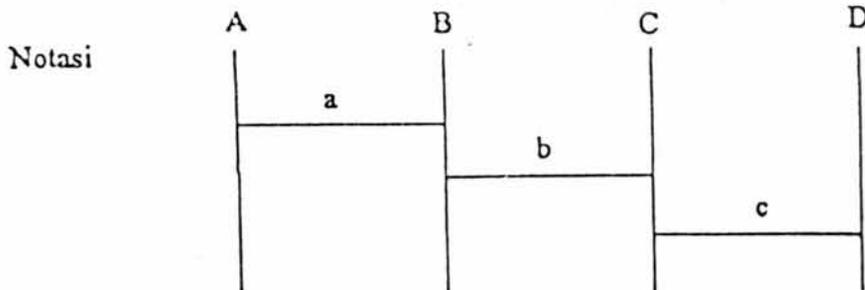
$$= 2,064 \times 1,4580$$

$$= 3,009$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perkakuan (\bar{x})	Beda (Selisih)			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (Po)	35,9142 ^a	6,1855 [*]	3,7142 [*]	0,8142	3,009
B (P _I)	35,1000 ^{ab}	5,3713 [*]	2,9		
C (P _{II})	32,2000 ^{bc}	2,4713 [*]			
D (P _{III})	29,7287 ^c				

* = berbeda nyata ($p \leq 0,05$)



- Kesimpulan : Perlakuan A menghasilkan jumlah spermatogonia terbanyak dibanding perlakuan lainnya meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Sedangkan perlakuan D menghasilkan spermatogonia paling sedikit dibanding lainnya meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan C.

Lampiran 4. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatisit Primer dalam Tubulus Seminiferus Testis Mencit

Nomor Mencit	Jumlah Sel Spermatisit Primer			
	Kontrol	P _I	P _{II}	P _{III}
1	44,8	41,6	39,4	32,8
2	45	48	33,4	33,2
3	50	47,6	39	30
4	41,4	37,8	37,2	36,8
5	40,8	39	39,4	33,4
6	47,5	41	41,2	27,2
7	43,4	41,2	30	37
Σx	312,9	296,2	259,6	230,4
\bar{x}	44,7	42,3143	37,0857	32,9143
SD	3,2614	3,9814	3,4945	3,4945

$$FK = \frac{y_{\dots}^2}{t \times n} = \frac{(1099,1)^2}{4 \times 7} = \frac{1208020,81}{28} = 43143,6004$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^7 \sum_{j=1}^4 y_{ij}^2 - FK \\ &= (44,8)^2 + (45)^2 + (50)^2 + \dots + (37)^2 - FK \\ &= 44058,33 - 43143,6004 \\ &= 914,7296 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \sum_{i=1}^4 \frac{y_{i\dots}^2}{n} - FK \\ &= \frac{(312,9)^2 + (296,2)^2 + (259,6)^2 + (230,4)^2}{7} - FK \\ &= 43731,0243 - 43143,6004 \\ &= 587,4239 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKS &= JKT - JKP \\
 &= 914,7296 - 587,4239 \\
 &= 327,3057
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 KTP &= \frac{JKP}{t - 1} \\
 &= \frac{587,4239}{4 - 1} = 195,8079
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTS &= \frac{JKS}{t(n - 1)} \\
 &= \frac{327,3057}{4(7 - 1)} = 13,6382
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F_{\text{hit}} &= \frac{KTP}{KTS} \\
 &= \frac{195,8079}{13,6382} = 14,3572
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	Db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	587,4239	195,8079	14,3573**	2,96	4,60
Sisa	24	327,3057	13,6382			
Total	27					

$$F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$$

Kesimpulan : Pemberian ekstrak biji Blustrus memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatisit dalam tubulus seminiferus testis mencit.

$H_0 =$ ditolak

UJI BEDA NYATA TERKECIL (BNT 5%)

$$BNT(\alpha) = t(\alpha) (db. \text{ sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \cdot KTS}{n}}$$

$$BNT(5\%) = t(5\%) (24) \times \sqrt{\frac{2 \cdot 13,6382}{7}}$$

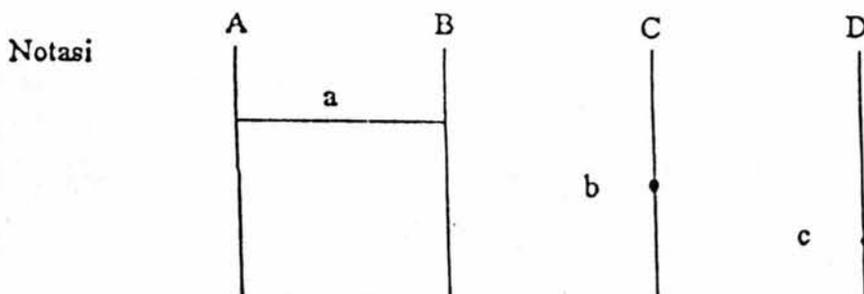
$$= 2,064 \times 1,9738$$

$$= 4,0743$$

Selish Rata-rata Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perkakuan (\bar{x})	Beda (Selisih)			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (Po)	44,7000 *	11,7857 *	7,6143 *	2,3857	4,0743
B (Pi)	42,3143 *	9,4 *	5,2286 *		
C (Pn)	37,0857 ^b	4,1714 *			
D (Piii)	32,9143 ^c				

* = berbeda nyata ($p \leq 0,05$)



- Kesimpulan : Perlakuan A menghasilkan jumlah sel spermatosit primer yang terbanyak meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Sedangkan perlakuan D menghasilkan jumlah sel spermatosit primer yang paling sedikit dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Lampiran 5. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatozoa Dalam Tubulus Seminiferus Testis Mencit

Nomor Mencit	Jumlah Sel Spermatozoa			
	Kontrol	P _I	P _{II}	P _{III}
1	35,6	34,2	29,5	24
2	31,6	29,6	26,2	25,2
3	29,6	31,4	25,5	23,3
4	34	29,4	22,8	22,3
5	33,4	31,4	26,2	18,8
6	28	34	29,5	20,3
7	41	33	24,3	20
Σx	233,2	223,2	184	153,9
\bar{x}	33,3143	31,8857	26,2857	21,9857
SD	4,2768	1,9489	2,4953	2,3505

$$FK = \frac{y_{...}^2}{t \times n} = \frac{(794,5)^2}{4 \times 7} = 22543,9375$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m y_{ij}^2 - FK \\ &= (35,6)^2 + (31,6)^2 + (29,6)^2 + \dots + (20)^2 - FK \\ &= 23322,27 - 22543,9375 \\ &= 778,3325 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \sum_{i=1}^4 \frac{y_{i...}^2}{n} - FK \\ &= \frac{(233,2)^2 + (223,2)^2 + (184)^2 + (153,9)^2}{7} - FK \\ &= 23118,7157 - 22543,9375 \\ &= 574,7782 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKS &= JKT - JKP \\
 &= 778,3325 - 574,7782 \\
 &= 203,5543
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengah dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 KTP &= \frac{JKP}{t - 1} \\
 &= \frac{574,7782}{4 - 1} = 191,5927
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KTS &= \frac{JKS}{t(n - 1)} \\
 &= \frac{203,5543}{4(7 - 1)} = 8,4814
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F_{hit} &= \frac{KTP}{KTS} \\
 &= \frac{191,5927}{8,4814} = 22,5897
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam

S.K	db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}	
					0.05	0,01
Perlakuan	3	574,7782	191,5927	22,5897**	2,96	4,60
Sisa	24	203,5543	8,4814			
Total	27					

$$F_{hitung} > F_{tabel}$$

Kesimpulan: Pemberian ekstrak biji Blustru memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatozoa dalam tubulus seminiferus testis mencit.

$H_0 =$ ditolak

UJI BEDA NYATA TERKECIL (BNT 5%)

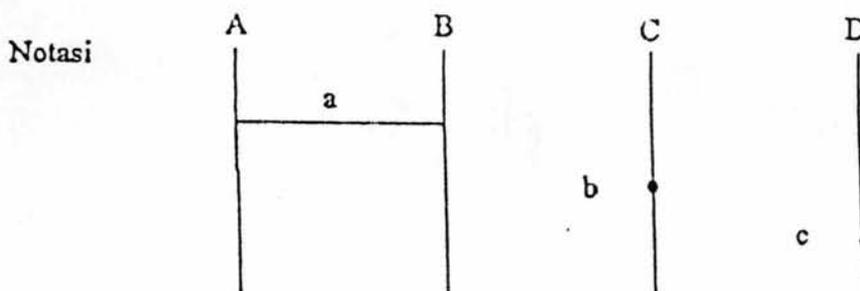
$$BNT(\alpha) = +(\alpha)(db. \text{ sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \cdot KTS}{n}}$$

$$\begin{aligned} BNT(5\%) &= +(5\%)(24) \times \sqrt{\frac{2 \cdot 8,4814}{7}} \\ &= 2,064 \times 1,5567 \\ &= 3,2129 \end{aligned}$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Perkakuan (\bar{x})	Beda (Selisih)			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (Po)	33,3143 ^a	11,7857 [*]	7,6143 [*]	2,3857	4,0743
B (Pi)	31,9143 ^a	9,4 [*]	5,2286 [*]		
C (Pii)	26,2857 ^b	4,1714 [*]			
D (Piii)	21,9857 ^c				

^{*} = berbeda nyata ($p \leq 0,05$)



- Kesimpulan : Perlakuan A menghasilkan jumlah sel spermatozoa yang terbanyak dibanding lainnya meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Sedangkan jumlah sel spermatozoa paling sedikit dihasilkan pada perlakuan D yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Lampiran 6.

PEMBUATAN SEDLAAN HISTOLOGIS TESTES

Pembuatan sediaan histologis dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut :

a. Fiksasi dan Pencucian

Tujuan : Mematikan kuman dan bakteri.

Menjadikan jaringan lebih keras sehingga menjadi lebih mudah dipotong.

Reagen : Larutan Bouin

Cara Kerja : Setelah kedua testis diambil, dimasukkan dalam larutan Bouin sekurang-kurangnya 24 jam dan kemudian dilakukan pencucian dengan air kran yang mengalir selama setengah jam.

b. Dehidrasi dan Clearing

Tujuan : Untuk menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan

Reagen : Alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, Xylol I dan Xylol II

Cara Kerja : testis yang telah dicuci dengan air kran selama setengah Jam. Dimasukkan ke dalam reagen dengan urutan alkohol

70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan xylol II masing- masing setengah jam.

c. Infiltrasi (embeding)

Tujuan : Untuk memfiltrasi jaringan dengan parafin akan menembus Ruangan antar sel dan dalam sel sehingga lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : Parafin I dan parafin II

Cara kerja : Jaringan dimasukkan dalam parafin I yang mencair, kemudian dimasukkan dalam oven selama setengah jam selanjutnya dimasukkan dalam parafin II dan oven selama setengah jam pada suhu 60°C.

d. Pembuatan Balok Parafin

Tujuan : Supaya jaringan mudah dipotong

Reagen : parafin cair

Cara Kerja : Beberapa cetakan besi yang sebelumnya diolesi gliserin dengan maksud untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan, kemudian testis dimasukan dengan pinset ke dalam cetakan dan menunggu sampai parafin membeku.

e. Pengirisan dengan Mikrotom

Tujuan : Untuk memotong jaringan setipis mungkin agar dilihat di bawah mikroskop.

Alat : Mikrotom

Cara kerja : Organ yang telah diblocking, diletakkan pada holder, kemudian di potong dengan mikrotom setebal 5-7 mikron diambil dan dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 20 °C sampai 30 °C agar jaringan mudah mengembang dengan baik, selanjutnya pada gelas obyek yang sebelumnya telah diolesi egg albumin, kemudian di keringkan diatas hot plate.

f. Pewarnaan

Tujuan : Memudahkan melihat perubahan jaringan. Digunakan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE). Dengan pewarnaan HE dapat dilihat dengan jelas bentuk-bentuk masing-masing selnya, sitoplasma berwarna merah sedangkan intinya berwarna biru.

Cara Kerja : Pewarnaan HE dilakukan dengan metode Harris, dengan cara sebagai berikut :

- jaringan yang telah kering dimasukkan ke dalam xylol I, selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, kemudian alkohol absolut I dan II,

alkohol 96%, 80%, 70%, dan air kran masing-masing satu menit. Selanjutnya organ dimasukkan kedalam zat warna Hematoxylin selama 5-10 menit, air kran 2-5 menit, asam alkohol 3-10 celupan, air kran 4-7 celupan, amoniak enam celupan, air kran 10 menit, aquades secukupnya, zat warna eosin selama 15 detik, kemudian dimasukkan lagi ke dalam aquades. Selanjutnya dimasukkan dalam alkohol 70%, 80%, masing-masing selama 30 detik, alkohol 96%, alkohol absolut I dan II selama 1 menit, yang terakhir dimasukkan xylol I dan II masing-masing selama 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Mounting

Cara Kerja : Penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi Canada Balsem.