

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI GEMBILI
(*Dioscorea esculenta (Lour) Burk*) PADA UMUR YANG
BERBEDA TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN HISTOLOGI
TESTIS MENCIT JANTAN**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh:

MARWANTO

069412090

Menyetujui
Komisi pembimbing



Sulistyaningwati G. Drh.
Pembimbing I



Desianto B. Utomo Ph. D., 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.

Mengetahui

Panitia Penguji



Suherni Susilowati, M.Si., Drh.
Ketua



Drh. Hani Plumerastuti, M.Kes.
Sekertaris



Anwar Ma'ruf, M.Kes., Drh.
Anggota

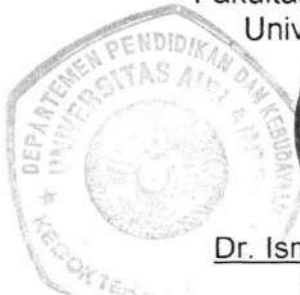


Sulistyaningwati G, Drh.
Anggota



Desianto B. Utomo, Ph.D., Drh.
Anggota

Surabaya, 30 Desember 1999
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga



Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., Drh.
(130687297)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya, sehingga penyusunan makalah ini dapat terselesaikan.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Ibu Sulistianingwati G. Drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Desianto B. Utomo Ph.D., Drh selaku pembimbing ke dua yang selalu bersedia memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan makalah ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan dan seluruh staf pengajar yang telah membimbing serta mendidik penulis untuk dapat menyelesaikan studi ini.

Tak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada Kepala dan staf laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi, Patologi dan Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan, sarana dan bimbingan yang diberikan selama penelitian.

Kepada ayah dan ibu tercinta, serta kepada adikku rasa terima kasih yang tak terhingga penulis ucapkan atas dorongan semangat dan doa restunya yang telah diberikan selama ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya.

Akhirnya penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari sempurna. Semoga hasil yang di tuangkan dalam makalah ini dapat bermanfaat bagi mereka yang memerlukannya.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Landasan Teori.....	3
1.3 Perumusan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Hipotesis Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Umbi Gembili (<i>Dioscorean escolenta (Lour) Burk</i>)	6
2.2 Kegunaan	8
2.3 Anatomi dan Fisilogi Reproduksi Mencit Jantan	9
2.3.1 Anatomi Reproduksi Mencit Jantan	9
2.3.2 Histologi Testis	12
2.3.3 Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan	16
2.4 Spermatogenesis	18

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Berat Testis Mencit (mg)	30
2.	Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus	31
3.	Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatisit Primer dalam Tubulus Seminiferus	32
4.	Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatid dalam Tubulus Seminiferus	33
5.	Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus	34

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Gambaran Skematis Sistem Tubuler Testis	9
2.	Sayatan Melintang Testis.....	11
3.	Diagram skematik Peranan Hormon Reproduksi pada Hewan Jantan.....	17
4.	Mekanisme Proses Spermatogenesis	21
5.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Kontrol (k), Pewarnaan HE, Pembesaran 100x	48
6.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Kontrol (k), Pewarnaan HE, Pembesaran 400x	48
7.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Perlakuan (1), Pewarnaan HE, Pembesaran 100x	49
8.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Perlakuan(1), Pewarnaan HE, Pembesaran 400x	49
9.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Perlakuan (2), Pewarnaan HE, Pembesaran 100x	50
10.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Perlakuan (2), Pewarnaan HE, Pembesaran 400x	50
11.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Perlakuan (3), Pewarnaan HE, Pembesaran 100x	51
12.	Gambaran Histologi Testis pada Kelompok Perlakuan (3), Pewarnaan HE, Pembesaran 400x	51

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Evaluasi Statistik Berat Testis Mencit (kanan dan kiri)	53
2. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus	55
3. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatisit primer dalam Tubulus Seminiferus	59
4. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatid dalam Tubulus Seminiferus	63
5. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatoza dalam Tubulus Seminiferus	67
6. Pembuatan Sediaan Histologi Testis	71

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK UMBI GEMBILI (*Dioscorea esculenta* (LOUR) BURK) PADA UMUR YANG BERBEDA TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN HISTOLOGI TESTIS MENCIT JANTAN

MARWANTO

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi gembili (*Dioscorea esculenta* (Lour) Burk) secara oral terhadap berat dan gambaran histologi testis mencit.

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit jantan yang berumur 21 hari (belum dewasa kelamin) dengan berat badan sekitar 18-20 gram. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kelompok perlakuan dan enam ulangan. Data dianalisis dengan menggunakan Analisa Varians (ANOVA) yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil. Empat kelompok perlakuan tersebut adalah: pemberian air PDAM secara *ad libitum* sebagai Kontrol (K), ekstrak umbi gembili dengan dosis 3,3 mg/g BB yang disuspensikan ke dalam 0,2 ml akuades diberikan secara oral dengan menggunakan sonde pada umur 21 hari sampai umur 35 hari (belum dewasa kelamin) sebagai kelompok Perlakuan 1, umur 35 hari sampai 70 hari (umur dewasa kelamin) sebagai kelompok Perlakuan 2, dan umur 21 hari sampai umur 70 hari sebagai kelompok Perlakuan 3.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak umbi gembili pada mencit jantan tidak mempengaruhi berat testis ($p > 0,05$), tetapi secara nyata ($p < 0,01$) menurunkan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid, dan spermatozoa pada kelompok Perlakuan 2 dan kelompok Perlakuan 3 bila dibandingkan dengan kelompok Kontrol dan kelompok Perlakuan 1. Kelompok Kontrol dengan kelompok Perlakuan 1 dan kelompok Perlakuan 2 dengan kelompok Perlakuan 3 masing-masing tidak berbeda nyata.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Masyarakat Indonesia sekarang ini telah banyak mengenal berbagai macam metode kontrasepsi. Banyak penelitian-penelitian yang telah dikembangkan untuk mendapatkan bahan yang ideal guna menyediakan bahan baku obat kontrasepsi. Dalam dunia kedokteran hewan, penggunaan kontrasepsi pada hewan lebih sering dimaksudkan untuk membuat hewan menjadi steril (mandul). Sterilisasi pada hewan rumah tangga dan hewan liar seperti anjing dan kucing kampung dimaksudkan untuk mengontrol pertumbuhan populasi hewan-hewan tersebut dalam suatu lingkungan. Sterilisasi atau pemandulan pada hewan jantan cukup banyak metodenya. Metode-metode tersebut meliputi sterilisasi dengan pembedahan dan sterilisasi tanpa pembedahan. Sterilisasi dengan pembedahan dapat dilakukan dengan cara vasektomi atau kastrasi, sedangkan sterilisasi tanpa pembedahan yang sekarang banyak digunakan adalah penggunaan preparat hormon, seperti *Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) agonist* pada domba (Linkoln *et al.*, 1986).

Bahan baku kontrasepsi oral yang berbentuk senyawa-senyawa steroid untuk produksi tablet KB (Keluarga Berencana) dapat berasal dari tumbuhan dan hewan (Anonimus, 1981). Pada umumnya bahan kontrasepsi oral terdiri dari derivat hormon steroid estrogen dan progesteron. Hormon steroid ini dapat dibuat secara semi sintesis dari sapogenin steroid. Sapogenin steroid merupakan suatu senyawa yang bersifat seperti sabun, larut dalam air, mudah membentuk buih dan dapat digunakan sebagai bahan dasar industri pada produksi hormon seks, berasal dari kolesterol tumbuhan (fitosterol) yang umumnya terdapat pada ordo Liliales. Sapogenin steroid yang digunakan untuk pembuatan hormon steroid pada umumnya adalah: diosgenin, hekogenin, sarsapogenin, samentogenin dan alkaloid steroid solasodin (Tarigan, 1980).

Para ahli peneliti di Amerika telah mengadakan penelitian terhadap kandungan diosgenin dari 400 jenis tanaman tumbuhan. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan kandungan tertinggi diosgenin terdapat pada *Dioscorea compasita* dan *Dioscorea macrostachya* yang terdapat di Meksiko (Deorge, 1982). Di Indonesia, penelitian terhadap kandungan diosgenin dari beberapa macam *Dioscorea sp.* yang dilakukan oleh Windono (1979), Yuniarti (1982), Sasongko (1992), menemukan bahwa kandungan diosgenin tertinggi terdapat pada *Dioscorea esculenta*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa diosgenin berasal dari kolesterol. Sumber kolesterol ini dapat berasal dari

tumbuh-tumbuhan dan hewan. Sumber kolesterol yang berasal dari tumbuh-tumbuhan tersebut disebut fitosterol. Umbi gembili (*Dioscorea esculenta* (Lour) Burk) mengandung saponin steroid yang tersusun atas sapogenin steroid sebagai aglukon (bagian yang tidak bergula) dan gugusan gula. Sapogenin steroid mempunyai kerangka karbon yang termasuk ke dalam golongan kolesterol. Melalui hidrolisis asam sapogenin steroid terpecah menjadi diosgenin bebas dan gula (Manitto, 1981). Menurut Marker yang dikutip oleh Deorge (1982) dengan cara menguraikan rantai samping pada diosgenin dapat menghasilkan progesteron.

Pada tahun 1950-an jenis hormon progesteron ini telah dapat dibuat secara sintesis dari diosgenin melalui metode degradasi oleh para ahli kimia dari Amerika Utara dan Eropa (Doerge, 1982). Hormon steroid ini dapat menyebabkan perubahan sistem hormonal yang akan menginduksi terjadinya mekanisme umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus–hipofisis anterior untuk menghambat frekuensi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormon*) terhadap sekresi LH (*Luteinizing Hormon*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormon*) (Heftman, 1970; Hardman, 1975).

1.2. Landasan Teori

Diosgenin menyebabkan perubahan keseimbangan hormonal yang akan mempengaruhi integritas kerja antara hipotalamus, hipofisis anterior dan testis. Melalui mekanisme umpan balik negatif lewat hipotalamus akan

terjadi penurunan FSH-RH (Follicle Stimulating Hormon-Releasing Hormon), kemudian akan berpengaruh pada penurunan sekresi FSH dan LH dari hipofisis anterior. Akibatnya pada testis akan terjadi hambatan perkembangan spermatogenesis (Hardman, 1975).

Diosgenin yang terdapat dalam ekstrak umbi gembili berhasil dibuktikan mempunyai efek terhadap perpanjangan siklus birahi pada mencit betina dengan melihat fase-fase siklus birahi melalui scraping vagina. Adanya gangguan siklus birahi ini berarti terjadi gangguan keseimbangan hormonal sehingga dapat menurunkan fertilitas (Rosidah, 1991).

Berdasarkan latar belakang diatas penulis hendak membuktikan bahwa adanya diosgenin dalam umbi gembili dapat memberikan pengaruh pada penurunan berat testis dan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid dan spermatozoa pada mencit jantan.

1.3. Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak umbi gembili dapat menurunkan berat testis pada mencit jantan ?
2. Apakah ekstrak umbi gembili dapat menurunkan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid, dan spermatozoa pada mencit jantan ?

1.4. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak umbi gembili terhadap berat testis dan jumlah sel kelamin dengan melihat perubahan gambaran histologi testis mencit.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih jauh tentang khasiat umbi gembili sebagai bahan dasar produksi hormon reproduksi.

1.6. Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak umbi gembili secara oral dapat menurunkan berat testis mencit.
2. Pemberian ekstrak umbi gembili secara oral dapat menurunkan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid dan spermatozoa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* (Lour) Burk)

Menurut Lingga, dkk (1993) tanaman umbi gembili mempunyai sistematika seperti berikut :

Devis : Spermatophyta

Sub Devisi : Angiospermae

Klas : Monocotyledonae

Ordo : Liliales

Famili : Dioscoreaceae

Genus : Dioscorea

Species : *Dioscorea esculenta* (Lour) Burk.

Di beberapa daerah di Indonesia tanaman umbi gembili dikenal dengan beberapa nama, antara lain Gembili (Melayu, Jawa); Kapugu (Menado); Ubisung (Jakarta); Huwi Butul (Sunda); Kaburah (Madura).

Umbi gembili merupakan tanaman berbentuk perdu memanjang yang dapat mencapai tinggi 3-5 meter dengan batang bulat, berbulu halus dan berduri tersebar diseluruh batang, daunnya berbentuk seperti ginjal. Umbi yang kecil disebut gembili dan yang besar disebut gembolo dengan jumlah banyak berbentuk bulat sampai panjang. Bagian luar umbi berwarna kuning dan dagingnya berwarna putih sampai kekuningan. Akar kecil dan tajam serta

sangat berduri, bunganya tersusun dalam bulir yang berwarna hijau kekuningan (Lingga dkk., 1993).

Jenis umbi-umbian ini berasal dari Indocina kemudian menyebar ke Asia Tenggara, Madagaskar, India Utara dan New Guinea. Jenis tersebut dapat tumbuh pada tanah datar hingga ketinggian 900 meter di atas permukaan air laut. Kebutuhan curah hujan antara 875 mm sampai 1000 mm setiap tahun (Anonimus, 1977).

Umbinya bila telah direbus enak rasanya, agak lekat-lekat seperti ketan dan rasanya manis. Di beberapa daerah dapat digunakan sebagai makanan pokok pengganti beras. Di Afrika Barat umbinya dipakai sebagai bahan industri pati dan alkohol (Anonimus, 1977).

Pada musim kemarau umbi mengalami masa istirahat (tidak mengalami pertumbuhan) selama 1-6 bulan, menjelang musim hujan akan bertunas kembali. Umbi yang telah bertunas inilah yang digunakan sebagai bibit. Selain dengan umbinya, perbanyakan dapat pula dilakukan dengan stek batang. Umbinya dapat dipanen pada umur 8-9 bulan setelah masa tanam (Anonimus, 1977).

Gembili mengandung zat yang bervariasi tergantung pada spesiesnya. Umbi mengandung air dalam jumlah 60%-80% dan sifatnya berupa substansi padat, karbohidrat 23%, protein 2%, sejumlah vitamin B, vitamin C dan karoten. Umbi juga mengandung senyawa-senyawa saponin steroid, sterol-sterol, tanin, trigliserida dan komponen-komponen asam fenolat (kuerstin,

asam komfeat, asam kumarat, asam sinapat, asam ferulat dan sebagainya) (Lily and Perry, 1980).

2.2. Kegunaan

Tanaman ini diambil umbinya untuk dijadikan bermacam-macam makanan. Tanaman umbi gembili juga untuk campuran obat-obat tradisional. Sebagai campuran obat tradisional, tanaman gembili mempunyai bermacam-macam khasiat misalnya untuk mengobati bengkak, terutama didaerah tenggorokan dan payudara. (Anonimus, 1977).

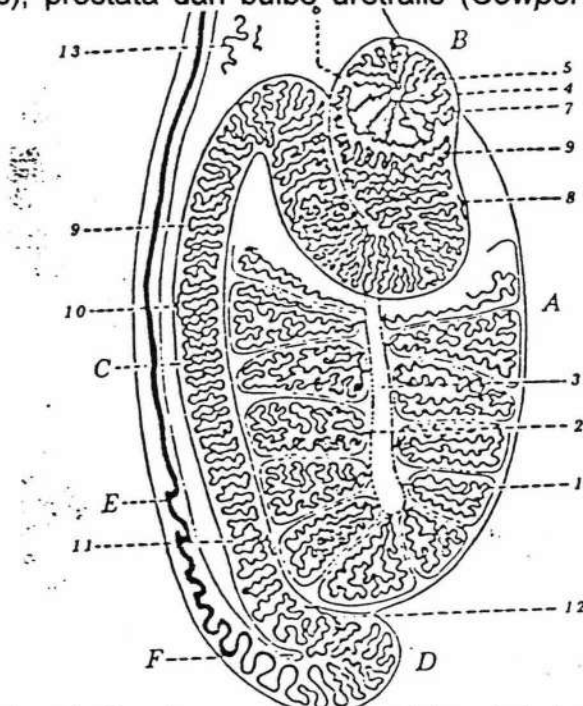
Dekok (pangkal umbi) digunakan sebagai diuretika dan pengobatan reumatik, untuk pengobatan beri-beri, dapat juga untuk mengobati koreng, dan luka-luka. Kegunaan lain dapat dimanfaatkan untuk campuran racun ikan, karena sifatnya yang hemolitik, sedang bila melalui pencernaan tidak beracun.

Ekstrak umbi gembili juga telah dibuktikan dapat menurunkan fertilitas pada mencit jantan, dengan cara melihat jumlah anak yang dihasilkan dari mencit betina dikawinkan dengan mencit jantan yang diberi perlakuan dengan ekstrak umbi gembili (Kurniawati, 1999).

2.3. Anatomi dan Fisiologi Mencit Jantan

2.3.1. Anatomi Reproduksi Mencit Jantan

Alat kelamin jantan dibagi menjadi alat kelamin primer berupa testis, dan alat kelamin sekunder berbentuk saluran-saluran yang menghubungkan testis dengan dunia luar. Saluran-saluran tersebut yaitu tubulus rektus, rete testis, vas eferens, epididimis, vas deferens, duktus ejakulatorius dan penis yang didalamnya terdapat uretra, digunakan untuk menyalurkan air mani dan cairan asesoris pada saat ejakulasi. Saluran reproduksi ini dilengkapi dengan kelenjar-kelenjar asesoris yang terdiri atas kelenjar seminalis (vesikularis), prostata dan bulbo uretralis (*Cowper's gland*) (Hardjopranjoto, 1995).



Gambar 1. Gambaran skematis sistem tubuler testis (Toelihere, 1981).

Keterangan :

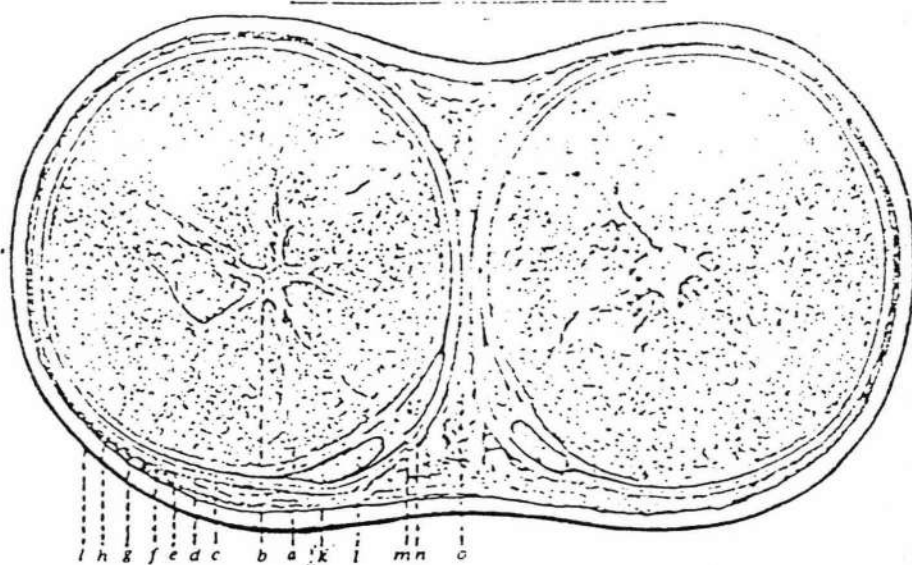
A, Testis; B, caput epididymidis; C, corpus epididymidis; D, cauda epididymidis; E, Vas deferens; F, tempat ligamentum testis. 1) Lobuli dengan tubuli seminiferi; 2) tubulus rektus; 3-4) rete testis; 5) ductus eferentes; 9) ductus epididymidis; 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13) saluran buntu dan rudimen ductus dari mana terjadi pembentukan cyste.

Testis sebagai organ reproduksi primer, pada mamalia terdapat sepasang dan bentuknya bulat telur atau lonjong (Partodiharjo, 1980). Testis dapat menggantung di dalam kantung skrotum secara bebas dengan bantuan korda spermatika yang didalamnya terdapat duktus deferens, pembuluh darah dan saraf. Pada keadaan normal, kedua testis sama besar, mempunyai konsistensi kenyal tetapi tidak keras dan dapat dengan bebas bergerak ke atas dan ke bawah skrotum.

Pada golongan hewan omnivora, carnivora dan primata testis secara permanen menetap didalam kantong skrotum. Sedangkan pada golongan rodensia testis dapat dengan mudah berpindah-pindah dari dalam kantong skrotum kedalam rongga perut. Hal ini terjadi pada musim kawin dimana testis berada didalam kantong skrotum (Hafez, 1970; Hardjopranjoto, 1981). Pada golongan burung dan sebagian mamalia (misalnya gajah dan mamalia laut), testis terletak didalam rongga badan sebelah depan dari ginjal. Sebagai alat penggantungnya ke bagian dorsal dari rongga badan adalah mesorchium. Walaupun testis berada dalam rongga badan, tetapi proses spermatogenesis berjalan secara normal (Hardjopranjoto, 1981).

Bentuk, berat, ukuran dan lokasi testis sangat bervariasi tergantung dari spesies hewan. Sedangkan pada berat dan ukuran banyak dipengaruhi oleh umur, berat badan, dan bangsa hewan (Toelihere, 1981; Salisbury, 1985). Skrotum yang membungkus testis terdiri dari beberapa lapisan. Dari luar, lapisan pertama adalah kulit yang dilapisi bulu-bulu dan kelenjar keringat

didalamnya. Lapisan kedua adalah tunika dartos yang terletak sangat rapat dengan kulit kecuali pada bagian dorsal dari kantong skrotum. Lapisan ketiga adalah tunika vaginalis yang mempunyai pelebaran sampai ke peritonium dari rongga perut. Tunika vaginalis mempunyai dua lapisan yaitu lapisan viseralis yang membungkus testis dan epididimis, dan lapisan perietal yang bersatu dengan rongga skrotum. Tunika vaginalis lapisan viseral merupakan lapisan terdalam dari scrotum, sehingga lapisan ini dimasukkan bagian dari testis (Hardjopranto, 1981).



Gambar 2. Sayatan melintang testis (Toelihere, 1981).

Keterangan : a) Testis; b) mediastenum; c) tunika albugenia; d) cavum peritonea; e) tunika vaginalis komunis; f) jaringan ikat longgar; g) tunika dartos; h) corium; l) epidermis; k) saccus epididymidis; l) corpus epididymidis; m) lipatan peritonal; n) vas deferens o) septum scroti

Skrotum dengan otot, jaringan ikat dan kulit luarnya menunjang melindungi testis dan mempertahankan suhu lebih rendah dari suhu tubuh yang diperlukan untuk pembentukan sperma secara aktif (kurang lebih 7° F dibawah suhu tubuh). Hal ini dilakukan oleh selaput yang ada di skrotum yang disebut tunika dartos, bila keadaan sekeliling panas ia akan mengendor, bila keadaan dingin ia akan mengkerut (Breazile, 1971).

Menurut Toelihere (1981), berat tiap testis pada sapi berkisar antara 300-500 gram, domba dan kambing antara 250-300 gram, babi antara 350-400 gram, kuda antara 200-400 gram dan pada tikus besar antara 5-7 gram.

2.3.2. Histologi Testis

Testis tergantung di dalam skrotum dan dibungkus oleh tiga lapisan yaitu lapisan terluar tunika vaginalis, lapisan tengah tunika albugenia, dan lapisan terdalam tunika vaskulosa. Bila testis diangkat dari skrotum lapisan perietal tunika vaginalis tetap melekat pada skrotum, sedangkan lapisan viseral yang membalut testis dan epididimis tetap bertaut erat pada kapsula testis (Dellmann and Brown, 1992). Tunika vaginalis merupakan selapis sel mesotel gepeng, seringkali rusak pada pembuatan preparat, terletak di atas lamina basalis.

Tunika albugenia merupakan lapisan tebal, terdiri atas jaringan ikat padat fibroelastis dan sejumlah sel otot polos. Lapisan terdalam adalah tunika

vaskulosa yang terdiri atas jala-jala kapiler darah dalam jaringan ikat (Leeson and Leeson, 1994).

Lapisan tunika albugenia mengalami penebalan dibagian posterior yang disebut mediastenum testis. Dari mediastenum ini dilepaskan sekat-sekat berupa selaput tipis yang disebut septula testis. Septula testis ini sangat keras dan mengelilingi mediastenum sampai ke tunika albugenia, membagi permukaan dalam testis menjadi 250-270 bagian berbentuk piramid yang disebut lobuli testis. Masing-masing lobulus terdiri dari 1-4 gulungan yang sangat panjang disebut tubulus seminiferus. Puncak dari masing-masing tubulus seminiferus melewati tubuli recti, yang merupakan bagian dari sistem duktus ekskretorius, kemudian membelok dan masuk ke rete testis (Junquiera dan Cameiro, 1988).

Pada potongan melintang dari testis, maka yang tampak adalah bentukan tubulus yang banyak sekali. Dinding yang ada pada tubulus seminiferus terdiri dari tiga lapisan yaitu dari luar kedalam berupa jaringan ikat fibroelastis, lamina basalis dan lapisan epithelium. Lapisan tunika propia fibrosa dalam lumen tubulus seminiferus pada hewan berfungsi sebagai alat transport sel mani dari tubulus ke epididimis dengan jalan berkontraksi, sehingga sel mani bisa keluar. Pada epithelium terdiri dari dua jenis sel yaitu sel sertoli (penyokong) yang fungsinya memberi makan pada sel mani dan sel germinatif atau sel spermatogenik (Copenhaver, dkk., 1978).

Sel sertoli adalah sel kolumner panjang, dengan bagian dasarnya duduk pada lamina basalis tubulus, sisi-sisinya jelas, bentuk tidak teratur dengan memperlihatkan lembah-lembah dan lubang-lubang, yang justru cocok sebagai tempat-tempat perlekatan sel-sel spermatogenik yang terdapat disekitarnya. Sel sertoli mempunyai peranan untuk memberi makanan kepada sel spermatogenik. Selain bersifat fagosit karena memakan sel spermatogenik yang mati atau mengalami degenerasi. Sel sertoli jumlahnya tidak banyak, terpecah sepanjang tubulus seminiferus dan terdapat di antara sel-sel spermatogenik (Leeson and Leeson, 1994).

Sel spermatogenik terdiri dari: spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid, dan spermatozoa. Menurut Jungueira, (1988) spermatogonia terletak dekat dengan lamina basalis, merupakan sel yang relatif kecil, inti spermatogonia membentuk kelompok-kelompok kasar.

Sel spermatogonia ada dua tipe yaitu spermatogonia tipe A dan spermatogonia tipe B. Spermatogonia tipe A yang selalu membagi diri dengan pembelahan mitosis menjadi dua sel yaitu spermatogonia dormant (tipe A) dan spermatogonia tipe B. Spermatogonia tipe B aktif membagi diri secara mitosis membentuk dua sel spermatosit primer (Hardjopranjoto, 1981). Menurut gambaran inti selnya spermatogonia tipe A inti selnya lonjong, berwarna gelap atau pucat, sedangkan pada spermatogonia tipe B mempunyai inti bulat, kromatin padat yang berhubungan dengan membran inti.

Spermatisit primer merupakan sel benih terbesar yang terdapat dalam tubulus seminiferus, ketika terbentuk pertama kali sel tersebut diruang basal tubulus seminiferus, kemudian pindah menuju ke tengah lumen tubulus seminiferus. Selnya berbentuk bulat atau bulat telur dan inti selnya biasanya ada dalam salah satu tingkat profase (Leeson and Leeson, 1994).

Spermatisit sekunder merupakan sel hasil pembelahan dari spermatisit primer yang bentuk sel-selnya lebih kecil, biasanya sukar ditemukan dalam potongan testis karena dalam tahap interfase yang sangat singkat dan cepat. Spermatisit sekunder ini merupakan sel yang singkat hidupnya (Junqueira, 1980).

Spermatid adalah sel hasil pembelahan dari spermatisit sekunder. Mempunyai ukuran yang kecil, inti dengan daerah kromatin yang padat, letak dekat bagian tengah tubulus seminiferus (Junqueira, 1980). Inti dari spermatid berada dibagian anterior sel, benda-benda golgi berkumpul di kutub inti bagian anterior lalu memipih dan membentuk mantel dibagian kutub. Vakuola-vakuola antara mantel dan kutub inilah yang akhirnya akan membentuk akrosom (Salisbury, 1985).

Spermatozoa memiliki dua bagian yang utama, yakni kepala dan ekor. Bagian ekor dapat dibagi atas leher, badan, ekor utama dan ujung ekor (Dellman and Brown, 1992). Spermatozoa merupakan suatu sel kecil dan sangat khas, yang tidak tumbuh dan membagi diri. Sel ini mempunyai kepala yang mengandung inti memadat dan tudung kepala. Di dalam intinya

mengandung kromosom, dimana dalam tiap-tiap kromosom mengandung gen-gen yang membawa sifat (Bloom dan Fawcett, 1970).

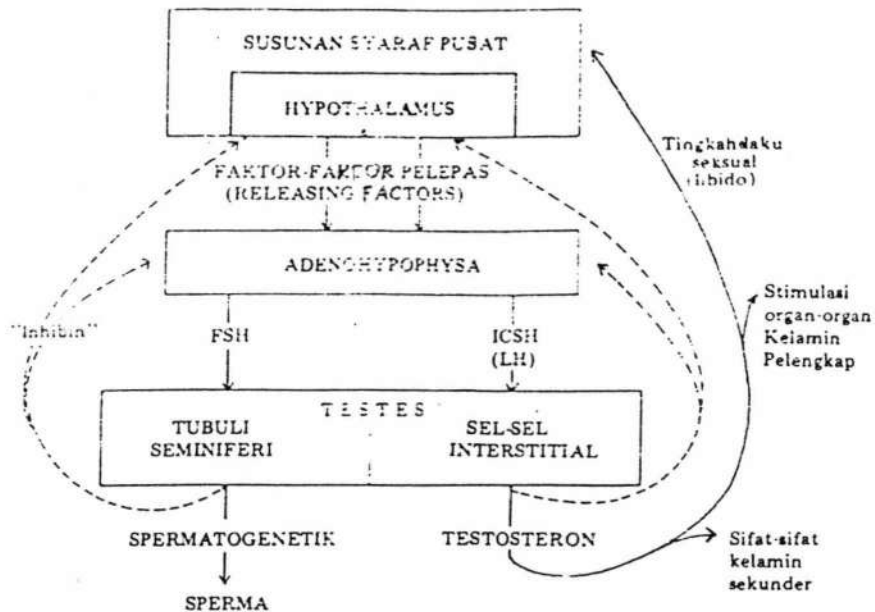
Ruangan diantara tubulus seminiferus dalam testis (ruang interstitial) terisi oleh jaringan ikat, kapiler-kapiler darah dan jala-jala pembuluh limfe. Jaringan ikat yang mengisi sekitar tubulus seminiferus disebut tunika vaskulosa. Jaringan ikat ini adalah jaringan interstitial, yang terdiri dari berbagai jenis sel seperti sel fibroblas, sel mesenkim, makropag dan sel interstitial yang disebut sel Leydig. Sel Leydig ini merupakan sel yang berbentuk bulat atau poligonal dan berinti ditengah serta sitoplasma eosinofil yang banyak mengandung butir-butir lemak (Junqueira, dkk., 1988).

2.3.3. Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan

Hormon utama yang mengatur fungsi testis adalah hormon gonadotropin, dihasilkan oleh bagian anterior dari kelenjar hipofisis. Dua hormon gonadotropin yang memegang peranan penting dalam mengatur fungsi testis adalah *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteunizing Hormon* (LH) atau lebih tepatnya disebut ICSH (*Interstitial Stimulating Hormon*) (Hardjopranjoto, 1995).

Sintesis dan sekresi hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisis anterior ini distimulir oleh *Gonadotropin-Releasing Hormon* (GnRH) yang disekresi dari hipotalamus. FSH menstimulir pertumbuhan sel-sel germinatip dari tubulus seminiferus dan mendorong terjadinya proses-proses

spermatogenesis secara sempurna. Selain itu FSH juga merangsang sel sertoli untuk menghasilkan inhibin. LH menstimulir pertumbuhan dan aktifitas sel-sel interstitial (sel Leydig) untuk menghasilkan hormon testosteron (Salisbury dan Van Denmark, 1985). Pada suatu tempat tertentu dalam tubuh sejumlah kecil testosteron dalam sirkulasi diubah jadi estrogen, tetapi sebagian besar testosteron diubah dalam hati menjadi 17-ketosteroid dan diekskresikan dalam urine (Ganong, 1980).



Gambar 3. Diagram skematis peranan hormon reproduksi pada hewan jantan. Garis putus menunjukkan mekanisme umpan balik negatif (Toelihere, 1981).

Pada keadaan dimana kadar testosteron tinggi akan menghambat sekresi LH selanjutnya, sehingga menyelesaikan lingkaran umpan balik negatif. Inhibin yang dihasilkan oleh tubulus seminiferus akan menekan sekresi FSH pada hipofisis anterior. Efek umpan balik negatif pada

testosteron dan inhibin dapat terjadi pada hipofisis, hipotalamus ataupun keduanya (Sodeman, 1995).

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa hubungan timbal balik antara hipotalamus-hipofisis anterior dan testis adalah sebagai berikut:

- a. Pulsus GnRH dari hipotalamus merangsang sekresi FSH dan LH dari hipofisis anterior.
- b. FSH bekerja di dalam tubulus seminiferus untuk merangsang proses spermatogenesis dan sel sertoli untuk menghasilkan inhibin. FSH juga berperan dalam proses aromatisasi testosteron menjadi estrogen.
- c. LH bekerja pada sel Leydig untuk menghasilkan testosteron.
- d. Testosteron dan estrogen mengadakan umpan balik negatip pada hipotalamus dan hipofisis anterior untuk mengontrol sekresi GnRH, LH dan FSH.
- e. Sedangkan inhibin mengadakan umpan balik negatip pada hipofisis anterior untuk mengontrol fungsi FSH.

2.4. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan sel spermatozoa. Proses spermatogenesis terdiri dari dua fase, yaitu fase pertumbuhan jaringan spermatogenik dengan pembelahan yang sederhana, kemudian diikuti dengan pembelahan reduksi, dimana pada pembelahan reduksi ini

jumlah kromosom dibagi dua sama banyak dari diploid menjadi haploid. Fase ini dikenal dengan spermatocytogenesis dan diakhiri dengan terbentuknya sel spermatid. Fase kedua adalah spermiogenesis dimana pada fase ini sel-sel spermatid akan mengalami metamorfose bentuk, sehingga menyebabkan terbentuknya sel spermatozoa yang sempurna (Dellman, 1971; Hardjopranjoto, 1981).

Sel germinatif yang pertama adalah spermatogonia atau sel primitif yang sudah ada sejak lahir. Sel tersebut kemudian akan membagi secara mitosis beberapa kali sebelum menjadi spermatisit (Lesson dan Lesson, 1994). Sel spermatogonia mempunyai dua macam sel yaitu tipe A yang akan membelah terus-menerus secara mitosis menghasilkan sel spermatogonia tipe A dan tipe B. Spermatogonia tipe B akan membelah secara mitosis menghasilkan dua spermatisit primer. Setelah spermatisit primer berkembang dan membesar, kemudian intinya membelah menjadi dua spermatisit sekunder. Spermatisit sekunder kemudian membentuk dua sel spermatid. Jadi setiap spermatisit primer membentuk empat spermatid (Salisbury, 1985).

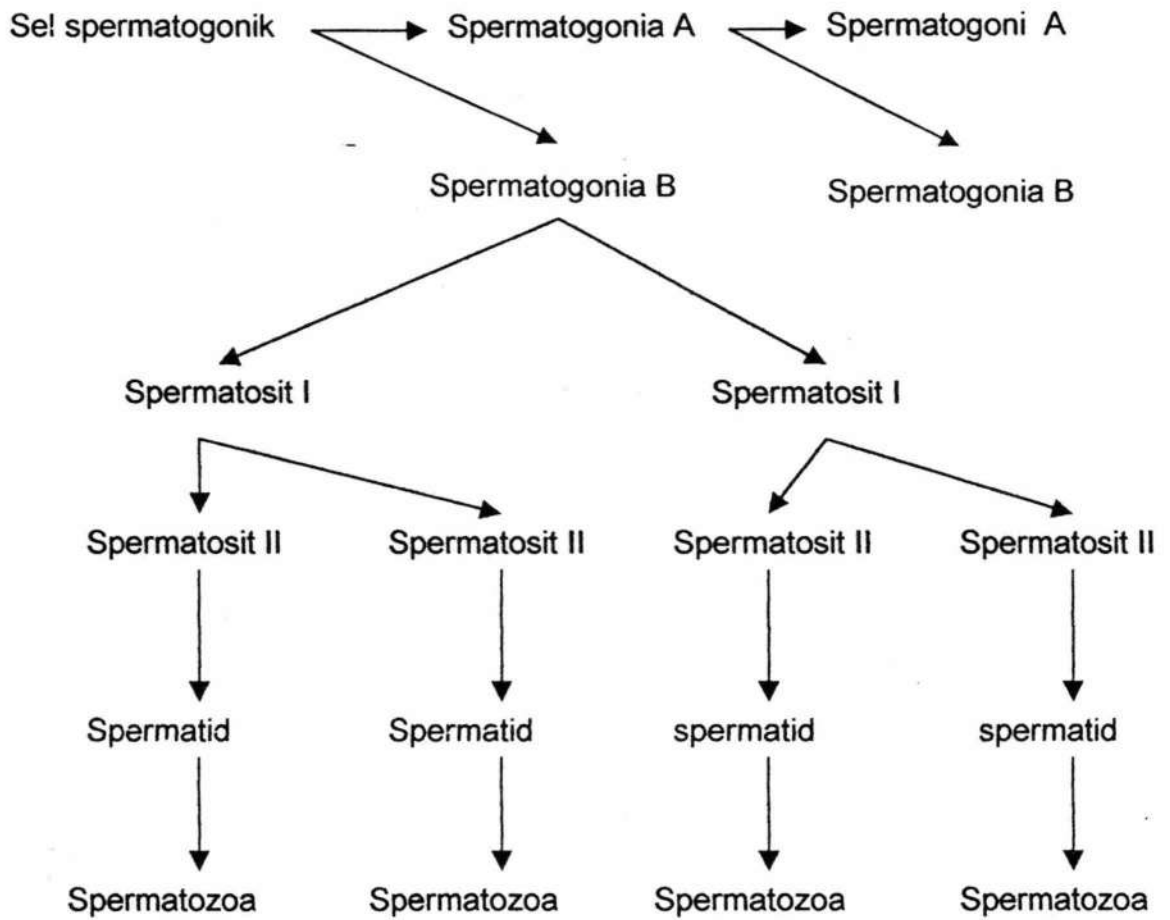
Spermatid mengalami metamorfase menjadi spermatozoa tanpa pembelahan sel. Spermatozoa merupakan suatu sel langsing memanjang dan terdiri dari kepala dan ekor. Aparatus golgi dari spermatid membentuk

tudung anterior atau akrosom sperma, dan mitokondria dari sitoplasma berkumpul pada ekor yang tumbuh keluar dari sentriol (Thoelihere, 1981).

Lamanya siklus spermatogenesis, yaitu waktu yang diperlukan dari spermatogonia sampai menghasilkan spermatozoa yang ada dalam duktus efferent, domba 49 hari, babi 40 hari, kelinci 52 hari, tikus 48 hari serta mencit 34,5 hari (Brezile, 1971; Thoelihere, 1981).

Proses produksi sel spermatozoa dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain makanan, kesehatan, suhu. Pada tingkatan makanan yang rendah sampai terjadi penghambatan pertumbuhan hewan muda atau penurunan berat badan hewan dewasa dapat terlihat atrofi testis, penurunan jumlah sperma dan libido. Pada tingkatan makanan yang tinggi tidak dinyatakan sebagai penyebab infertilitas, terutama pada hewan yang gemuk.

Suhu lingkungan yang terlalu rendah atau terlalu tinggi dapat mempengaruhi reproduksi hewan jantan. Fungsi thermoregulatoris skrotum dapat terganggu dengan akibat buruk terhadap spermatogenesis. Suhu tinggi dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatozoa yang berpengaruh pada proses spermatosit, spermatid dan spermatozoa tetapi tidak mempengaruhi spermatogonia. Peninggian suhu udara testis karena penyakit dapat menyebabkan kegagalan pembentukan dan penurunan produksi spermatozoa (Salisbury dan Van Denmark, 1985).



Gambar 4: Mekanisme proses spermatogenesis.

BAB III

MATERI DAN METODA

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di kandang hewan percobaan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dilaksanakan mulai tanggal 12 April sampai dengan 30 Mei 1999.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit jantan yang belum dewasa kelamin, berat badan 18-20 gram, Mencit-mencit tersebut dibeli dari Pusvetma, Surabaya.

3.2.2. Bahan Penelitian

- Ekstrak umbi gembili berbentuk ekstrak kental.
- Makanan mencit berupa makanan ayam broiler produksi Comfeed 511.
- Air kran yang berasal dari PDAM untuk minum mencit.
- Methanol berfungsi sebagai cairan penyari, digunakan untuk proses maserasi di dalam pembuatan ekstrak umbi gembili.
- Kloroform untuk membunuh mencit.

- Formalin 10% untuk fiksasi testis. Bahan untuk proses dehidrasi dan clearing yaitu alkohol 70%, 80%, 95%, (alkohol absolut I, II, xylol I dan II).
- Parafin I dan II untuk proses infiltrasi.
- Parafin cair untuk pembuatan balok parafin.
- Bahan untuk pewarna Hematoxylin Eosin (HE) yaitu xylol I, II, alkohol absolut I, II, alkohol 96%, 80%, 70%, air kran, zat warna Harris, acid alkohol, akuades, zat warna eosin.
- Canada balsem untuk perekat.

3.2.3. Alat Penelitian

- Kandang mencit terbuat dari kotak plastik segi empat, bermulut lebar dan tutupnya terbuat dari anyaman kawat kasa, sebanyak empat buah.
- Timbangan Cent-o-Gram merk OHAUS untuk menimbang berat badan mencit.
- Timbangan Sartorius untuk menimbang testis mencit dan ekstrak umbi gembili.
- Tempat makanan dan minuman mencit terbuat dari plastik.
- S spuit 1cc dengan jarum tumpul yang sudah dimodifikasi untuk memasukkan suspensi ekstrak umbi gembili kedalam lambung mencit melalui esofagus.
- Alat-alat dokumentasi.

- Pinset, scalpel dan gunting anatomi untuk mengambil testis mencit yang sudah dibunuh.
- Tempat plastik (pot obat) untuk tempat masing-masing testis mencit.
- Untuk pembuatan sediaan histologi diperlukan alat dehidrasi, mikrotom, gelas objek dan gelas penutup.
- Untuk pembuatan ekstrak umbi gembili digunakan alat-alat : pisau pengiris, alat penggiling buatan Arthur H. Thomas Co. 5XBPOOCE dengan pengayak berdiameter 20 mm.

3.3. Metoda Penelitian

3.3.1. Pembuatan Ekstrak Umbi Gembili

Umbi gembili diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan tanpa kena sinar matahari langsung. Setelah betul-betul kering, umbi gembili digiling dengan alat penggiling buatan Arthur H. Thomas Co. 5XBPOOCE, kemudian diayak dengan diameter 20 mm sehingga diperoleh serbuk halus. Cara yang digunakan dalam pembuatan ekstrak umbi gembili dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 500 gram serbuk halus umbi gembili dimasukkan kedalam tabung kaca toples direndam dengan methanol dua liter kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah direndam 24 jam kemudian disaring dengan corong butcher sehingga mendapatkan ekstrak cair. Perendaman dengan methanol tersebut dilakukan selama tiga kali. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan facum rotary untuk

mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50° C supaya methanol menguap.

3.3.2. Perlakuan Hewan Percobaan

Sebanyak 24 ekor mencit jantan yang belum dewasa kelamin dibagi secara acak dengan menggunakan cara lotre. Mencit-mencit tersebut dibagi menjadi empat perlakuan dan masing-masing perlakuan terdapat enam ulangan. Dari setiap mencit mendapatkan pengacakan sebanyak dua kali yaitu untuk menentukan kelompok perlakuan dan nomer ulangannya. Kemudian mencit-mencit tersebut dimasukkan ke dalam kandang plastik yang sudah dipersiapkan sesuai dengan tempat perlakuannya. Perlakuan yang diberikan terhadap masing-masing kelompok perlakuan dibedakan berdasarkan kelompok umur.

Perlakuan yang diberikan kepada tiga kelompok tersebut adalah sebagai berikut:

Kelompok kontrol (K): Enam ekor mencit jantan diberi air PDAM secara *ad libitum* sampai umur 70 hari mulai umur 21 hari.

Kelompok perlakuan I (PI): Enam ekor mencit jantan masing-masing diberi ekstrak umbi gembili dengan dosis 3,3 mg/gram berat badan yang disuspensikan kedalam 0,2 ml akuades, satu kali sehari mulai umur 21 hari sampai 35 hari.

Kelompok perlakuan II (P2): Enam ekor mencit jantan masing-masing diberi ekstrak umbi gembili sebanyak 3,3 mg/gram berat badan yang disuspensikan kedalam 0,2 ml akuades, satu kali sehari mulai umur 35 hari sampai umur 70 hari.

Kelompok perlakuan III (P3): Enam ekor mencit jantan masing-masing diberi ekstrak gembili 3,3 mg/gram berat badan yang disuspensikan kedalam 0,2 ml akuades satu kali sehari mulai umur 21 hari sampai umur 70 hari.

Penentuan dosis ekstrak umbi gembili tersebut berdasarkan penelitian Rosidah (1991).

3.3.3. Pengambilan Testis dan Pembuatan Sediaan Histologis

Setelah masa perlakuan selesai diberikan, mencit-mencit tersebut dibunuh dengan memasukkannya kedalam beker glass berisi kapas yang sudah dibasahi dengan ether. Setelah mencit mati, dilakukan pembedahan untuk mengambil testis. Caranya dengan membuat sayatan memanjang pada kulit daerah abdominal, dinding perut dibuka kemudian kedua testis dipisahkan dan diambil secara ligueartis. Tiap testis ditimbang dengan menggunakan timbangan Sartorius di Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Masing-masing testis dimasukkan kedalam pot-pot obat yang berisi formalin 10%.

Pembuatan sediaan histologis dilakukan setelah fiksasi testis dalam formalin 10% selama 24 jam atau lebih. Pembuatan dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Tahapan cara pembuatan sediaan histologi ini adalah, fiksasi dan pencucian, dehidrasi dan clearing, infiltrasi, pembuatan balok parafin, pengirisan dengan mikrotom, pewarnaan dan penutupan gelas objek dengan gelas penutup.

3.3.4. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan sediaan histologi secara mikroskopis dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Untuk penghitungan jumlah sel-sel kelaminnya digunakan pembesaran 450x. Penghitungan tersebut dilakukan pada enam potongan tubulus yang berbeda untuk setiap ulangan dari masing-masing perlakuan. Untuk menentukan enam potongan tubulus yang berbeda pada setiap ulangan yaitu dengan cara memilih bentuk preparat yang gambarnya jelas pada enam lapangan pandang dengan pembesaran 100x. Dari tiap lapangan pandang tersebut diambil satu tubulus yang bentuknya bulat, bentuk sel-selnya jelas dan batas antar tubulus jelas dengan pembesaran 450x. Hasilnya diambil dari rata-rata jumlah masing-masing perhitungan.

3.3.5. Parameter yang Diamati

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap beberapa parameter yaitu:

1. Berat testis mencit setelah perlakuan. Data berat testis tiap ulangan dari masing-masing perlakuan didapat dengan menjumlahkan berat testis kanan dan kiri (mg).
2. Gambaran histologis testis mencit yang meliputi:

- a. Sel spermatogonia

Letaknya paling dekat dengan membrana basalis dari tubulus seminiferus dengan inti bulat dan banyak mengandung kromatin.

- b. Sel spermatosit primer

Merupakan sel benih terbesar, bentuknya bulat, inti sel biasanya ada pada satu tingkat profase, letaknya menuju ke tengah lumen tubulus, dengan pewarnaan HE inti berwarna biru, sitoplasma berwarna merah.

- c. Spermatid

Merupakan sel yang mempunyai ukuran kecil, inti dengan daerah-daerah kromatin padat, terletak dekat bagian tengah tubulus seminiferus.

- d. Sel spermatozoa

Merupakan sel kelamin dewasa yang terdiri dari kepala dan ekor, intinya gelap memanjang, letaknya berbatasan dengan lumen tubulus seminiferus (Dellman, 1971).

3.4. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan F tabel dibandingkan dengan F hitung dari Analisis Sidik Ragam. Jika terdapat perbedaan yang bermakna di dalam perhitungan, akan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil pengamatan terhadap beberapa parameter testis mencit setelah pemberian ekstrak umbi gembili dengan dosis 3,3 mg/g BB pada umur 21 hari sampai umur 35 hari (P1), umur 35 sampai umur 70 hari (P2), umur 21 hari sampai umur 70 hari (P3), dan Kontrol dengan pemberian air PDAM dapat dilihat pada tabel-tabel dibawah ini.

4.1 Berat Testis

Pemberian ekstrak umbi gembili pada Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 tidak menyebabkan terjadinya penurunan berat testis mencit bila dibandingkan dengan Kontrol (Lihat Tabel 1). Data tentang jumlah berat testis kanan dan kiri dapat dilihat pada lampiran 1.

Tabel 1. Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Berat Testis Mencit (mg).

Perlakuan	Berat testis mencit $\bar{x} \pm SD$
K	213,8 ^a ± 18, 89
P1	205, 0 ^a ± 42, 60
P2	216,9 ^a ± 33,86
P3	199,9 ^a ± 32,34

Keterangan: Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($p > 0,05$).

Setelah diuji dengan Analisa Sidik Ragam (Anava) ternyata F hitung < F tabel (0,05), sehingga dari keempat perlakuan tersebut tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap berat testis.

4.2. Jumlah Spermatogonia dalam Lumen Tubulus Seminiferus

Pemberian ekstrak umbi gembili pada Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 menyebabkan terjadinya penurunan jumlah spermatogonia bila dibandingkan dengan Kontrol (Lihat tabel 2). Gambaran secara histologi dari sel spermatogonia dapat dilihat pada gambar 5-12.

Tabel 2. Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus

Perlakuan	Jumlah sel spermatogonia $\bar{x} \pm SD$
K	73,2 ^a \pm 10,63
P1	69,9 ^a \pm 3,03
P2	57,1 ^b \pm 3,86
P3	51,5 ^b \pm 3,15

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Setelah diuji dengan Analisa Sidik Ragam (Anava) ternyata F hitung > F tabel (0,01), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang sangat nyata terhadap jumlah spermatogonia. Hasil uji dengan BNT

menunjukkan jumlah tertinggi spermatogonia terdapat pada Kontrol dan Perlakuan 1 yang berbeda nyata dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3. Pada Kontrol tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 1, begitu pula pada Perlakuan 2 tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 3.

4.3. Jumlah Spermatisit Primer dalam Lumen Tubulus Seminiferus

Pemberian ekstrak umbi gembili pada Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 menyebabkan terjadinya penurunan jumlah spermatisit primer bila dibandingkan dengan Kontrol, dapat dilihat pada tabel dibawah ini. Gambaran secara histologi dari sel spermatisit primer dapat dilihat pada gambar 5-12.

Tabel 3. Pengaruh ekstrak umbi gembili terhadap jumlah spermatisit primer dalam tubulus seminiferus

Perlakuan	Jumlah sel spermatisit primer $\bar{x} \pm SD$
K	158,1 ^a \pm 59,66
P1	173,8 ^a \pm 27,64
P2	105,9 ^b \pm 20,18
P3	113,9 ^b \pm 12,86

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Setelah diuji dengan Analisa Sidik ragam (Anava) ternyata F hitung $>$ F tabel (0,01), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan

yang sangat nyata terhadap jumlah spermatisit primer. Hasil uji dengan BNT menunjukkan jumlah tertinggi spermatisit primer terdapat pada Kontrol dan Perlakuan 1 yang berbeda nyata dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3. Pada Kontrol jumlah spermatisit primer tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 1, begitu pula pada Perlakuan 2 tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 3.

4.4. Jumlah Spermatid dalam Lumen Tubulus Seminiferus

Pemberian ekstrak umbi gembili pada Perlakuan 1, Perlakuan 2, Perlakuan 3 dibandingkan dengan Kontrol, hasilnya dapat dilihat pada tabel 4 dibawah ini. Gambaran secara histologi dari sel spermatid dapat dilihat pada gambar 5-12.

Tabel 4. Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatid dalam Tubulus Seminiferus

Perlakuan	Jumlah sel spermatid $\bar{x} \pm SD$
K	156,4 ^a \pm 43,42
P1	154,5 ^a \pm 33,63
P2	97,3 ^b \pm 9,72
P3	105,7 ^b \pm 9,26

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Setelah diuji dengan Analisa Sidik ragam (Anava) ternyata F hitung $>$ F tabel (0,01), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan

yang sangat nyata terhadap jumlah spermatid. Hasil uji dengan BNT menunjukkan jumlah tertinggi spermatid terdapat pada Kontrol dan Perlakuan 1 yang berbeda nyata dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3. Pada Kontrol jumlah spermatidnya tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 1, begitu pula pada Perlakuan 2 tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 3.

4.5. Jumlah Spermatozoa dalam Lumen Tubulus Seminiferus

Pemberian ekstrak umbi gembili pada Perlakuan 1, Perlakuan 2, Perlakuan 3 dibandingkan dengan Kontrol, hasilnya dapat dilihat pada tabel dibawah ini. Gambaran secara histologi dari sel spermatozoa dapat dilihat pada gambar 5-12.

Tabel 5. Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Jumlah Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus

Perlakuan	Jumlah sel spermatozoa $\bar{x} \pm SD$
K	110,1 ^a \pm 28,46
P1	94,7 ^a \pm 24,32
P2	66,1 ^b \pm 8,62
P3	62,4 ^b \pm 6,49

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Setelah diuji dengan Analisa Sidik ragam (Anava) ternyata F hitung $>$ F tabel (0,01), sehingga dari keempat perlakuan tersebut terdapat perbedaan yang

sangat nyata terhadap jumlah spermatozoa. Hasil uji dengan BNT menunjukkan jumlah tertinggi spermatozoa terdapat pada Kontrol dan Perlakuan 1 yang berbeda nyata dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3. Pada Kontrol jumlah spermatozoanya tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 1, begitu pula pada Perlakuan 2 tidak berbeda nyata dengan Perlakuan 3.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Berat Testis

Penelitian pemberian ekstrak umbi gembili pada mencit dengan dosis 3,3 mg/g berat badan yang disuspensikan ke dalam 0,2 ml akuades secara oral dengan menggunakan sonde setiap hari, memberikan hasil seperti pada bab IV. Hasil yang didapat pada penghitungan tersebut jumlah sel-sel kelaminnya, yaitu spermatogonia, spermatosit primer, spermatid dan spermatozoa, pada kelompok Kontrol dan Perlakuan 1 tidak terdapat penurunan yang nyata, sedang pada Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 terdapat penurunan yang nyata bila dibandingkan dengan kelompok Kontrol dan Perlakuan 1. Pada penghitungan berat testis antara kelompok Kontrol, Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 tidak ada perbedaan yang nyata.

Tidak didapatkannya perbedaan yang nyata pada penghitungan berat testis hasil percobaan, kemungkinan disebabkan karena rendahnya kadar diosgenin, sebagai sumber progesteron, yang terkandung dalam ekstrak umbi gembili sehingga belum mampu memberikan pengaruh pada berat testis. Asumsi yang ada adalah, bahwa bersamaan dengan naiknya produksi testosteron maka produksi progesteron ikut naik (Partodihardjo, 1980). Dapat diambil pengertian bahwa dengan tingginya kadar testosteron maka kadar progesteronpun akan tinggi, begitu pula sebaliknya jika kadar testosteron

rendah maka kadar progesteron juga akan rendah. Hormon testosteron merupakan hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh sel Leydig atas pengaruh LH dari kelenjar hipofisa anterior yang berfungsi memelihara perkembangan testis bersama dengan estrogen. Sebaliknya, jumlah sekresi gonadotropin dikendalikan oleh hormon androgen (testosteron) dan estrogen. Hormon, dalam mempengaruhi organ target tergantung pada kadar tinggi rendahnya hormon dalam darah, sehingga bisa menimbulkan aktivasi yang besar atau kecil pada organ target tersebut. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Sodeman (1991) bahwa pengaruh yang ditimbulkan oleh hormon testosteron dan estrogen yang memelihara testis tergantung pada tinggi rendahnya kadar LH dalam darah, sehingga bisa menimbulkan efek dari ringan sampai berat seperti misalnya feminisme testis, sterilitas, bahkan sampai dengan atropi testis. Selain pengaruh hormon, berat testis pada mamalia juga dipengaruhi oleh umur, jenis hewan, kondisi makanan, dan bangsa hewan (Hafez 1970; Toelihere 1981).

5.2. Jumlah Sel Kelamin

Penurunan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid dan spermatozoa sangat nyata antara kelompok Kontrol dan Perlakuan 1 dibanding dengan Perlakuan 2 dan Perlakuan 3. Perbedaan yang terjadi kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan umur perlakuan yang diberikan sebelum dewasa kelamin dan sesudah dewasa kelamin. Kelompok

Kontrol dan Perlakuan 1 merupakan kelompok perlakuan yang dicobakan sebelum dewasa kelamin (21 sampai 35 hari). Kelompok Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 merupakan kelompok perlakuan yang diberikan sesudah dewasa kelamin (35 sampai 70 hari).

Dengan demikian perbedaan tersebut bisa saja disebabkan karena hormon-hormon reproduksi dan sel-sel germinal mulai aktif setelah tercapainya dewasa kelamin. Hasil yang didapat pada pemberian sebelum dewasa kelamin (Perlakuan 1) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata bila dibandingkan dengan kelompok Kontrol. Berbeda pada Perlakuan 2 dan Perlakuan 3, yang diberikan sesudah dewasa kelamin, kemungkinan hormon-hormon reproduksi sudah mulai aktif dan proses spermatogenesis sudah berjalan sehingga ekstrak umbi gembili dapat memberikan penurunan yang nyata pada jumlah sel-sel kelaminnya.

Kemungkinan lain terjadinya penurunan jumlah sel-sel kelamin adalah disebabkan karena ekstrak umbi gembili yang mengandung hormon steroid (progesteron) dalam tubuh hewan akan mengadakan mekanisme umpan balik pada hipotalamus atau pada kelenjar hipofisa anterior (Heftman, 1970).

Kadar progesteron yang tinggi dalam darah merangsang hipotalamus untuk menurunkan pelepasan GnRH. GnRH merangsang kelenjar hipofisa anterior untuk menurunkan sekresi LH dan FSH. Rendahnya konsentrasi hormon LH yang turun akan menyebabkan penurunan konsentrasi

testosteron oleh testis sehingga terjadi penurunan proses spermiogenesis. Penurunan kadar FSH yang turun juga akan menyebabkan penurunan proses spermatositogenesis (Doerge, 1982). Jadi pada pemberian ekstrak umbi gembili kemungkinan dapat menurunkan jumlah sel-sel kelamin.

Hormon steroid (progesteron) dalam melakukan aktivasi bisa melalui pengikatan protein dalam sitoplasma dengan sangat spesifik, masuk ke dalam sel dengan proses transpor aktif atau pasif, mengikat protein lain dalam sitoplasma, atau langsung masuk ke dalam inti sel. Kemudian reseptor akan mengalami perubahan konformasi oleh karenanya mengalami aktivasi menuju ke akseptor. Kompleks steroid-reseptor masuk ke dalam inti dan mengikat tempat akseptor dalam kromatin (DNA dan sistem enzimnya yang terkait) sehingga menyebabkan timbulnya respon hormon steroid, misalnya tanda-tanda kelamin sekunder, kelenjar kelamin oleh androgen dan estrogen (Doerge, 1982).

Dilihat dari mekanisme kerja hormon steroid dalam melakukan aktivasi kemungkinan perbedaan yang terjadi bisa disebabkan karena adanya kelainan pada pengikatan protein atau pada pengikatan kompleks steroid-reseptor. Bila terjadi gangguan pada pengikatan protein maka akan menyebabkan tidak pekanya organ target, sehingga organ target tidak akan melakukan aktivasi. Begitu pula jika ada gangguan pengikatan pada kompleks steroid-reseptor bisa menyebabkan tidak adanya aktivasi pada organ target. Jadi adanya perbedaan jumlah sel-sel kelamin yang didapat

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang pemberian suspensi ekstrak umbi gembili dengan dosis 3,3 mg/g berat badan pada umur yang berbeda terhadap mencit jantan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak umbi gembili tidak menyebabkan perubahan berat testis mencit baik yang belum ataupun yang sudah dewasa kelamin.
2. Pemberian ekstrak umbi gembili menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid, dan spermatozoa selama proses spermatogenesis berlangsung.

6.2. Saran

1. Perlu dilakukan isolasi terhadap kandungan masing-masing zat yang terkandung dalam umbi gembili untuk mengetahui pengaruh sebenarnya dari zat *diosgenin*.
2. Perlu dilakukan percobaan lebih lanjut tentang efektivitas *diosgenin* pada hewan lain.

3. Perlu dilakukan percobaan lebih lanjut tentang perubahan gambaran konsentrasi hormon reproduksi.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang abnormalitas sel-sel kelamin.

RINGKASAN

MARWANTO. Pengaruh pemberian ekstrak umbi gembili terhadap berat dan gambaran histologis testis mencit, dibawah bimbingan Sulistianingwati G. Drh. sebagai pembimbing pertama dan Desianto B. Utomo, Ph.D., Drh. sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi gembili terhadap berat dan gambaran histologi testis mencit. Untuk mengetahui gambaran histologi testis dilakukan pengamatan terhadap proses spermatogenesis dengan menghitung jumlah sel kelaminnya.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 24 ekor mencit jantan yang belum dewasa kelamin. Mencit-mencit tersebut dibagi secara acak dengan cara lotre menjadi empat kelompok dan masing-masing kelompok terdapat enam ulangan. Empat perlakuan tersebut adalah : pemberian air PDAM secara *ad libitum* sebagai Kontrol (K), ekstrak umbi gembili dengan dosis 3,3 mg/g BB yang disuspensikan kedalam 0,2 ml akuades diberikan pada mencit umur 21 hari sampai umur 35 hari (sebelum dewasa kelamin) sebagai P1, umur 35 sampai umur 70 (sesudah dewasa kelamin) sebagai P2, dan umur 21 sampai umur 70 sebagai P3.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian suspensi ekstrak umbi gembili secara oral pada mencit jantan tidak menyebabkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) terhadap berat testis, tetapi jumlah sel spermatogonia,

spermatisit primer, spermatid, dan spermatozoa menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Kelompok kontrol dan Perlakuan 1 (pemberian ekstrak umbi gembilinya sebelum dewasa kelamin) tidak terdapat perbedaan yang nyata. Perlakuan 2 (pemberian ekstrak umbi gembilinya sesudah dewasa kelamin) memberikan penurunan yang sangat nyata bila dibandingkan dengan Kontrol. Perlakuan 3 (pemberian ekstrak umbi gembilinya sebelum dewasa kelamin sampai umur dewasa kelamin) terdapat penurunan yang sangat nyata bila dibandingkan dengan Kontrol.

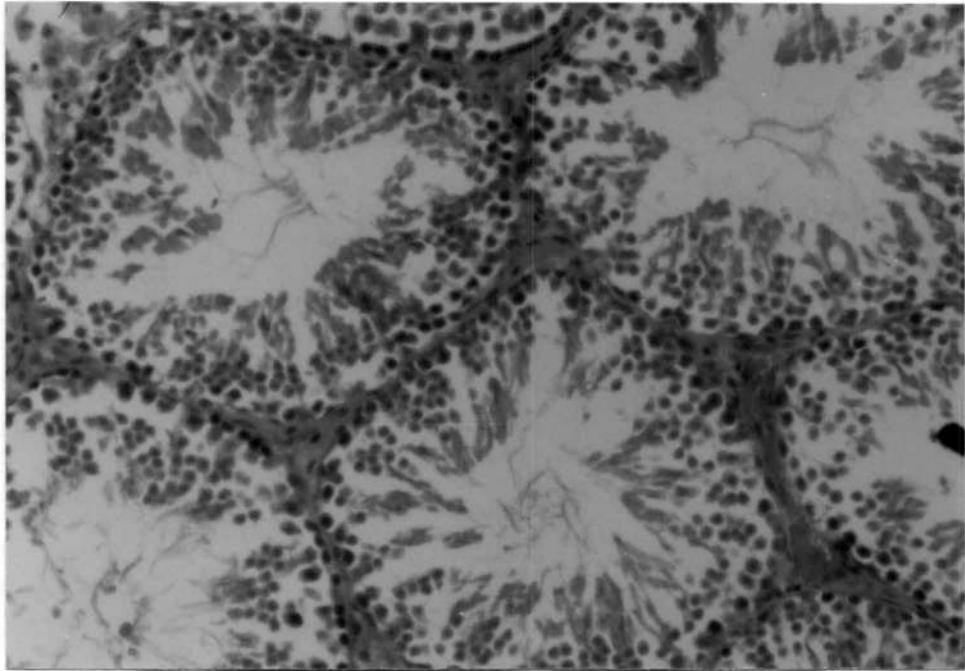
Kesimpulan yang dapat diambil setelah melihat hasil penelitian ini adalah pemberian ekstrak umbi gembili dengan dosis 3,3 mg/g BB tidak menyebabkan perubahan pada berat testis, tetapi menyebabkan penurunan pada jumlah sel kelaminnya. Jumlah sel kelamin yang mengalami penurunan terdapat pada Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 dimana pemberian perlakuan setelah dewasa kelamin, sedangkan pada Perlakuan 1 yang diberikan sebelum dewasa kelamin tidak memberikan perbedaan yang nyata.

DAFTAR PUSTAKA

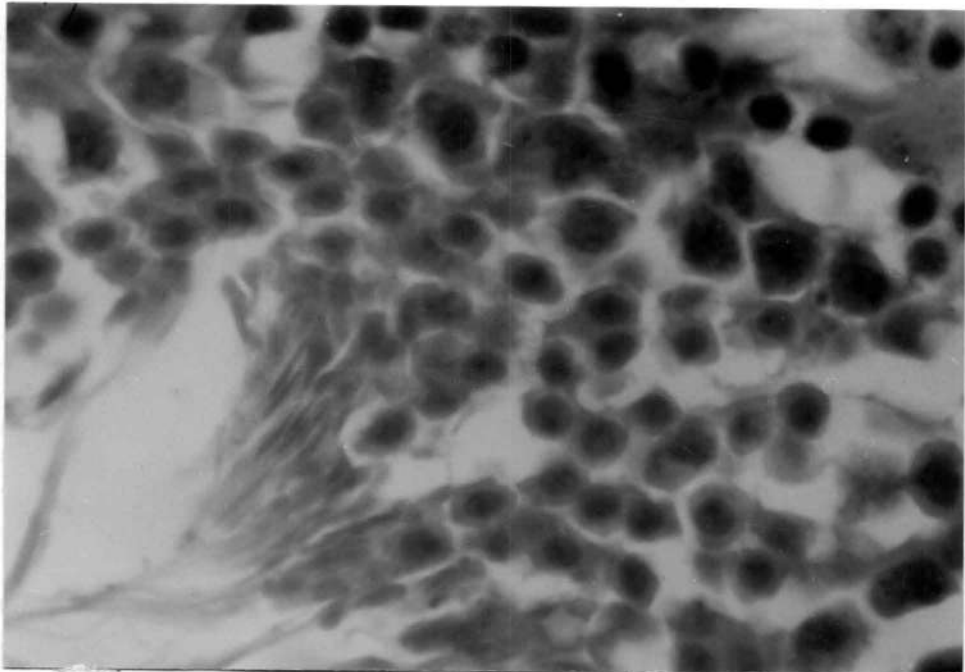
- Anonimus.** 1977. Ubi-ubian. Lembaga Biologi Nasional. LIPI. Bogor.
- Anonimus.** 1981. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian Edisi II. Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- Bloom, W. and D. W. Fawcett.** 1970. A Text Book of Histologi. 9th. Ed. W. B. Saunder Co. Philadelphia. Igaku Shoin Ltd. Tokyo.
- Breazile, J. E.** 1971. Text Book of Veterinary Physiology. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Copenhaver, W. M., D. E. Kelly, and R. L. Wood,** 1978. Text Book of Histology. 17th Ed. Asian Ed. The William and Wilkin Company. Baltimore. Tokyo.
- Dellmann, H. D.** 1971. Veterinary and Physiology. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Dellmann and Brown.** 1992. Text Book of Veterinary Histology. In: R. Hartono. Buku Teks Histologi Veteriner II. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Deorge, R. F.,** 1982. Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi dan Medisinal Organik. Ed. VIII. Philadelphia. Toronto.
- Yuniarti, E. M.** 1982. Skrining Kandungan Diosgenin dan Patologi Anatomi dari Tubera Beberapa Varietas Tanaman *Dioscorea species*. Skripsi. Fakultas Farmasi universitas Airlangga. Surabaya.
- Ganong, W. F.** 1980. Review of Medicinal Physiology. 9th. Ed. In: A. Dharma. Fisiologi Kedokteran. Edisi ke-9. CV. EGC. Penerbit Buku Kedokteran.
- Hafez, E. S. E.** 1970. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger Philadelphia.
- Hardman, R.** 1975. Steroid Plants in the Production of Contraceptive. J. Mondial de Pharmacie.
- Hardjopranjoto, S.** 1981. Fisiologi Reproduksi. Universitas Airlangga Press. Surabaya.

- Hardjopranjoto, S.** 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Universitas Airlangga Press.
- Heftman, E.** 1970. Steroid Biochemistry. Academic Press. New York. London.
- Junqueira, L. C., J. Carneiro and A. M. Contopoulos.** 1988. Basic Histology. 2nd. Ed. In: A. Dharmala. Histologi Dasar. C.V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran.
- Kurniawati, H.** 1999. Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi Gembili Terhadap Fertilitas Mencit Jantan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusriningrum,** 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga Press. Surabaya.
- Leeson, T. S. and C. R. Leeson.** 1994. Histology. 5th Ed. In: Staf Ahli Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Histologi. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Lily, M. and Perry.** 1980. Medicinal Plants of East and Suoth East Asia. Cambridge. Massachusett. London.
- Lincoln, G. A., H. M. Fraser and M. P. Abbot.** 1986. Blockade of pulsatile LH, FSH and testosteron secretion in rams by constan infusion of an LHRH agonist. J. Reprod. Fert. 77,
- Lindsay, s., K. Entwyatk dan A. Winates.** 1982. Reproduction in Domestic Livestock in Indonesia. Published by The Australian University. 2-16.
- Lingga, P., B. Sarwono, F. Rahardi, P. Rahardja, J. J. Afriastini, R . Wudianto, W. H. Afriadji.** 1993. Bertanam ubi-ubian. Penebar Swadaya.
- Manitto, P.** 1981. Biosintesis Natural Pruduc. In: P. G. Sammes. Biosintesa Produk Alami. University of Leeds.
- Partodiharjo, S.** 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Rosidah, A.** 1991. Pengaruh Ekstrak Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* (Luor) Burk) Terhadap Siklus Birahi Mencit. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Salisbury, G. W. dan N. L. Van Denmark.** 1985. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle In: R. Djanuar. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Gajah Mada University Press.
- Sasongko B. D.** 1992. Kadar Steroid Dalam *Dioscorea species*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sodeman.** 1995. Pathologic Physiology. 2nd Ed. In: Joko Suyono. Patofisiologi Sodeman. Jilid 2. Universitas Texas. Lubbock. Texas.
- Tarigan, P.** 1980. Beberapa Aspek Kimia Sapogenin Steroid pada Tumbuhan di Indonesia. Penerbit Alumni Bandung. Bandung.
- Toelihere, M. R.** 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung. Bandung.
- Windono, T.** 1979. Skrining Kandungan Diosgenin dari Tubera Beberapa Tanaman *Dioscorea species*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.



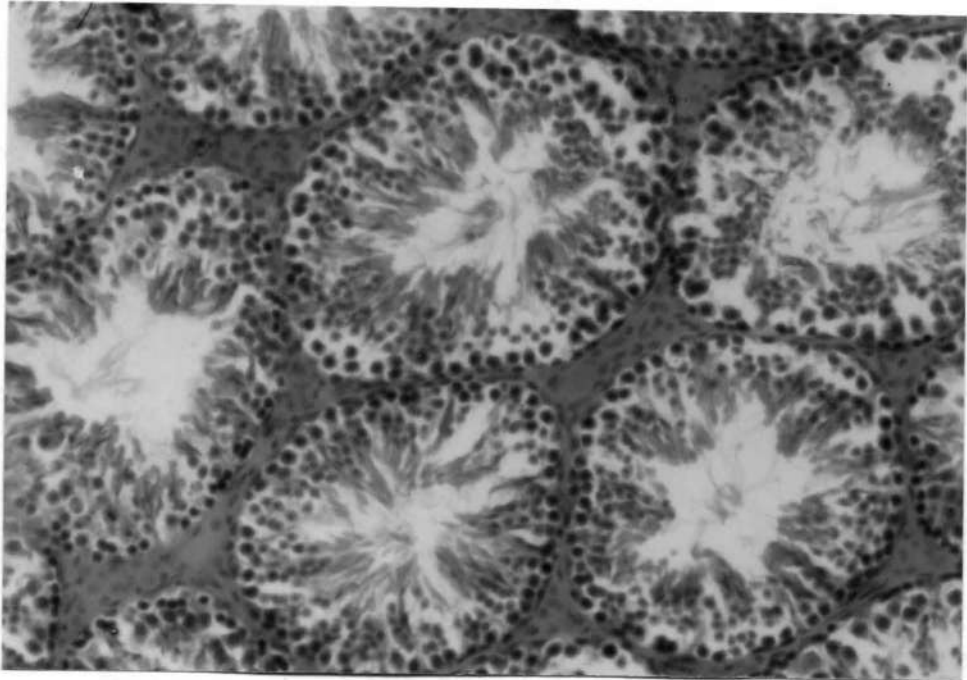
Gambar 5 : Gambaran histologi testis pada kelompok kontrol, pembesaran 100x



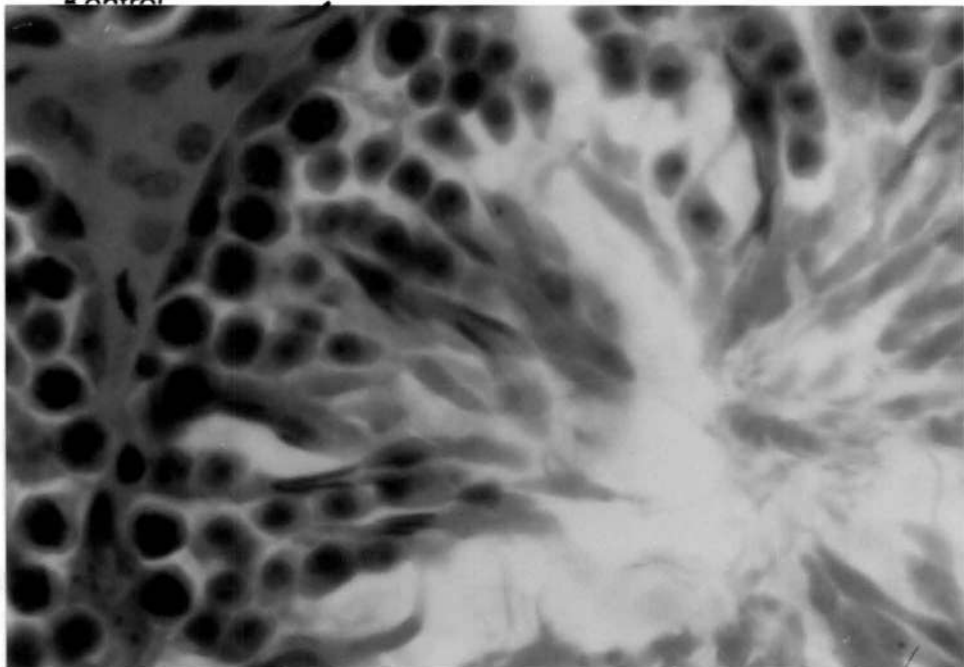
Gambar 6 : Gambaran histologi testis pada kelompok kontrol, pembesaran 400x.

Keterangan : a. Spermatogonium
b. Spermatisit Primer

c. Spermatid
d. Spermatozoa



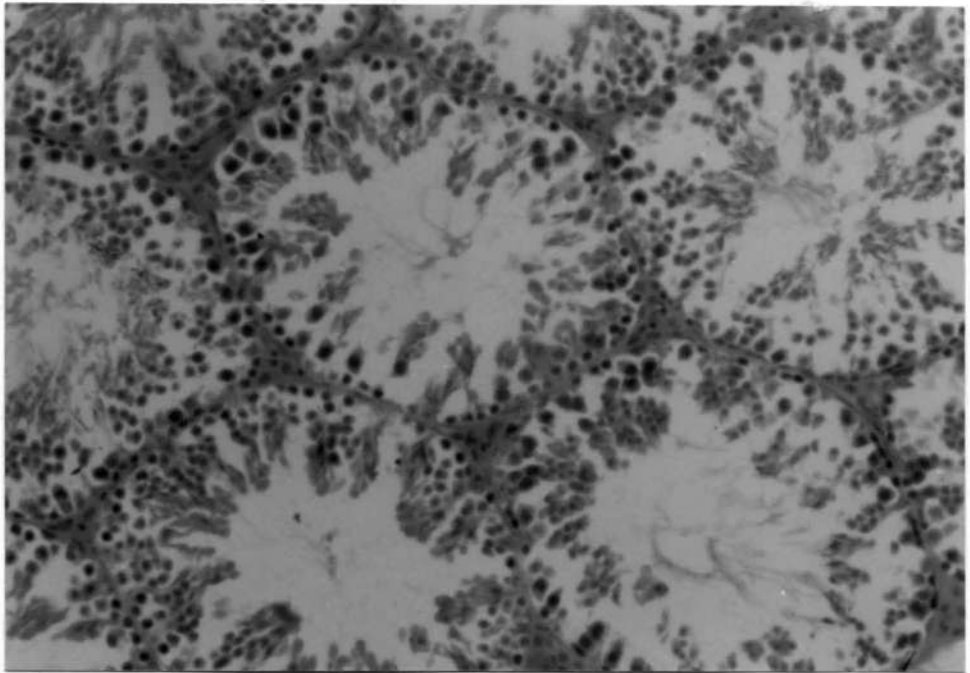
Gambar 7 : Gambaran histologi testis pada kelompok Perlakuan 1, pembesaran 100x, yang tidak berbeda nyata bila dibandingkan Kontrol.



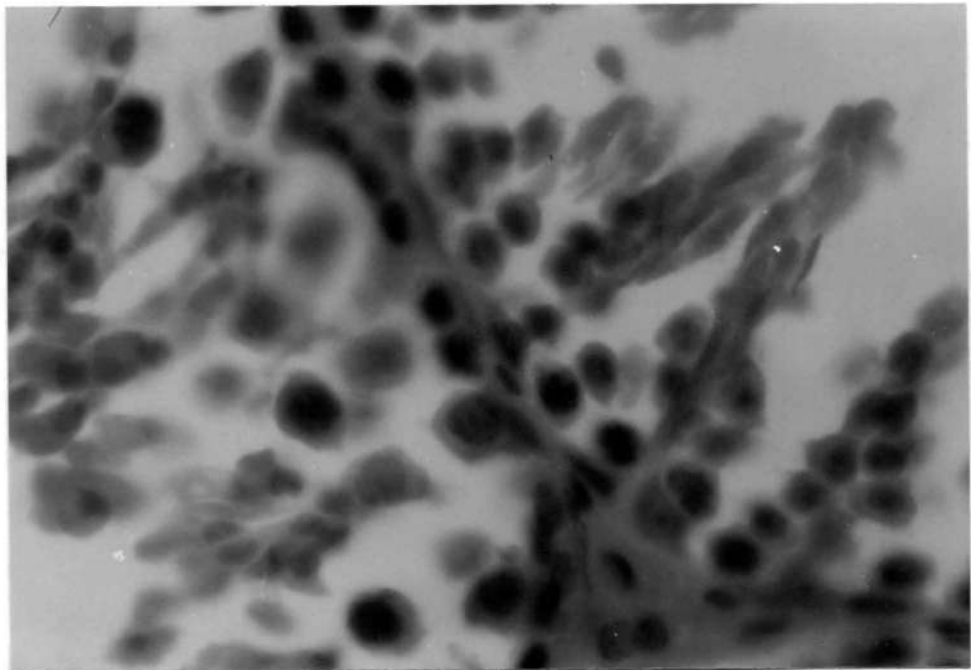
Gambar 8 : Gambaran histologi testis pada kelompok Perlakuan 1, pembesaran 400x, yang tidak berbeda nyata bila dibandingkan Kontrol.

Keterangan : a. Spermatogonium
b. Spermatisit Primer

c. Spermatisid
d. Spermatozoa



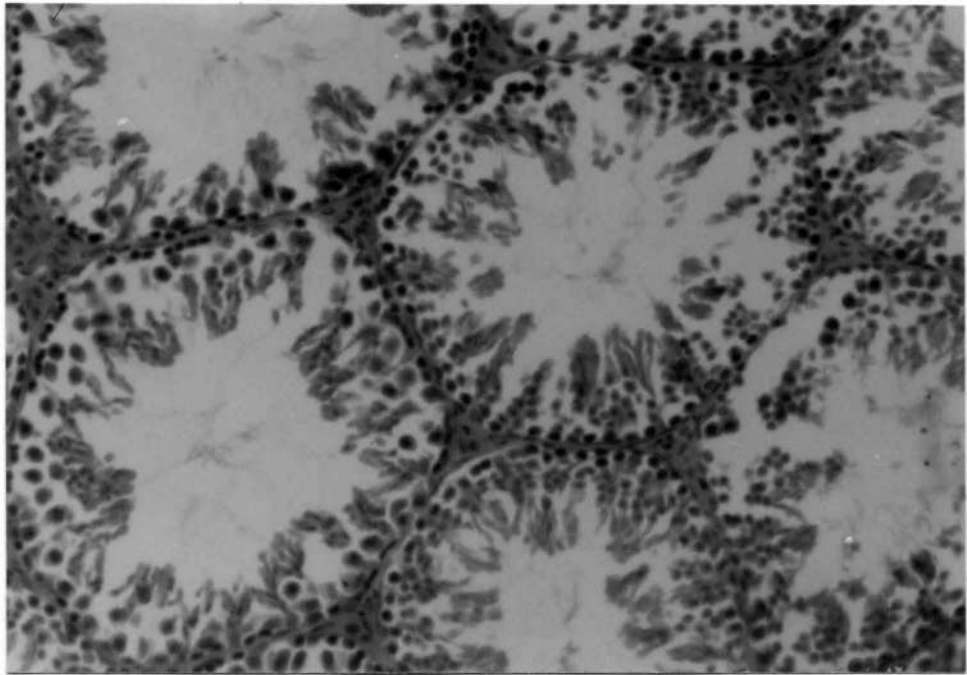
Gambar 9 : Gambaran histologi testis pada kelompok Perlakuan 2, pembesaran 100x, yang berbeda nyata bila dibandingkan Kontrol.



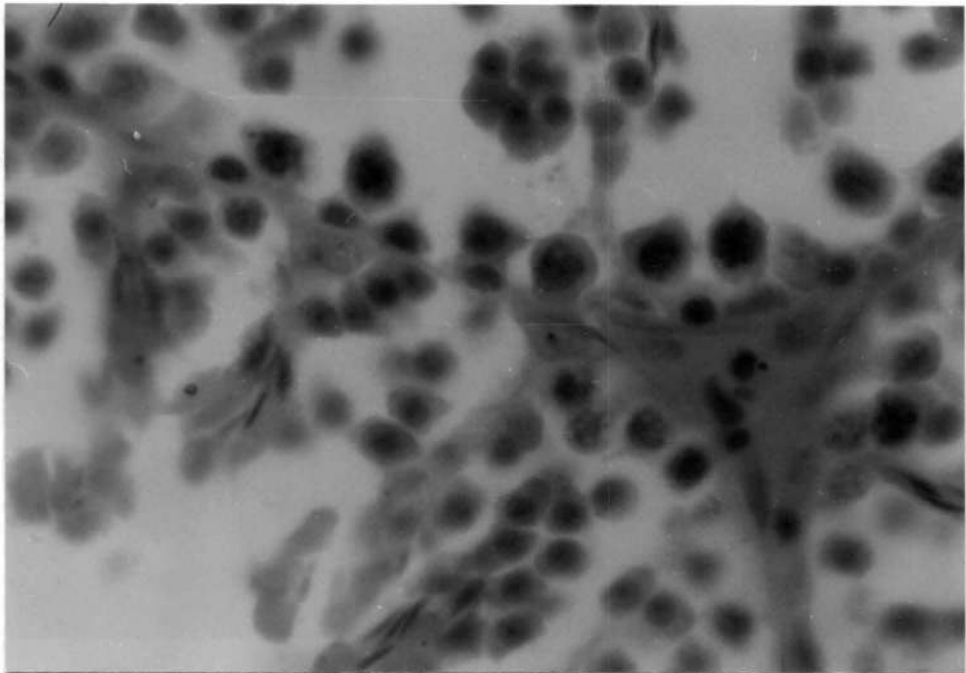
Gambar 10 : Gambaran histologi testis pada kelompok Perlakuan 2, pembesaran 400x, yang berbeda nyata bila dibandingkan Kontrol.

Keterangan : a. Spermatogonium
b. Spermatisit Primer

c. Spermatid
d. Spermatozoa



Gambar 11 : Gambaran histologi testis pada kelompok Perlakuan 3, pembesaran 100x, yang berbeda nyata bila dibandingkan Kontrol.



Gambar 12 : Gambaran histologi testis pada kelompok Perlakuan 3, pembesaran 400x, yang berbeda nyata bila dibandingkan Kontrol.

Keterangan : a. Spermatogonium
b. Spermatisit Primer
c. Spermatid
d. Spermatozoa

LAMPIRAN

Lanjutan lampiran 1.

Kuadrat tengahnya dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{1108,20}{4-1} = 369,40$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{21825,72}{4(6-1)} = 1091,29$$

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{369,40}{1091,29} = 0,34$$

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0.05	0.01
Perlakuan	3	1108,20	369,40	0,34	3,10	4,94
Sisa	20	21825,72	1091,29			
Total	23	22933,92				

$$F_{hitung} (0,34) < F_{tabel} (0,05) (3,10)$$

Kesimpulan: Pemberian ekstrak umbi gembili pada perlakuan tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap berat testis mencit.

Ho : Diterima

Lanjutan lampiran 2.

Nomer Mencit	Jumlah Sel Spermatogonia			
	Kontrol	P1	P2	P3
1	56,33	70,00	55,67	50,5
2	73,00	72,50	60,00	50,67
3	83,33	71,50	58,50	56,33
4	83,66	68,33	57,67	54,17
5	77,00	72,83	50,00	49,00
6	65,83	64,83	60,50	48,17
Total	1282,70	1230,20	1301,40	1199,10
Rata-rata	213,78	205,03	216,90	199,85
SD	18,89	42,60	33,86	32,34

$$JK_{\text{total}} = \sum_{l=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK$$

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y_{..}^2}{t \cdot n} = \frac{(1510,32)^2}{4 \times 6} = 95044,44$$

$$JK_{\text{total}} = 56,33^2 + 73,00^2 + \dots + 48,17^2 - 95044,44$$

$$= 2661,71$$

$$JK_{\text{perlakuan}} = \sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{n} - FK$$

$$= \frac{493,15^2 + 419,99^2 + 342,34^2 + 308,84^2}{6} - 95044,44$$

$$= 1926,09$$

$$JK_{\text{sisa}} = JKT - JKP$$

$$= 2661,71 - 1926,09 = 735,62$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

Perlakuan	Rata – rata Perlakuan \bar{X}	Beda (selisih)			BNT 5%
		$\bar{X} - D$	$\bar{X} - C$	$\bar{X} - B$	
K (A) ^a	73,19	21,72*	16,13*	3,2	7,30
P 1 (B) ^a	69,99	18,52*	12,93*		
P 2 (C) ^b	57,06	5,63			
P 3 (D) ^b	51,47				

* berbeda nyata ($p < 0,05$)

Superskrip a,b yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Perlakuan A dan B mempunyai jumlah spermatogonia tertinggi yang berbeda nyata dengan C dan D. sedangkan antara A dengan B maupun C dengan D tidak ada perbedaan yang nyata.

Lanjutan lampiran 3

Selisih Rata-rata Perlakuan

Perlakuan	Rata – rata Perlakuan \bar{X}	Beda (selisih)			BNT 5%
		$\bar{X} - D$	$\bar{X} - C$	$\bar{X} - B$	
P 1 (A) ^a	173,83	67,94*	59,86*	15,75	42,14
K (B) ^a	158,08	52,19*	44,11*		
P 3 (C) ^b	113,97	8,08			
P 2 (D) ^b	105,89				

* berbeda nyata ($p < 0,05$)

Superskrip a,b yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Kesimpulan : Perlakuan A dan B mempunyai jumlah spermatisit primer tertinggi yang berbeda nyata dengan C dan D. sedangkan antara A dengan B maupun C dengan D tidak ada perbedaan yang nyata.

Lanjutan lampiran 4

Selisih Rata-rata Perlakuan

Perlakuan	Rata - rata Perlakuan \bar{X}	Beda (selisih)			BNT 5%
		$\bar{X} - D$	$\bar{X} - C$	$\bar{X} - B$	
K (A) ^a	156,39	59,11*	50,7*	1,84	34,06
P 1 (B) ^a	154,53	57,25*	48,84*		
P 2 (C) ^b	105,69	8,41			
P 3 (D) ^b	97,28				

* berbeda nyata ($p < 0,05$)

Superskrip a,b yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Perlakuan A dan B mempunyai jumlah spermatid tertinggi yang berbeda nyata dengan C dan D. sedangkan antara A dengan B maupun C dengan D tidak ada perbedaan yang nyata.

masing-masing selama 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Mounting : Penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi Canada balsem.