

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN PROSTAGLANDIN E₁ DAN
PROSTAGLANDIN F_{2a} TERHADAP GAMBARAN
HISTOLOGIS TESTES MENCIT
(*MUS MUSCULUS*)**



OLEH :

Dwi Dalupi Estiningsih

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 5**

PENGARUH PEMBERIAN PROSTAGLANDIN E₁ DAN PROSTAGLANDIN F_{2α}
TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGIS TESTES
MENCIT (*MUS MUSCULUS*)

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

DWI PALUPI ESTININGSIH

NIM 069011639

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



Ajik Azmijah, SU., Drh.

Pembimbing Pertama



Moh. Moenif, MS., Drh.

Pembimbing Kedua

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,

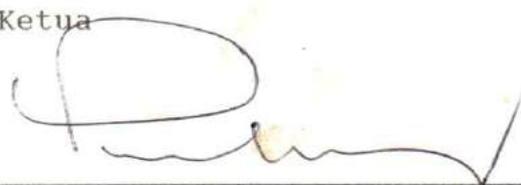


Dr. Bambang Poernomo S., Drh., MS.

Ketua

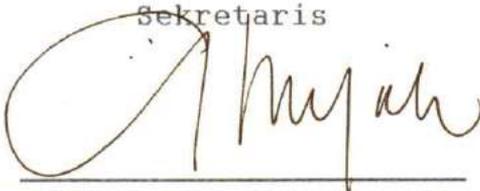


Chairul Anwar, Drh., MS.



Prof. Dr. H. Soehartojo H., MSc.

Sekretaris



Ajik Azmijah, Drh., SU.

Anggota



Moh. Moenif, Drh., MS.

Anggota

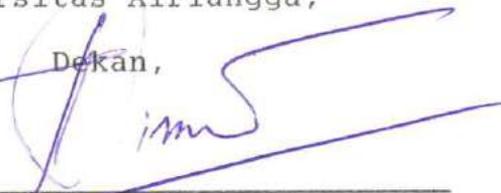
Anggota

Surabaya, 12 Agustus 1995

Fakultas Kedokteran Hewan,

Universitas Airlangga,

Dekan,



Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, MS.

*Persembahan untuk yang tercinta :
Bapak, Ibu, mas Wawan, dik Ony,
dan dik Tony*

Dan carilah, dengan (kekayaan)
Yang dianugerahkan Allah kepadamu,
negeri akhirat,
Dan janganlah lupa bagianmu
di dunia ini,
Berbuatlah baik sebagaimana Allah
berbuat baik kepadamu,
Dan janganlah mencari (kesempatan)
Melakukan kerusakan di muka bumi.
Sungguh, Allah tiada suka orang
yang melakukan kerusakan.

(Alqur'an 28 : 77)

PENGARUH PEMBERIAN PROSTAGLANDIN E_1 DAN PROSTAGLANDIN $F_{2\alpha}$
TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGIS TESTES

MENCIT (*MUS MUSCULUS*)

Dwi Palupi Estiningsih

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan prostaglandin E_1 (PGE_1) dan prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) terhadap diameter tubulus seminiferus dan proses spermatogenesis dengan melihat perubahan gambaran histologis testes mencit.

Sejumlah 50 ekor mencit jantan dewasa kelamin berumur tiga bulan dengan berat badan antara 20-30 gram. Disain percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap yang terbagi menjadi lima kelompok. Setiap kelompok terdiri dari sepuluh ekor dan mendapat satu perlakuan. Data dianalisis menggunakan Analisis Varian (Anava), dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil.

PGE_1 0,75 μ g dan $PGF_{2\alpha}$ 3 μ g diberikan secara subkutan sesuai perlakuan. Kelompok P_0 sebagai perlakuan kontrol, kelompok P_1 pemberian PGE_1 0,75 μ g setiap hari, kelompok P_2 pemberian PGE_1 tiga kali perminggu, kelompok P_3 pemberian $PGF_{2\alpha}$ setiap hari dan kelompok P_4 pemberian $PGF_{2\alpha}$ tiga kali perminggu. Setelah 35 hari, semua mencit dikorbankan untuk pengambilan testes dan dibuat preparat histologis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap diameter tubulus seminiferus, nilai rata-ran tertinggi adalah perlakuan kontrol (P_0). Terendah adalah perlakuan $PGF_{2\alpha}$ setiap hari dan tiga kali perminggu. Terjadi perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) terhadap jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa setelah pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$. Nilai rata-ran tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan kontrol dan terendah adalah perlakuan PGE_1 setiap hari, $PGF_{2\alpha}$ setiap hari dan tiga kali perminggu.

Kesimpulan dari penelitian ini PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ menyusutkan diameter tubulus seminiferus, serta menurunkan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa. $PGF_{2\alpha}$ lebih mampu dalam menghambat spermatogenesis dan tidak tergantung waktu pemberian

KATA PENGANTAR

Penggunaan prostaglandin pada ternak jantan belum banyak dilakukan, meskipun akhir-akhir ini pada manusia telah digunakan sebagai anti impotensi. Prostaglandin ternyata dapat menurunkan kadar testosteron yang tentunya berpengaruh terhadap sistem reproduksi jantan.

Pengamatan pemberian prostaglandin dalam waktu lama dan kontinyu pada mencit jantan serta hasilnya dituangkan dalam tulisan ini.

Segala puji syukur ke hadirat Allah SWT., atas rahmat, hidayah serta inayahNya yang telah dilimpahkan, sehingga penulisan makalah ini dapat terselesaikan.

Penulis dengan hormat menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Ibu Ajik Azmijah, SU., Drh. dan Bapak Moh. Moenif, MS., Drh. selaku pembimbing, atas saran dan bimbingan yang telah diberikan.

Tak lupa penulis sampaikan dengan tulus rasa terima kasih yang mendalam kepada Kakakku E. M. Luqman, Drh., atas kesempatan dan sarana yang diberikan untuk melaksanakan penelitian, juga saran serta dorongan moril hingga penulisan ini dapat terselesaikan. Kepada Bapak Pudji Srianto, MS., Drh, Bapak Imam Mustofa, MS., Drh. dan Bapak Dr. Hardijanto, MS., Drh., terima kasih penulis sampaikan atas waktu yang disediakan untuk mendiskusikan topik penulisan ini.

Rasa hormat dan terima kasih, penulis sampaikan pula kepada Kepala dan staf laboratorium Patologi dan Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, yang turut membantu kelancaran pelaksanaan penelitian hingga dapat dituangkan dalam tulisan ini.

Kepada Bapak dan Ibu serta Saudara-saudaraku tercinta, tulisan ini dengan tulus penulis persembahkan sebagai rasa terima kasih atas doa restu dan dorongan semangat yang telah diberikan. Terima kasih pula kepada Sepupuku Endang Poerwitasari D, Drh. yang telah banyak membantu.

Kepada sahabatku dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu telah banyak membantu, penulis ucapkan terima kasih. Semoga Allah SWT., senantiasa melimpahkan rahmat serta hidayahNya kepada mereka.

Penulis sangat menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Harapan penulis semoga tulisan ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Juni 1995

Penulis

DAFTAR ISI

| | halaman |
|--|-----------|
| DAFTAR TABEL | vii |
| DAFTAR GAMBAR | viii |
| DAFTAR LAMPIRAN | ix |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1. 1. Latar Belakang Permasalahan | 1 |
| 1. 2. Perumusan Masalah | 3 |
| 1. 3. Landasan Teori | 4 |
| 1. 4. Tujuan Penelitian | 4 |
| 1. 5. Manfaat Penelitian | 4 |
| 1. 6. Hipotesis | 5 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2. 1. Tinjauan Umum Prostaglandin | 6 |
| 2. 2. Sistem Reproduksi Hewan Jantan | 9 |
| 2. 2. 1. Anatomi Alat Reproduksi Hewan Jantan | 9 |
| 2. 2. 2. Histologi Testes | 11 |
| 2. 2. 3. Fisiologi Reproduksi Hewan Jantan | 13 |
| 2. 2. 3. 1. Poros Hipotalamus-Hipofisa- Testes | 13 |
| 2. 2. 3. 2. Hormon - hormon Reproduksi Hewan Jantan | 15 |
| 2. 3. Spermatogenesis | 17 |
| 2. 4. Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan | 21 |
| BAB III. MATERI DAN METODE | 23 |
| 3. 1. Tempat dan Waktu Penelitian | 23 |
| 3. 2. Materi Penelitian | 23 |

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 3. 2. 1. | Hewan Percobaan | 23 |
| 3. 2. 2. | Bahan-bahan Penelitian | 23 |
| 3. 2. 3. | Alat Penelitian | 24 |
| 3. 3. | Metode Penelitian | 25 |
| 3. 3. 1. | Persiapan Hewan Percobaan | 25 |
| 3. 3. 2. | Perlakuan Hewan Percobaan | 25 |
| 3. 3. 3. | Pemeriksaan Mikroskopis | 27 |
| 3. 4. | Peubah yang Diamati | 28 |
| 3. 5. | Rancangan Penelitian | 29 |
| 3. 6. | Analisis Data | 29 |
| BAB IV. | HASIL PENELITIAN | 30 |
| 4. 1. | Diameter Tubulus Seminiferus | 30 |
| 4. 2. | Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus | 31 |
| 4. 3. | Jumlah Sel Spermatisit Primer dalam Tubulus Seminiferus | 33 |
| 4. 4. | Jumlah Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus | 34 |
| BAB V. | PEMBAHASAN | 40 |
| BAB VI. | KESIMPULAN DAN SARAN | 50 |
| | RINGKASAN | 52 |
| | DAFTAR PUSTAKA | 54 |
| | LAMPIRAN | 59 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|-------|--|---------|
| 1. | Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Testes Mencit (μ) | 30 |
| 2. | Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ Terhadap Jumlah Sel Spermatogonia | 32 |
| 3. | Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ Terhadap Jumlah Sel Spermatisit Primer | 33 |
| 4. | Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa | 34 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | | Halaman |
|--------|---|---------|
| 1. | Struktur Kimia PGE ₁ dan PGF _{2α} | 7 |
| 2. | Grafik Diameter Tubulus Seminiferus Testes Mencit Kelompok Perlakuan | 35 |
| 3. | Grafik Jumlah Sel Spermatogonia, Sel Spermatisit Primer, Sel Spermatozoa pada Tubulus Seminiferus Testes Mencit Kelompok Perlakuan | 36 |
| 4. | Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P ₀ , (Pewarnaan HE, Pembesaran 450x) | 37 |
| 5. | Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P ₀ , (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x) | 37 |
| 6. | Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P ₁ , (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x) | 38 |
| 7. | Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P ₂ , (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x) | 38 |
| 8. | Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P ₃ , (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x) | 39 |
| 9. | Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P ₄ , (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x) | 39 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | | Halaman |
|----------|---|---------|
| 1. | Evaluasi Statistik Diameter Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE ₁ dan PGF _{2α} Selama 35 hari (μ) . . | 60 |
| 2. | Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE ₁ dan PGF _{2α} selama 35 hari | 64 |
| 3. | Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatozoid Primer dalam Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE ₁ dan PGF _{2α} selama 35 hari | 68 |
| 4. | Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE ₁ dan PGF _{2α} selama 35 hari | 72 |
| 5. | Pembuatan Sediaan Histologis Testes . . | 76 |

BAB I

PENDAHULUAN

1. 1. Latar belakang permasalahan

Proses perkembangbiakan merupakan sifat penting dari makhluk hidup, baik dari golongan rendah maupun golongan tinggi. Hal tersebut disebabkan perkembangbiakan merupakan suatu proses yang menghasilkan keturunan guna mempertahankan hidup suatu jenis ternak. Melalui proses perkembangbiakan suatu makhluk hidup dapat selalu melipatgandakan diri menjadi lebih banyak sehingga dapat mencegah kemungkinan kemusnahan golongan makhluk hidup tersebut (Hardjopranojoto, 1980).

Masalah reproduksi atau perkembangbiakan pada hewan sangat erat hubungannya dengan alat kelamin. Merupakan sesuatu yang khusus dari fungsi tubuh yang secara fisiologis tidak vital bagi kehidupan individual tetapi sangat penting bagi kelanjutan keturunan suatu jenis atau bangsa hewan.

Berbeda dengan penelitian sistem reproduksi betina, maka penelitian mengenai sistem reproduksi jantan agak terbelakang. Hal itu mungkin dikarenakan sistem reproduksi jantan lebih rumit dan berhubungan dengan sikap sosial budaya manusia yang menganggap bahwa pihak betina penting dalam reproduksi (Tadjudin, 1981).

Kasus gangguan reproduksi pada hewan jantan pada dasarnya sama banyak maupun variasi dengan betina. Demikian pula kerugian yang ditimbulkan sehingga menyebabkan penurunan produktivitas. Kemampuan reproduksi pada hewan jantan dari potensi mengawini betina dapat ditinjau dari faktor libido. Penurunan libido disebabkan antara lain oleh gangguan keseimbangan hormon reproduksi, gangguan proses ereksi dan ejakulasi serta berbagai faktor lain (Hardjopranjoto, 1992).

Berbagai pengobatan menggunakan preparat hormonal telah banyak dilakukan guna memulihkan libido seperti testosteron, *follicle stimulating hormone* (FSH), *human chorionic gonadotropin* (HCG), *interstitial cell stimulating hormone* (ICSH) (Hardjopranjoto, 1980).

Fungsi prostaglandin pada mamalia telah diketahui, tetapi hanya sedikit informasi mengenai pengaruh prostaglandin pada sistem reproduksi hewan jantan (Saksena *et al.*, 1973). Penggunaan prostaglandin pada ternak jantan belum banyak dilakukan, sedang pada manusia dalam beberapa tahun terakhir ini prostaglandin E_1 (PGE_1) telah digunakan sebagai suntikan intrakavernosa untuk mengatasi impotensi (Pangkahila, 1994). Penggunaan prostaglandin $F_{2\alpha}$ secara *in vitro* dapat menurunkan laju kecepatan, lama

hidup dan ketahanan sel mani domba (Hardijanto dkk., 1980). Penyuntikan $\text{PGF}_{2\alpha}$ selama lima hari pada mencit menyebabkan panjang dan berat testes berkurang walau secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (Gunarso, 1986). Abbatiello *et al.* (1976) menyatakan bahwa dengan penyuntikan $\text{PGF}_{2\alpha}$ secara sub kutan selama 15 hari menyebabkan hambatan fase meiosis pada proses spermatogenesis. Efek yang ditimbulkan $\text{PGF}_{2\alpha}$ lebih besar dari pada $\text{PGF}_{1\alpha}$. Hasil penelitian prostaglandin sangat bervariasi karena pengaruh fisiologis prostaglandin kadang-kadang paradoksal.

Salah satu efek penggunaan prostaglandin adalah hambatan pembentukan hormon kelamin jantan terutama hormon steroid. Pemberian yang terus menerus dalam waktu lama akan mempengaruhi sistem keseimbangan hormonal dan alat reproduksi jantan yang berpengaruh terhadap proses spermatogenesis.

1. 2. Perumusan masalah

Penggunaan prostaglandin yang menerus dalam selang waktu tertentu dapat mempengaruhi steroidogenesis pada testes. Bila pembentukan hormon steroid pada testes terganggu akan mempengaruhi mekanisme umpan balik pada hipotalamus-hipofisa yang bekerja mengontrol sekresi GnRH, FSH, dan LH.

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas maka dapat dibuat suatu permasalahan sebagai berikut :

Seberapa jauh pengaruh pemberian prostaglandin $F_{2\alpha}$ dan prostaglandin E_1 terhadap diameter tubulus seminiferus, dan proses spermatogenesis dengan melihat perubahan gambaran histologis testes mencit.

1. 3. Landasan Teori

Pemberian prostaglandin pada rodensia dapat mengakibatkan penurunan kadar testosteron dalam plasma (Bartke *et al.*, 1973; Saksena *et al.*, 1973).

1. 4. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan prostaglandin E_1 dan prostaglandin $F_{2\alpha}$ terhadap diameter tubulus seminiferus, dan proses spermatogenesis.

1. 5. Manfaat penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi gambaran akibat penggunaan prostaglandin yang menerus dalam waktu lama terhadap hewan jantan.
2. Mengetahui efek samping yang merugikan dari penggunaan prostaglandin sebagai anti impotensi pada manusia. Bila tidak ada efek merugikan kemungkinan preparat ini dapat digunakan secara luas pada hewan yang mempunyai tipe penis kavernosa.

1. 6. Hipotesis

1. Pemberian prostaglandin E_1 dan prostaglandin $F_{2\alpha}$ setiap hari dan tiga kali perminggu selama 35 hari dapat menyebabkan penyusutan diameter tubulus seminiferus.
2. Pemberian prostaglandin E_1 dan prostaglandin $F_{2\alpha}$ setiap hari dan tiga kali perminggu selama 35 hari dapat menurunkan jumlah sel-sel kelamin yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Tinjauan Umum Prostaglandin

Dalam tahun 1930-an, Kurzrok dan Lieb serta Gold-
blat di Inggris secara terpisah melaporkan aktivitas
kontraksi otot polos uterus akibat zat yang ada dalam
semen. Kemudian Von Euler pada tahun 1935 menamakan zat
aktif tersebut prostaglandin karena diperoleh dari
ekstrak atau sekresi kelenjar prostat vesikula seminalis
manusia dan domba (Inskeep, 1973; Moore, 1984).

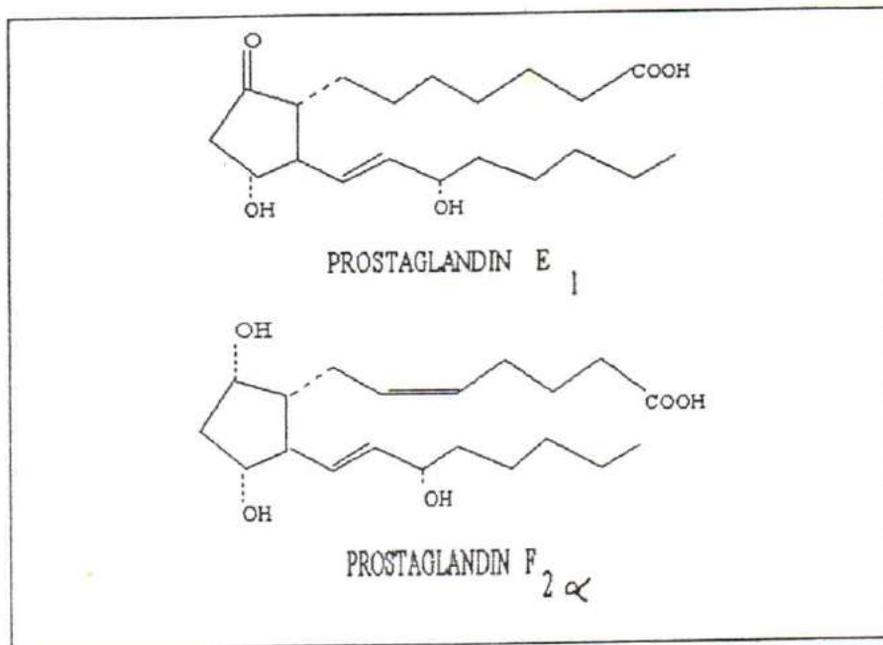
Bergström dan Sjövall pada tahun 1957 melakukan
ekstraksi kelenjar vesikuler domba. Diperoleh dua macam
bentuk prostaglandin yaitu prostaglandin E dan F yang
sekarang disebut PGE_2 dan $PGF_{2\alpha}$ (Moore, 1984).

Meskipun awalnya ditemukan dalam kelenjar asesoris
jantan, sekarang diketahui bila distribusi prostaglandin
terdapat di berbagai organ seperti ginjal, limpa, paru-
paru, timus, iris, tiroid, jaringan lemak, uterus, pla-
senta, mukosa usus, lambung, susunan syaraf pusat, kelen-
jar adrenal, ovarium, cairan amnion, dan lain-lain
(Higgins dan Braunwald, 1972).

Testes merupakan jaringan yang mempunyai kandungan
tinggi asam lemak polienoat yang diketahui menjadi pre-
kursor dari prostaglandin. PGE_1 , PGE_2 , $PGF_{1\alpha}$, $PGF_{2\alpha}$,

telah dibuktikan terdapat pada testes tikus (Carpenter, 1971).

Semua jenis prostaglandin merupakan derivat asam lemak siklik dengan 20 rantai karbon yang dimasukkan kelompok eikosanoat. Berbagai kelompok prostaglandin (A, B, E, dan F) dibedakan berdasarkan variasi ikatan rangkap dan gugus hidroksil dan gugus keton yaitu jumlah dan posisi atom O serta letak ikatan rangkap pada cincin siklopentan. Terdapat enam senyawa E dan F. Prostaglandin E mempunyai gugus keton sedangkan F mempunyai gugus hidroksil pada posisi 9 (Katzung, 1989; Harper, 1987).



Gambar 1. Struktur Kimia PGE₁ dan PGF_{2α}

Prostaglandin menunjukkan aktivitas seperti hormon (Harper, 1987) yang mekanisme kerjanya menyerupai suatu hormon lokal dan tidak terlokalisasi di jaringan tertentu (Hafez, 1987).

Secara garis besar peranan prostaglandin adalah : mempengaruhi kontraksi otot polos, dapat terjadi peningkatan kontraksi ataupun relaksasi tergantung jenis prostaglandin serta organ yang dipengaruhinya; menghambat sekresi lambung; mempengaruhi steroidogenesis di ovarium, adrenalis, dan kemungkinan testes; mempengaruhi ovulasi dan umur korpus luteum; mempengaruhi transmisi impuls syaraf simpatis; potensiasi dengan golongan histamin dan kinin pada *sensory nerveendings (pain)*; mempengaruhi permeabilitas kapiler, leukotaksis dan fragilitas lisosom yang meliputi proses peradangan; mempengaruhi beberapa fungsi sistem syaraf pusat seperti termoregulasi dan beberapa fungsi *brainstem*. Peranan fisiologis yang lain masih belum jelas mekanisme kerjanya (Katzung, dikutip oleh Effendi dkk. (1982)).

Prostaglandin mempunyai peranan yang penting pada kontraksi otot polos sistem reproduksi pada laki-laki yang terjadi selama ejakulasi atau mungkin membantu transport spermatozoa pada sistem reproduksi wanita. Kedua sifat penting prostaglandin yaitu kontraksi dan vasodilatasi otot polos yang erat hubungannya dengan

fungsi seksual (Pramono, 1981)^a. Penggunaan prostaglandin pada ternak jantan belum banyak dilakukan, sedangkan pada manusia dalam beberapa tahun terakhir ini prostaglandin E₁ telah digunakan sebagai suntikan intrakavernosa untuk mengatasi impotensi (Pangkahila, 1994).

2. 2. Sistem Reproduksi Hewan Jantan

2. 2. 1. Anatomi Alat Reproduksi Hewan Jantan

Alat kelamin jantan dibagi menjadi : alat kelamin primer berupa testes dan alat kelamin sekunder berupa saluran-saluran yang menghubungkan testes dengan dunia luar yaitu vas eferens, epididimis, vas deferens, dan uretra yang sebagian terletak di dalam penis. Saluran ini dilengkapi oleh sekelompok kelenjar asesoris (kelenjar kelamin pelengkap) antara lain : vesikula seminalis, prostat, dan bulbo uretralis. Alat kelamin luar yaitu penis yang dipakai menyalurkan spermatozoa keluar, cairan asesoris dari uretra (Mc Keever, 1970; Hardjopranto, 1980).

Testes adalah alat reproduksi primer pada hewan jantan yang pada dasarnya berbentuk oval atau seperti buah *peer* dan terdiri dari tubulus-tubulus yang berliku-liku dan pada kebanyakan mamalia terletak pada daerah prepubis, yang berkembang dari dinding dorsal rongga abdomen pada posisi peritoneal (Bloom and Fawcett, 1970;

Toelihere, 1981). Pada golongan burung dan sebagian mamalia (misalnya gajah dan mamalia laut), testes terletak di dalam rongga badan sebelah depan dari ginjal dengan mesorchium sebagai alat penggantungnya ke bagian dorsal dari rongga badan. Walaupun testes berada dalam rongga badan, tetapi proses spermatogenesis berjalan secara normal (Hardjopranto, 1980). Testes agak bervariasi dari spesies ke spesies dalam hal bentuk, ukuran, dan lokasi, tetapi struktur penyusun utamanya sama (Frandsen, 1974). Besar testes juga dipengaruhi oleh umur, berat badan, kondisi makanan, dan faktor lingkungan (Toelihere, 1981; Salisbury and Van Demark, 1985).

Testes terbungkus dalam kantung skrotum, terdiri dari dua lobus yang masing-masing mengandung satu testes. Pada golongan rodensia, testes dapat dengan mudah berpindah-pindah dari dalam skrotum ke dalam rongga perut. Pada musim kawin testes berada di dalam skrotum sedang di luar musim kawin berada di dalam rongga perut (Hardjopranto, 1980). Pada keadaan normal, kedua testes sama besar, mempunyai konsistensi tidak keras dan dapat bergerak dengan bebas di dalam skrotum (Junquiera *et al.*, 1977). Fungsi dari skrotum adalah membantu memelihara temperatur yang rendah dari testes (empat sampai dengan

tujuh derajat Celcius di bawah temperatur tubuh) dengan jalan kontraksi dan relaksasi dari dinding skrotum tersebut sehingga proses-proses spermatogenesis dapat terjadi sempurna.

2. 2. 2. Histologi Testes

Testes tergantung di dalam skrotum dan langsung diselubungi oleh selaput testes yang terdiri dari tiga lapisan. Lapisan luar atau tunika vaginalis, lapisan tengah atau tunika albuginea, dan lapisan lebih dalam atau tunika vaskulosa (Lesson and Lesson, 1981). Pada sudut posterior dari testes terbungkus juga oleh selaput atau kapsula yang disebut mediastinum testes. Septanya terdiri dari selaput tipis yang disebut septula testes (Bloom and Fawcett, 1970).

Tunika vaginalis terdiri dari satu lapisan sel mesotelium yang sering mengalami kerusakan pada saat membuat sediaan. Lapisan ini duduk diatas suatu lamina basalis (Lesson and Lesson, 1981).

Tunika albuginea adalah lapisan yang tersusun dari jaringan fibroelastis padat dan sel-sel otot polos.

Tunika vaskulosa terdiri dari jaringan yang sangat kompak, serta mempunyai pembuluh darah yang tertanam dalam jaringan ikat areolair halus (Junquiera *et al.*, 1977; Lesson and Lesson, 1981). Jaringan ini adalah

jaringan interstitial yang terdiri dari berbagai jenis sel seperti sel fibroblas, sel mesenkim, makrofag, dan sel interstitial yang disebut sel Leydig. Sel Leydig adalah sel epitel berbentuk bulat atau poligonal dan berinti di tengah serta sitoplasma eosinofil yang banyak mengandung butir-butir lemak (Junquiera *et al.*, 1977).

Septula testes sangat luas dan mengelilingi medias-tenum sampai ke tunika albuginea, membagi testes menjadi 250-270 bagian berbentuk piramid yang disebut lobuli testes. Masing-masing lobuli membentuk satu sampai empat gulungan yang sangat panjang dan disebut tubulus seminiferus (Lesson and Lesson, 1981). Puncak masing-masing lobulus dari tubulus seminiferus melewati tubuli rekti yang merupakan bagian akhir dari sistem duktus ekskretorius, kemudian membelok dan masuk ke rete testes (Bloom and Fawcett, 1970). Pada potongan melintang dari testes maka akan tampak bentukan tubulus yang banyak sekali. Tubulus seminiferus merupakan bagian dari testes yang terdiri dari kelenjar sitogenus dan menghasilkan spermatozoa (Ross and Reith, 1985).

Testes pada dasarnya terbagi menjadi dua bagian utama yaitu tubulus seminiferus dan jaringan interstitial. Tubulus seminiferus terdiri dari tiga lapisan, dari luar ke dalam yaitu tunika propria, membrana basalis, dan lapisan epitelium. Tunika propria terdiri dari beberapa

lapisan fibroblas, berfungsi sebagai alat transportasi sel spermatozoa dari tubulus seminiferus ke epididimis dengan jalan kontraksi, sehingga sel spermatozoa bisa keluar. Epitel tubulus seminiferus terdiri dari dua jenis sel yaitu sel-sel penyokong atau sel Sertoli dan sel-sel spermatogenik atau sel kelamin. Sel-sel spermatogenik tersusun dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruang antara membrana basalis dan lumen tubulus (Junquiera and Carneiro, 1992). Sel Sertoli mempunyai bentukan yang panjang dan kadang-kadang seperti piramid, terletak dekat atau di antara sel-sel spermatogenik. Sel-sel ini bersifat fagosit karena memakan sel-sel spermatozoa yang telah mati atau yang telah mengalami degenerasi (Hardjopranto, 1980). Menurut Lesson dan Lesson (1981), peranan sel Sertoli adalah memberi makanan pada sel spermatogenik dan mensekresikan suatu cairan yang dialirkan ke arah duktus genitalis serta digunakan untuk pengangkutan sel-sel spermatogenik.

2. 2. 3. Fisiologi Reproduksi Hewan Jantan

2. 2. 3. 1. Poros Hipotalamus-Hipofisa-Testes

Testes mempunyai dua fungsi utama yaitu fungsi endokrin dan fungsi reproduktif. Fungsi endokrin dari sistem reproduktif jantan yaitu menghasilkan hormon-hormon steroid (androgen dan estrogen) dan hormon non

steroid (inhibin). Sebagai organ reproduksi maka fungsi testes adalah menghasilkan sel-sel kelamin jantan di tubulus seminiferus. Perkembangan dan fungsi testes dipelihara oleh hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior (Dellman, 1971; Sorensen, 1979).

Hipotalamus merupakan pusat beberapa kegiatan dalam tubuh yaitu : mengatur nafsu makan, keseimbangan air, emosi, dan mengatur aktifitas hipofisa. Hipotalamus dalam sistem reproduksi mamalia berfungsi menghubungkan susunan syaraf pusat (SSP) dan proses reproduksi dengan jalan mengirimkan sinyal-sinyal neurohumoral, yaitu gonadotropin releasing hormon (GnRH) ke hipofisa anterior. GnRH akan merangsang kelenjar hipofisa anterior untuk mengeluarkan hormon gonadotropin yaitu *follicle stimulating hormone* (FSH), dan *luteinizing hormone* (LH) yang selanjutnya akan mempengaruhi testes untuk berfungsi. FSH menstimulir pertumbuhan sel-sel kelamin dari tubulus seminiferus dan mendorong terjadinya proses spermatogenesis secara sempurna. FSH juga akan merangsang sel-sel Sertoli untuk menghasilkan inhibin. LH menstimulir aktivitas dan pertumbuhan sel-sel Leydig dalam jaringan interstitial untuk menghasilkan hormon testosteron. Sebagian dari hormon testosteron ini akan mengalami

proses aromatisasi menjadi estrogen (estradiol 17- β) di dalam sel Sertoli (De Kretser, 1984). Ketiga hormon yang dihasilkan testes ini selanjutnya secara sinergis akan mengadakan umpan balik negatif ke poros hipotalamus-hipofisa anterior untuk menghambat sekresi GnRH dan gonadotropin.

Menurut Soedjiharti Tjondronegoro (1992), testosteron, estrogen, dan inhibin secara bersama-sama menghambat sekresi FSH, sedangkan sekresi LH dihambat secara bersama-sama oleh testosteron dan estrogen. Jadi pada prinsipnya sekresi gonadotropin distimulir oleh hipotalamus dan dihambat oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh testes.

2. 2. 3. 2. Hormon-hormon Reproduksi Hewan Jantan

Hormon-hormon yang berperan dalam sistem reproduksi hewan jantan adalah : hormon yang dihasilkan hipotalamus (GnRH); hormon-hormon yang dihasilkan hipofisa anterior (FSH dan LH); hormon-hormon yang dihasilkan testes, yang terdiri atas hormon steroid (testosteron dan estrogen) dan hormon non steroid (inhibin).

Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)

GnRH dihasilkan oleh badan sel syaraf yang terdapat di daerah preoptik yaitu di bagian anterior hipotalamus (Caldani *et al.*, 1988). GnRH melalui terminal syaraf

yang berakhir di media eminensia disekresikan dalam bentuk pulsus ke dalam sistem portal menuju ke hipofisa anterior untuk merangsang sintesis dan pelepasan hormon-hormon gonadotropin atau FSH dan LH. Menurut Karsch (1984) salah satu faktor yang mempengaruhi sintesis dan pelepasan GnRH adalah neurotransmitter dalam hipotalamus, yang banyak mengandung neurotransmitter mono amine.

Hormon-hormon Gonadotropin

Sintesis dan sekresi gonadotropin (FSH dan LH) dari kelenjar hipofisa anterior dirangsang oleh GnRH yang disekresikan hipotalamus. Respon kedua hormon ini terhadap rangsangan GnRH berbeda. Respon LH dinyatakan dalam bentuk pulsus dimana tiap pulsus LH merupakan akibat rangsangan satu pulsus GnRH dari hipotalamus (Caraty and Locatelli, 1988). Tidak seperti sekresi LH yang episodik, sekresi FSH dari kelenjar hipofisa anterior ke sistem peredaran darah relatif konstan dan konsentrasinya juga relatif konstan selama masa 24 jam (Lincoln and Peetet, 1977).

Hormon-hormon Testes

Sebagai organ endokrin, testes menghasilkan hormon steroid yaitu testosteron, estrogen dan inhibin yang

merupakan hormon non steroid. Testosteron merupakan hormon androgen utama yang sebagian besar dihasilkan di dalam testes dan hanya sedikit dihasilkan diluar testes (korteks adrenal) (Katongole *et al.*, 1974). Testosteron esensial untuk mengontrol sifat seksual sekunder, tingkah laku seksual serta kemampuan fungsional saluran-saluran reproduksi dan kelenjar asesoris (Turner dan Bagnara, 1988). Estrogen (estradiol 17- β) adalah hormon steroid lain yang juga dihasilkan oleh testes melalui proses aromatisasi dari testosteron. Proses ini terjadi di testes, tepatnya di dalam sel Sertoli (De Kretser, 1984). Testosteron dan estrogen secara sinergis mengadakan umpan balik negatif menghambat frekuensi GnRH dan LH.

Istilah inhibin digunakan untuk menunjukkan hormon non steroid dari testes yang secara spesifik menekan sekresi FSH, karena itu organ sasaran dari inhibin adalah hipofisa anterior. Inhibin pada hewan jantan disekresi oleh sel-sel Sertoli di dalam tubulus seminiferus (Au. *et al.*, 1984). Bersama hormon-hormon steroid, inhibin akan mengadakan interaksi sinergis untuk menghambat sekresi FSH.

2. 3. Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan suatu proses pembentukan sel spermatozoa di dalam tubulus seminiferus yang terjadi

secara berkala setelah hewan mencapai dewasa kelamin. Proses ini disebut juga siklus epitel seminiferus, yang merupakan rangkaian perubahan pematangan pada daerah epitel germinativum. Spermatogenesis dapat dibagi dalam dua fase. Fase pertama adalah spermatositogenesis, suatu rangkaian pembelahan dari spermatogonia menjadi spermatid. Fase kedua adalah spermiogenesis dimana spermatid akan mengalami metamorfosa menjadi spermatozoa (Junquiera and Carneiro, 1992).

Pada proses spermatogenesis, sel-sel kelamin menjadi spermatozoa akan mengalami tahapan-tahapan pembelahan sel sebagai berikut : mitosis dari spermatogonium menjadi spermatosit primer, meiosis pertama dari spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder, meiosis kedua dari spermatosit sekunder menjadi spermatid, perubahan morfologi dari spermatid menjadi spermatozoa (Hafez, 1970). Dengan terbentuknya spermatozoa menandakan bahwa spermatogenesis telah berakhir dan spermatozoa yang semula melekat pada sel Sertoli akan melepaskan diri masuk ke lumen tubulus seminiferus.

Sel yang melapisi tubulus seminiferus terutama memunculkan spermatozoa disebut spermatogonia. Sel-sel primitif ini berada pada membrana basalis tubulus seminiferus (Breazile, 1971). Ia merupakan sel yang relatif

kecil, intinya mengandung kromatin tak teratur dan membentuk kelompok-kelompok kasar. Pada masa pubertas, spermatogonium ini mengalami serangkaian mitosis berturut-turut dan sel-sel yang baru terbentuk dapat mengikuti salah satu dari dua jalan : mereka dapat melanjutkan pembelahan mitosis dan berfungsi sebagai salah satu sel induk sumber dari spermatogonia, disebut spermatogonia A; atau mereka dapat membelah dan tumbuh menjadi lebih besar daripada spermatogonium induk disebut spermatogonia B. Spermatogonia B akan menjadi spermatosit primer.

Spermatosit primer adalah sel yang terbesar diantara sel-sel kelamin lainnya dan ditandai dengan kromosom di inti. Segera setelah spermatosit primer terbentuk, akan terjadi pembelahan meiosis yang pertama. Pada tahap profase pertama, sel melewati empat stadium yaitu leptoten, zigoten, pakiten, diploten dan akan mencapai stadium diakinesis yang menghasilkan pemisahan kromosom. Pembelahan ini menghasilkan sel-sel yang lebih kecil yang disebut spermatosit sekunder. Sel ini sukar ditemukan dalam potongan testes, karena dengan cepat akan mengalami pembelahan meiosis kedua menjadi spermatid.

Sel spermatid ini berukuran kecil dan mempunyai inti dengan kromatin yang padat, terletak dekat bagian tengah tubulus seminiferus. Dengan terbentuknya spermatid, maka spermatositogenesis berakhir. Setelah itu spermatid

mengalami proses diferensiasi yang kompleks yang disebut spermiogenesis (Junquiera dan Carneiro, 1992).

Spermiogenesis adalah suatu istilah yang dipakai untuk peristiwa metamorfosis dan perubahan spermatid menjadi spermatozoa dari spermatozoa muda (Salisbury and Van Demark, 1985). Inti sel dari spermatid akan terletak pada bagian anterior dari sel, badan Golgi mengumpul pada bagian depan nukleus dan kemudian memipih bentuknya. Terbentuk pula vakuola yang berisi granula kromosom. Setelah itu badan Golgi berpindah ke arah posterior, dan terbentuk *accessory body* yang akhirnya menjadi bagian dari leher spermatozoa. Pada saat yang bersamaan, terbentuk sentriol. Bagian depan sentriol tetap melekat pada kepala, sedang sentriol ke arah belakang berada pada leher, mempunyai bentuk seperti cincin. Mitokondria kemudian berkumpul pada bagian posterior dari kepala spermatozoa (Hardjopranjoto, 1980). Terbentuknya spermatozoa menunjukkan bahwa spermatogenesis telah berakhir dan spermatozoa yang semula melekat pada sel Sertoli akan melepaskan diri masuk ke lumen tubulus seminiferus.

Hafez (1970) menyatakan bahwa panjang siklus spermatogenesis lengkap pada tikus (*rat*) berkisar antara 48 sampai 52 hari dan terdapat 14 stadium. Lama siklus ini bervariasi antara strain rodensia yang satu dengan yang lainnya, tetapi tetap pada strain rodensia yang sama.

Menurut Wittingham dan Wood (1983) pada mencit proses mitosis membutuhkan waktu delapan hari, sedangkan proses meiosis berlangsung 13 hari dan proses spermiogenesis 13,5 hari. Maka lama siklus spermatogenik lengkap pada mencit adalah 34,5 hari.

2. 4. Fisiologi Reproduksi Mencit Jantan

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan coba terkecil yang digunakan di laboratorium dibandingkan hewan percobaan lainnya. Mencit merupakan salah satu hewan percobaan yang sering digunakan untuk penelitian zat yang berpengaruh terhadap fertilitas.

Masa dewasa kelamin ditandai dengan turunnya testes ke dalam skrotum, dicapai setelah berumur sekitar 35 - 40 hari, namun dapat dikawinkan pada umur sekitar delapan minggu (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Menurut Hafez (1970), masa dewasa kelamin ditandai dengan tanda-tanda kelamin sekunder dan libido mulai tampak, seperti mengejar serta menggigit kepala atau badan mencit betina juga mencium (memeriksa) bagian luar alat kelamin betina. Tingkah laku kopulasi dimulai pada waktu pejantan menaiki betina dari bagian belakang dan menjepit dengan kaki depannya pada bagian laterolumbal.

Siklus spermatogenik pada tikus dan mencit dimulai pada masa pubertas bersamaan dengan penurunan testes ke

dalam skrotum. Waktu siklus spermatogenesis adalah konstan. Pada mencit proses mitosis membutuhkan waktu delapan hari, sedangkan proses meiosis berlangsung 13 hari dan proses spermiogenesis 13,5 hari (Hafez, 1970; Wittingham and Wood, 1983). Siklus spermatogenik yang berlangsung selama 34,5 hari ini terbagi atas empat fase dan 16 tahap. Menurut Oakberg yang dikutip oleh Bennet dan Vickery (1970) empat fase tersebut adalah fase golgi, fase penutup, fase akrosom dan fase maturasi.

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3. 1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pemberian perlakuan dilakukan di kandang Laboratorium Produksi Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan sediaan histologis dan pemeriksaan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pelaksanaan penelitian dimulai pada tanggal 1 September 1994 sampai dengan 31 Januari 1995.

3. 2. Materi Penelitian

3. 2. 1. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini 50 ekor mencit jantan yang sudah dewasa kelamin, dengan berat badan antara 20-30 gram, berumur tiga bulan, dan belum pernah dikawinkan. Mencit-mencit tersebut dibeli dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

3. 2. 2. Bahan-bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah: prostaglandin E₁ (SIGMA), prostaglandin F_{2α} (Glandin-Intervet), NaCl fisiologi dan etanol absolut sebagai bahan pengencer, alkohol 70 %, akuades steril, kapas steril, larutan *Bouin* untuk fiksasi testes, bahan-bahan untuk pembuatan sediaan histologis yaitu alkohol

70%, 80%, 95%, dan absolut, larutan xylol, parafin, zat warna Hematoxylin Eosin (HE) serta Canada balsam, pakan ayam bentuk pelet dengan kode Par-G sebagai pakan mencit, air kran PDAM untuk minuman, kloroform untuk mengorbankan mencit sebelum dilakukan pengambilan testes.

3. 2. 3. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: kandang mencit sebanyak 25 buah yang terbuat dari kotak plastik segi empat dengan tutup dari kawat kasa, setiap kandang dibagi menjadi dua ruangan masing-masing ruangan berisi satu ekor mencit; tempat makanan dan minuman terbuat dari plastik; *syringe disposable tuberculine* 1 ml; pinset; skalpel; dan gunting anatomi untuk mengambil testes mencit; pot obat plastik 50 gr untuk tempat testes setelah dikeluarkan dari skrotum mencit; sarung tangan; tabung reaksi untuk menyimpan $\text{PGF}_{2\alpha}$; kryotube 1,8 ml untuk menyimpan PGE_1 ; alat untuk pembuatan sediaan histologi yaitu : mikrotom, gelas obyek, gelas penutup, dan alat dehidrasi manual; mikroskop serta mikrometer okuler untuk mengukur diameter tubulus seminiferus, dan menghitung sel-sel spermatogenik; gelas piala 250 cc; pipet hisap 1 ml dan 10 ml; alat tulis dan dokumentasi.

3. 3. Metode Penelitian

3. 3. 1. Persiapan Hewan Percobaan

Sebelum mencit-mencit mendapat perlakuan, menunjukkan semua dalam keadaan sehat. Setelah dilakukan pemeriksaan dari luar, dilihat dari bulu, mata, gerakan yang lincah serta feses mencit. Dari 50 ekor mencit dibagi secara acak menjadi lima kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 10 ekor dan mendapat satu perlakuan. Masing-masing mencit dimasukkan ke dalam kandang yang sudah disiapkan dan dibersihkan serta dilengkapi dengan tempat makan dan minum, kemudian mencit-mencit tersebut diadaptasikan selama dua minggu di dalam kandang tersebut. Pemberian makan dan minum secara *ad libitum*.

3. 3. 2. Perlakuan Hewan Percobaan

Selesai masa adaptasi, kelima kelompok mencit tersebut diberi perlakuan sebagai berikut :

- | | | |
|---------------------------------|---|--|
| Kelompok Kontrol (P_0) | : | tanpa perlakuan. |
| Kelompok Perlakuan (P_1) | : | 10 ekor mencit jantan disuntik secara subkutan dengan PGE_1 0,75 μ g setiap hari selama 35 hari. |
| Kelompok Perlakuan II (P_2) | : | 10 ekor mencit jantan disuntik secara sub |

- kutan dengan PGE_1 0,75 μ g tiga kali perminggu selama 35 hari.
- Kelompok Perlakuan III (P_3) : 10 ekor mencit jantan disuntik secara subkutan dengan $PGF_{2\alpha}$ 3 μ g setiap hari selama 35 hari.
- Kelompok Perlakuan IV (P_4) : 10 ekor mencit jantan disuntik secara subkutan dengan $PGF_{2\alpha}$ 3 μ g tiga kali perminggu selama 35 hari.

Dosis PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ yang diberikan pada mencit secara subkutan, satu dosis $PGF_{2\alpha}$ 3 μ g, dan PGE_1 0,75 μ g (Karim, 1976). Perlakuan diberikan selama 35 hari yaitu lama satu siklus spermatogenesis pada mencit.

Cara memberikan suntikan PGE_1 maupun $PGF_{2\alpha}$ yaitu mencit diletakkan di atas kandang supaya tidak bergerak, dipegang diantara jari tengah dan ibu jari pada lipatan kulit tengkuk. Ekornya dipegang pada pertengahan pangkal ekor dengan jari kelingking tangan yang sama, kemudian suntikan dilakukan secara subkutan pada lipatan tengkuk (Smith dan Mangkuwidjojo, 1988).

Setelah semua perlakuan telah diberikan selama 35 hari mencit-mencit dari semua kelompok dikorbankan dengan cara memasukkan mencit ke dalam toples kaca berisi kapas yang telah dibasahi kloroform, segera setelah mencit tersebut mati, maka dilakukan pembedahan untuk mengambil testes. Mulai dengan membuat sayatan memanjang pada kulit daerah abdominal, dinding perut dibuka, organ-organ lain disisihkan. Kedua testesnya dipisahkan dan diambil secara *legeartis*. Testes yang telah dipisahkan dan dibebaskan dari jaringan sekitarnya, dimasukkan ke dalam pot obat yang berisi larutan *Bouin*.

Kemudian dilakukan pembuatan sediaan histologis di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3. 3. 3. Pemeriksaan Mikroskopis

Setelah sediaan histologi selesai dibuat, maka dilakukan pemeriksaan mikroskopis untuk pengukuran diameter tubulus seminiferus digunakan pembesaran 100x, sedang untuk penghitungan jumlah sel-sel kelamin digunakan pembesaran 450x. Pengukuran dan penghitungan tersebut dilakukan pada enam potongan tubulus yang berbeda setiap ulangan dari masing-masing perlakuan. Hasilnya diambil rata-rata jumlah masing-masing penghitungan (Henny Tedja, 1993).

Diameter tubulus seminiferus diukur dengan menggunakan mikrometer okuler dari mikroskop yang telah dikalibrasi yaitu ditentukan berapa mikron jarak antara garis-garis melintang dari mikrometer okuler mikroskop tersebut (Tampubolon, 1988). Jarak satu bagian dari skala mikrometer okuler adalah 6,8 μ . Ukuran diameter tubulus seminiferus sebenarnya adalah panjang skala yang terlihat pada mikroskop dikalikan dengan 6,8 μ .

3. 4. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati terhadap gambaran histologis testes mencit meliputi:

Diameter tubulus seminiferus. Diukur dari membrana basalis sampai membrana basalis sisi yang lain sebanyak enam potongan.

Penghitungan jumlah sel-sel kelamin dilakukan pada enam potongan tubulus seminiferus.

Sel spermatogonia. Letaknya paling dekat dengan membrana basalis tubulus seminiferus dan merupakan sel asal dari rantai spermatogenesis. Inti bulat dan banyak mengandung kromatin.

Sel spermatosit primer. Sel ini merupakan sel yang besar dan lokasinya lebih ke tengah tubulus seminiferus dibandingkan dengan letak spermatogonia (Dellmann, 1971).

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 (Dellmann, 1971).

3. 5. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hasil perbedaan antar perlakuan hanya disebabkan oleh pengaruh perlakuan dan pengaruh acak saja (Kusriningrum, 1989).

3. 6. Analisis Data

Data hasil penelitian tersebut dianalisis dengan menggunakan F_{tabel} dan dibandingkan dengan F_{hitung} dari Sidik Ragam (Analisis Varian).

Kriteria uji dengan Anava adalah sebagai berikut : bila F_{hitung} lebih besar daripada F_{tabel} 5% berarti ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Bila F_{hitung} lebih kecil daripada F_{tabel} 5% berarti tidak ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan.

Adanya perbedaan yang bermakna dalam pengujian Anava akan dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk membandingkan pengaruh perlakuan-perlakuan tersebut (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil pengamatan terhadap beberapa peubah testes mencit setelah pemberian prostaglandin E_1 0,75 μg (PGE_1), prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) 3 μg , dan kontrol selama 35 hari, akan diuraikan pada beberapa sub bab dibawah ini, dengan data yang disajikan dalam bentuk Tabel. Perubahan yang terjadi pada testes dapat diikuti pada Gambar (lihat Gambar 2-9).

4. 1. Diameter Tubulus Seminiferus

Pemberian PGE_1 0,75 μg setiap hari (P_1) dan tiga kali perminggu (P_2), $\text{PGF}_{2\alpha}$ 3 μg setiap hari (P_3) dan tiga kali perminggu (P_4) menyebabkan penyusutan atau pengecilan diameter tubulus seminiferus bila dibandingkan dengan kontrol (P_0). Data penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $\text{PGF}_{2\alpha}$ Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Testes Mencit (μ)

| Perlakuan | Diameter Tubulus Seminiferus ($\bar{x} \pm \text{SD}$) |
|---|---|
| P_0 (Kontrol) | 167,27 \pm 12,477 ^a |
| P_1 (PGE_1 setiap hari) | 160,523 \pm 9,323 ^{ab} |
| P_2 (PGE_1 3 kali/minggu) | 161,172 \pm 8,276 ^{ab} |
| P_3 ($\text{PGF}_{2\alpha}$ setiap hari) | 154,529 \pm 9,394 ^b |
| P_4 ($\text{PGF}_{2\alpha}$ 3 kali/minggu) | 156,343 \pm 7,614 ^b |

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

Hasil Analisis Varian menunjukkan ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dari kelima perlakuan tersebut (lihat Lampiran 1). Hal ini berarti pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ berpengaruh terhadap diameter tubulus seminiferus testes mencit. Hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa rata-rata diameter tubulus seminiferus yang tertinggi didapatkan pada mencit perlakuan kontrol (P_0) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan PGE_1 setiap hari (P_1) dan PGE_1 tiga kali perminggu (P_2). Rata-rata diameter tubulus seminiferus terendah didapatkan pada perlakuan $PGF_{2\alpha}$ setiap hari (P_3) dan tiga kali perminggu (P_4) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan P_2 dan P_1 .

4. 2. Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus

Rataan jumlah sel spermatogonia yang diberi PGE_1 setiap hari (P_1) dan tiga kali perminggu (P_2), $PGF_{2\alpha}$ 3 μ g setiap hari (P_3) dan tiga kali perminggu (P_4) dibandingkan dengan kontrol (P_0) selama 35 hari dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ Terhadap Jumlah Sel Spermatogonia

| Perlakuan | Jumlah Sel Spermatogonia ($\bar{x} \pm SD$) |
|---|--|
| P ₀ (Kontrol) | 39,718 ± 4,326 ^a |
| P ₁ (PGE_1 setiap hari) | 28,351 ± 4,117 ^{bc} |
| P ₂ (PGE_1 3 kali/minggu) | 32,299 ± 6,063 ^b |
| P ₃ ($PGF_{2\alpha}$ setiap hari) | 29,066 ± 1,989 ^{bc} |
| P ₄ ($PGF_{2\alpha}$ 3 kali/minggu) | 28,676 ± 3,088 ^{bc} |

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

Terlihat pada Tabel 2 ada penurunan rata-rata jumlah sel spermatogonia antara perlakuan dibandingkan kontrol. Setelah diuji dengan Analisis Varian (Anava) menunjukkan ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dari kelima perlakuan (lihat Lampiran 2). Hal ini berarti ada pengaruh pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ terhadap penurunan rata-rata jumlah sel spermatogonia. Hasil uji BNT memperlihatkan bahwa rata-rata jumlah sel spermatogonia tertinggi didapatkan pada mencit perlakuan kontrol (P₀) dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Hasil terendah didapatkan pada perlakuan PGE_1 yang diberikan setiap hari (P₁), $PGF_{2\alpha}$ yang diberikan setiap hari (P₃) dan tiga kali perminggu (P₄) yang tidak berbeda dengan nyata dengan PGE_1 yang diberikan tiga kali perminggu (P₂).

4. 3. Jumlah Sel Spermatoosit Primer dalam Tubulus Seminiferus

Rataan jumlah sel spermatoosit primer pada mencit setelah 35 hari diberi PGE₁ 0,75 µg setiap hari (P₁) dan tiga kali perminggu (P₂), PGF_{2α} 3 µg setiap hari (P₃) dan tiga kali perminggu (P₄) dan kontrol (P₀) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Pemberian PGE₁ dan PGF_{2α} Terhadap Jumlah Sel Spermatoosit Primer

| Perlakuan | Jumlah Sel Spermatoosit Primer ($\bar{x} \pm SD$) |
|--|--|
| P ₀ (Kontrol) | 53,017 ± 12,124 ^a |
| P ₁ (PGE ₁ setiap hari) | 33,517 ± 6,267 ^c |
| P ₂ (PGE ₁ 3 kali/minggu) | 44,732 ± 6,885 ^b |
| P ₃ (PGF _{2α} setiap hari) | 31,149 ± 5,586 ^c |
| P ₄ (PGF _{2α} 3 kali/minggu) | 32,783 ± 6,343 ^c |

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

Dapat dilihat pada Tabel 3 ada penurunan rata-rata jumlah sel spermatoosit primer pada tubulus seminiferus mencit setelah perlakuan. Hasil Analisis Varian menunjukkan ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dari kelima perlakuan (lihat Lampiran 3). Uji BNT menunjukkan bahwa mencit pada perlakuan kontrol (P₀) mempunyai rata-rata jumlah sel spermatoosit primer tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Rataan jumlah sel spermatoosit primer terendah terdapat dalam tubulus seminiferus

testes mencit perlakuan PGE_1 setiap hari (P_1), $PGF_{2\alpha}$ setiap hari (P_3) dan tiga kali perminggu (P_4).

4. 4. Jumlah Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus

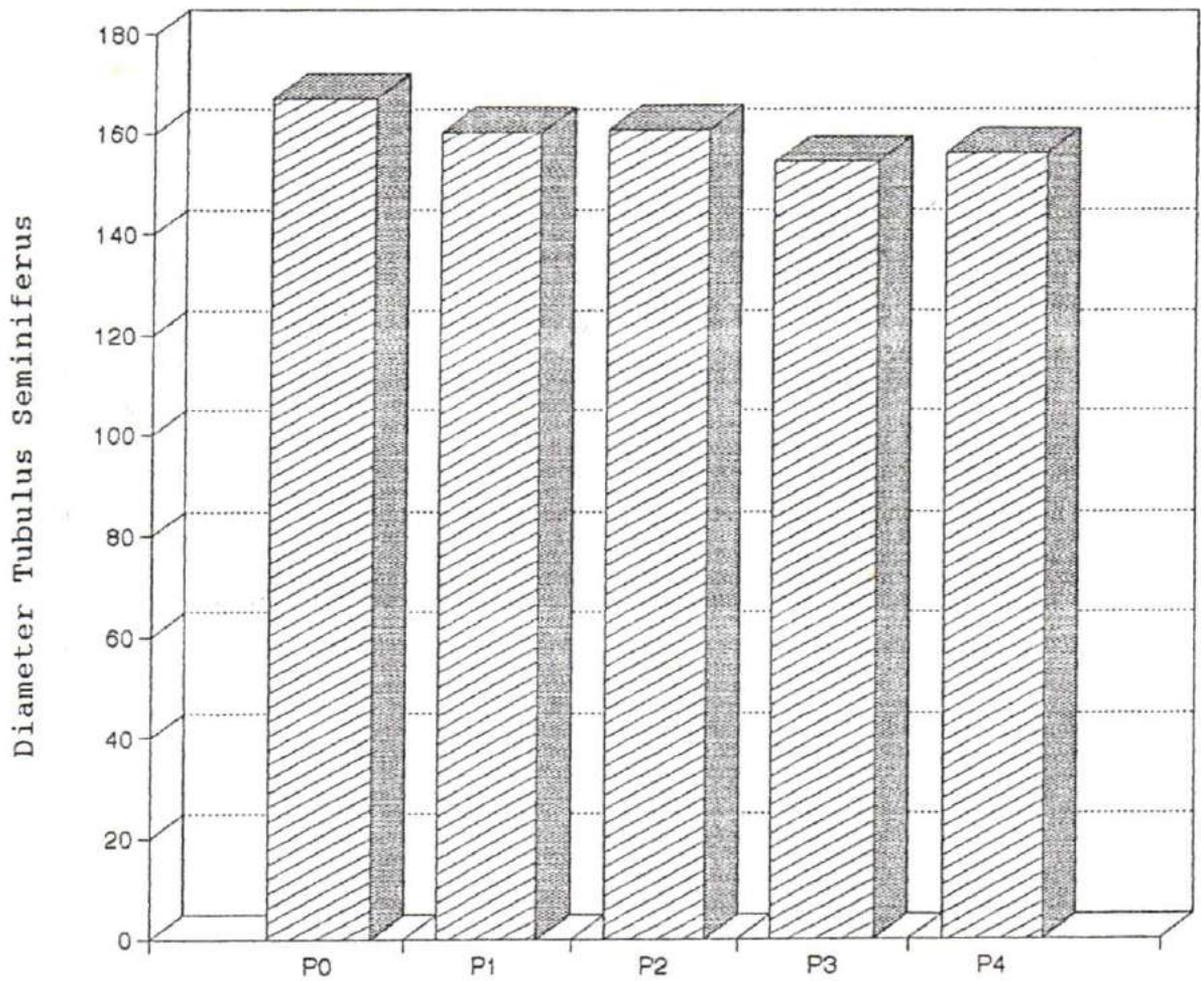
Pemberian PGE_1 setiap hari (P_1) dan tiga kali perminggu (P_2), $PGF_{2\alpha}$ setiap hari (P_3) dan tiga kali perminggu (P_4) dibandingkan dengan kontrol (P_0) terhadap rata-rata jumlah sel spermatozoa tubulus seminiferus mencit dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa

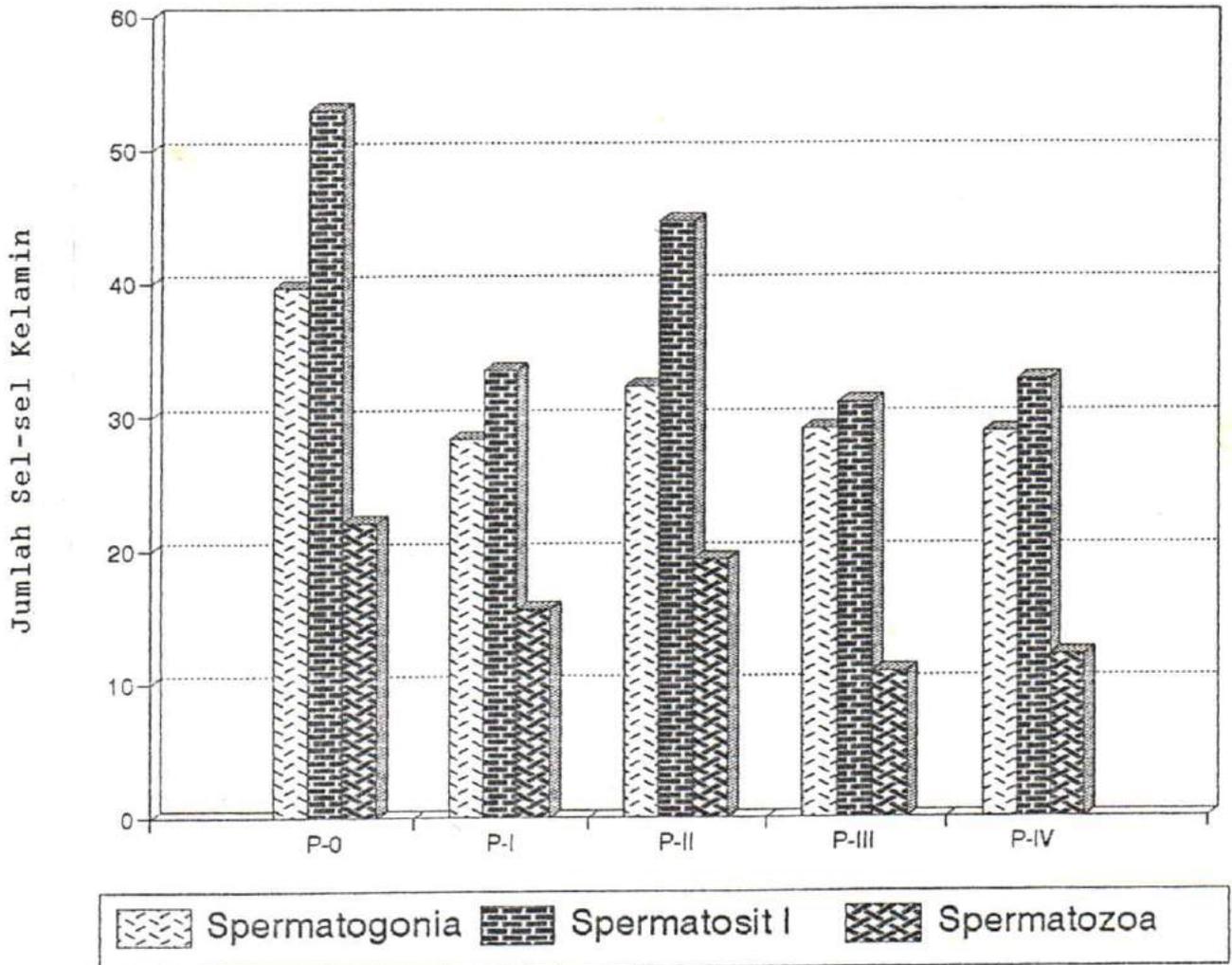
| Perlakuan | Jumlah Sel Spermatozoa ($\bar{x} \pm SD$) |
|--|--|
| P_0 (Kontrol) | 22,984 \pm 6,722 ^a |
| P_1 (PGE_1 setiap hari) | 15,540 \pm 7,086 ^{bc} |
| P_2 (PGE_1 3 kali/minggu) | 19,368 \pm 3,257 ^{ab} |
| P_3 ($PGF_{2\alpha}$ setiap hari) | 10,799 \pm 2,357 ^d |
| P_4 ($PGF_{2\alpha}$ 3 kali/minggu) | 12,046 \pm 3,008 ^{cd} |

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

Hasil Analisis Varian menunjukkan ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dari kelima perlakuan tersebut (lihat Lampiran 4). Uji BNT menunjukkan hasil bahwa rata-rata jumlah sel spermatozoa tertinggi adalah perlakuan kontrol (P_0), tidak berbeda nyata dengan perlakuan PGE_1 tiga kali perminggu (P_2). Rataan jumlah sel spermatozoa terendah adalah $PGF_{2\alpha}$ setiap hari (P_3) tidak berbeda nyata dengan $PGF_{2\alpha}$ tiga kali perminggu (P_4).



Gambar 2 : Grafik Diameter Tubulus Seminiferus Testis Mencit kelompok perlakuan



Gambar 3 : Grafik jumlah Sel Spermatogonia, Sel Spermatisit I, Sel Spermatozoa pada Tubulus Seminiferus Testis Mencit kelompok perlakuan

Gambar 4. Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P₀, Tidak Terjadi Hambatan Spermatogenesis (Pewarnaan HE, Pembesaran 450x). Keterangan: A= Spermatogonia; B= Spermatisit Primer; C= Spermatozoa.

Gambar 5. Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testes Mencit Kelompok P₀, Tidak Terjadi Hambatan Spermatogenesis (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x). Keterangan: Garis _ _ _ = Diameter tubulus seminiferus

Gambar 6. Terjadi Penurunan Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P₁, pada A Jarang Dijumpai Sel Spermatozoa. (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x).

Gambar 7. Terjadi Penurunan Jumlah Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P₂, Terlihat Lumen Tubulus Lebih Lebar dari pada P₀ (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x).

Gambar 8. Terlihat Hanya Sel Spermatogonia dan Sel Spermatisit Primer Dalam Satu Tubulus Seminiferus, pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P₃, (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x).

Gambar 9. Terjadi Penurunan Jumlah Sel-sel Kelamin pada Irisan Melintang Testes Mencit Kelompok P₄, (Pewarnaan HE, Pembesaran 100x). Diameter Tubulus Mengecil.

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian prostaglandin E_1 (PGE_1) dan prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF_2) selama 35 hari pada mencit jantan mengakibatkan penyusutan diameter tubulus seminiferus dan penurunan jumlah sel-sel kelamin yaitu sel spermatogonia, spermatisit primer, dan spermatozoa.

Susutnya ukuran diameter tubulus seminiferus dapat diartikan bahwa sekresi hormon LH dan FSH dari hipofisa anterior terganggu sehingga tidak cukup untuk memelihara fungsi testes. Menurut Pramono (1981)^b respon awal gangguan tersebut adalah tubulus seminiferus mengecil dilanjutkan degenerasi elemen intra sel dan fibrosis peritubulus. Pertumbuhan yang normal dari tubulus seminiferus membutuhkan FSH, ICSH (LH) dan testosteron (Hardjopranjoto, 1980). Menurut Peterson, dikutip oleh Nalbandov (1990) peristiwa-peristiwa anabolik pubertas pada laki-laki adalah bertambahnya masa otot, tumbuhnya testes dan skrotum diinduksi oleh testosteron.

Penyusutan atau pengecilan diameter tubulus seminiferus seperti ditunjukkan dalam hasil penelitian (lihat Tabel 1) disebabkan sel-sel kelamin banyak yang gagal berkembang, terlihat dalam penelitian ini pemberian PGE_1

dan $\text{PGF}_{2\alpha}$ menurunkan rata-rata jumlah sel-sel kelamin (lihat Tabel 2-4). Hal ini sejalan dengan pernyataan Steinberger (1978) dan Sarmanu (1988) bahwa penyusutan ukuran diameter tubulus seminiferus dapat disebabkan pengecilan sel-sel penyusun dinding tubulus seminiferus karena banyak sel-sel kelamin yang gagal berkembang.

Testosteron dalam kadar yang tinggi diperlukan dalam proses spermatogenesis. Pemberian prostaglandin yang dapat menurunkan kadar testosteron (Bartke *et al.*, 1973; Saksena *et al.*, 1973) secara tidak langsung menghambat pula proses spermatogenesis. Stress akibat pemberian prostaglandin dalam waktu lama disertai gangguan keseimbangan kontrol hormonal pada sistem reproduksi hewan jantan menyebabkan fungsi testes menurun sehingga diameter tubulus seminiferus mengalami pengecilan pula.

Nalbandov (1990) berpendapat bahwa kadar FSH yang meningkat dapat menyebabkan diameter tubulus seminiferus bertambah panjang. Terdapat korelasi negatif antara kadar FSH dengan berbagai kerusakan tubulus seminiferus (De Kretser, 1984). Hal ini dikarenakan produksi inhibitor oleh testes berhenti, suatu substansi yang secara selektif menekan sintesis dan pelepasan FSH basal, yang dalam dosis tinggi baru dapat menyebabkan tekanan pada LH. Peningkatan LH dan FSH bila dikaitkan dengan

penurunan testosteron akibat pemberian prostaglandin pada penelitian ini tidak meningkatkan perkembangan testes yaitu ukuran diameter tubulus seminiferus bertambah dibandingkan dengan kontrol, karena ada faktor spesifik yang masih mampu menekan sintesis dan pelepasan FSH secara *in vivo* dan *in vitro* yaitu inhibin.

Dari data hasil penelitian terlihat bahwa $PGF_{2\alpha}$ menunjukkan perbedaan yang lebih nyata daripada PGE_1 dibandingkan kontrol dalam hal pengecilan diameter tubulus seminiferus (lihat Gambar 2). Sesuai dengan penjelasan Saksena *et al.* (1973) bahwa $PGF_{2\alpha}$ mengakibatkan penurunan kadar testosteron yang nyata sedangkan pada PGE_1 atau $PGF_{1\alpha}$ penurunan testosteron tidak begitu jelas namun dalam dosis yang cukup dapat juga menurunkan kadar testosteron. Kadar testosteron yang rendah pada kelompok dengan diterapi PGE_1 menyebabkan penurunan yang tidak berarti dibandingkan kontrol, karena sedikit berpengaruh pada diameter tubulus seminiferus.

Karsch (1984) menyatakan bahwa induksi spermatogenesis selama masa pubertas membutuhkan gonadotropin yaitu FSH dan ICSH (LH). Kerja LH secara tidak langsung yaitu melalui stimulasi pada sel-sel Leydig untuk memproduksi hormon testosteron. Menurut Abbatiello *et al.* (1976)

spermatogenesis tergantung pada testosteron yang berdifusi dari sel-sel interstisial di testes menuju ke tubulus seminiferus. Respon pertama kali ditunjukkan oleh epitel germinativ bila terdapat perbedaan kadar testosteron.

Prostaglandin bekerja menghambat sintesis testosteron sehingga menekan proses spermatogenesis. Pembentukan testosteron dan spermatogenesis adalah suatu proses yang saling berhubungan (De Kretser, 1984), dibuktikan pada hasil penelitian dengan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, spermatozoa. $\text{PGF}_{2\alpha}$ dan PGE_1 menimbulkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan jumlah sel-sel kelamin dibandingkan kontrol. Sejalan dengan pernyataan Abbatiello *et al.* (1976) bahwa epitel germinativ lebih sensitif terhadap perubahan kadar testosteron.

Prostaglandin E_1 dan prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ menyebabkan penurunan rata-rata jumlah sel spermatogonia. Kadar testosteron yang rendah akibat pemberian prostaglandin ini tidak mampu merangsang sel kecambah untuk menjadi spermatogonia.

Diuraikan oleh Nalbandov (1990) bahwa perubahan sel kecambah menjadi spermatogonia dipengaruhi oleh testosteron sebagai hormon utama testes. Testosteron

diperlukan dalam jumlah tinggi pada testes untuk keberhasilan spermatogenesis. Testosteron menstimulasi sel-sel Sertoli karena sel-sel germinativ tidak mempunyai reseptor terhadap testosteron. Pada sel spermatogonia terdapat reseptor FSH (Mc Donald, 1990).

Tony Means dan Claire Huckins dikutip oleh De Kretser (1984) menduga bahwa FSH menurunkan persentase sel-sel germinativ yang secara normal akan berdegenerasi selama proses spermatogenesis. Testosteron membuat epitel germinativ dari tubulus seminiferus bereaksi terhadap FSH. FSH penyebab spermatogenesis dimulai dengan pembelahan di sel spermatogonia (Salisbury dan Van Demark, 1984). Kadar testosteron yang rendah membuat epitel germinativ responnya kurang peka terhadap FSH sehingga pembelahan sel spermatogonia dihambat.

Dalam penelitian ini terjadi penurunan rata-rata jumlah sel spermatosit primer. Penurunan rata-rata jumlah sel spermatogonia dan kegagalan sel spermatogonia membelah diri secara mitosis menyebabkan rata-rata jumlah sel spermatosit primer menurun.

Kadar testosteron yang rendah tidak cukup merangsang perubahan sel spermatogonia menjadi sel spermatosit primer. Beberapa kali pemberian dalam interval waktu tertentu PGE_1 memberikan pengaruh yang nyata pada penurunan rata-rata jumlah sel spermatosit primer. Rataan

jumlah spermatosit primer terendah didapatkan pada penyuntikan PGE_1 setiap hari juga $PGF_{2\alpha}$ setiap hari dan tiga kali perminggu.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa dengan penggunaan PGE_1 yang lebih kontinyu baru dapat menimbulkan pengaruh pada tubulus seminiferus termasuk sel-sel kelamin. Kemungkinan yang lain PGE_1 yang diberikan secara kontinyu mempunyai kemampuan untuk menghambat proses mitosis spermatogonia menjadi spermatosit primer sesuai dengan pendapat Ericsson (1972) bahwa terapi secara kronis pada tikus dapat menghambat spermatogenesis. Frozt dkk. dikutip oleh Hardjopranjoto (1992) menyatakan bahwa spermatosit primer termasuk sel yang paling peka terhadap rangsangan.

Spermiogenesis adalah proses penyempurnaan spermatid menjadi spermatozoa yang berlangsung di bawah peranan LH dan testosteron (Partodihardjo, 1992). Penghitungan sel spermatozoa pada penelitian ini menunjukkan penurunan. Kegagalan proses spermatositogenesis dan spermiogenesis menyebabkan rataan jumlah sel spermatozoa rendah. Tanpa testosteron spermatozoa tidak dapat mencapai pendewasaan yang baik dan sempurna. Penurunan kadar testosteron merupakan penjelasan penting mengenai kerja prostaglandin yang menghambat spermatogenesis.

Pengaruh langsung dari pemberian prostaglandin terhadap testes menurut Saksena *et al.* (1973) adalah hambatan pembentukan hormon steroid (testosteron) yang berperan dalam kesempurnaan proses spermatogenesis, kemudian akan berpengaruh pada peningkatan pelepasan LH di hipofisa anterior.

Disebutkan pula bahwa $\text{PGF}_{2\alpha}$ lebih kuat berpengaruh menurunkan kadar testosteron dalam plasma daripada $\text{PGF}_{1\alpha}$ sedangkan pemberian PGE_1 dengan dosis cukup baru dapat menurunkan kadar testosteron. Penelitian terpisah juga dilakukan oleh Bartke *et al.* (1973), menyebutkan bahwa pemberian $\text{PGF}_{2\alpha}$ dapat meningkatkan sangat nyata kadar kolesterol ester tapi tidak kolesterol bebas.

Hidrolisis kolesterol ester sangat penting hubungannya dengan produksi androgenik steroid secara normal. Pada proses hidrolisis dihasilkan kolesterol dan degradasi kolesterol akan menghasilkan pregnenolon. Kedua peristiwa ini membutuhkan LH. Saksena *et al.* (1973) lebih jauh menguraikan bahwa terjadi peningkatan akumulasi kolesterol ester pada testes karena penurunan penggunaan kolesterol ester atau hambatan biosintesis steroid (testosteron).

Testes mensekresikan berbagai steroid yang disintesis dari kolesterol. Produk sekresi utama testes adalah testosteron yang diproduksi oleh sel-sel Leydig. Sekresi

testosteron distimulasi oleh LH, reseptor LH terdapat pada sel-sel Leydig dan pada mamalia umumnya jika ada peningkatan kadar LH maka akan terjadi juga peningkatan sekresi testosteron (Karsch, 1984). Banyak hormon yang membantu sintesis androgen dalam sel Leydig yang terpenting adalah LH, kemudian FSH (Partodihardjo, 1992).

Sintesis kolesterol dalam sel Leydig pada testes tampaknya menjadi sumber utama kolesterol untuk biosintesis androgen. Kolesterol yang terkandung dalam sel Leydig adalah kolesterol ester.

Kontrol dan koordinasi dari fungsi testes meliputi steroidogenesis dan spermatogenesis, dilakukan oleh hipotalamus, hipofisa dan testes melalui mekanisme *release dan feed back* yang timbal balik antara ketiga organ ini (Arsyad dkk., 1981). Bahwa testes mempunyai kerja umpan balik pada hipofisa dapat dilihat dari kenaikan FSH dan LH yang mengikuti penurunan testosteron. Kerja testosteron yang menghambat LH, menurunkan frekuensi tetapi meningkatkan amplitudo. Melalui konversi menjadi estradiol maka testosteron mempunyai kerja umpan balik negatif, menurunkan amplitudo tetapi tidak menurunkan frekuensi LH. Testosteron bekerja menghambat sekresi

GnRH melalui hipotalamus (De Kretser, 1984), sebagai tempat utama umpan balik negatif testosteron (Soedjharti Tjondronegoro, 1992).

Prostaglandin diimplikasikan pada peningkatan kadar LH (Turner dan Bagnara, 1988) dan menghambat pembentukan testosteron. Pada kasus destruksi tubulus seminiferus kadar LH meningkat sedangkan testosteron menurun hingga normal atau sangat menurun. Sel Leydig membutuhkan kadar LH lebih tinggi daripada normal untuk mencapai kadar normal hingga rendah. Peningkatan LH secara dramatik justru mengurangi jumlah reseptor LH pada sel Leydig yang menyebabkan penurunan kadar testosteron.

Richard Sharpe dan Kevin Catt dikutip oleh De Kretser (1984) menunjukkan bila pemberian LH dengan dosis tinggi menyebabkan penurunan jumlah reseptor LH pada sel-sel Leydig selama enam sampai tujuh hari. Kerja tropik LH hanya menstimulasi pertumbuhan sel-sel Leydig yang sudah ada dan sebagai respon akan timbul banyak sel-sel Leydig muda. Penurunan kadar testosteron karena prostaglandin yang diberikan dalam penelitian ini melakukan penutupan reseptor LH pada target organ sehingga testosteron tidak dihasilkan (Mc Donald, 1990).

Pengaruh $PGF_{2\alpha}$ ini terlihat tidak tergantung dengan beberapa kali pemberian dalam interval waktu tertentu. Hal ini ditunjukkan dengan tidak ada perbedaan yang nyata

diantara perlakuan yang diterapi $\text{PGF}_{2\alpha}$ setiap hari dengan tiga kali perminggu terhadap daya destruksi pada tubulus seminiferus dan inhibisi spermatogenesis (lihat Gambar 2 dan 3). Data hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh pemberian PGE_1 setiap hari dan tiga kali perminggu (lihat Gambar 2 dan 3). Pemberian PGE_1 setiap hari menunjukkan pengaruh yang lebih nyata terhadap penurunan rata-rata jumlah sel-sel kelamin daripada tiga kali perminggu terhadap kontrol. Meskipun Pangkahila (1994) melaporkan tidak ada keluhan pada penderita impotensi yang diterapi dengan PGE_1 , agaknya interval waktu penggunaan PGE_1 perlu diperhatikan. Oleh karena itu penggunaan prostaglandin dalam waktu lama perlu diperhatikan bila diterapkan secara luas baik pada manusia ataupun hewan karena kemungkinan dapat mengarah ke infertilitas. Secara keseluruhan rata-rata jumlah sel-sel kelamin pada tubulus seminiferus mencit mengalami penurunan setelah diterapi PGE_1 dan $\text{PGF}_{2\alpha}$.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang pemberian prostaglandin E_1 dan prostaglandin $F_{2\alpha}$ selama 35 hari secara sub kutan pada mencit jantan dapat diambil kesimpulan dan diajukan saran sebagai berikut :

6.1. Kesimpulan

1. Terdapat penyusutan diameter tubulus seminiferus yang nyata setelah pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$.
2. Terdapat penurunan rata-rata jumlah sel-sel kelamin yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa yang berbeda nyata setelah pemberian PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$.
3. $PGF_{2\alpha}$ menunjukkan kemampuan yang lebih baik dalam menghambat spermatogenesis dan pengaruh yang ditimbulkan tidak tergantung waktu pemberian.

6.2. Saran

1. Perlu diperhatikan penggunaan prostaglandin dalam waktu lama. Hambatan spermatogenesis berpengaruh terhadap fertilitas spermatozoa. Terapi menggunakan PGE_1 setiap hari perlu diperhatikan karena dapat mengarah ke infertilitas.

2. Pemberian $\text{PGF}_{2\alpha}$ menunjukkan kemampuan yang lebih baik dalam menghambat spermatogenesis, sehingga dapat digunakan sebagai anti fertilitas pada mencit.

RINGKASAN

Berbagai pengobatan menggunakan preparat hormonal telah banyak dilakukan guna memulihkan libido pada ternak jantan seperti FSH, HCG, dan ICSH. Beberapa tahun terakhir ini prostaglandin E_1 telah digunakan pada manusia sebagai obat impotensi.

Salah satu efek penggunaan prostaglandin adalah mempengaruhi pembentukan hormon steroid testes terutama testosteron. Bila produksi testosteron terganggu dalam waktu lama akan mempengaruhi sistem keseimbangan hormonal dan alat reproduksi jantan yang berpengaruh terhadap proses spermatogenesis.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ terhadap diameter tubulus seminiferus dan proses spermatogenesis.

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran akibat penggunaan PGE_1 dan $PGF_{2\alpha}$ secara kontinyu dan dalam waktu lama serta mengetahui efek samping dari penggunaan prostaglandin sebagai anti impotensi pada manusia.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 50 ekor mencit jantan (*mus musculus*) yang dibagi menjadi lima kelompok secara acak. Kelompok P_0 adalah perlakuan kontrol, kelompok P_1 disuntik PGE_1 0,75 μ g setiap hari, kelompok P_2 disuntik PGE_1 0,75 μ g tiga kali perminggu, kelompok P_3

disuntik $\text{PGF}_{2\alpha}$ 3 μg setiap hari dan kelompok P_4 disuntik $\text{PGF}_{2\alpha}$ setiap hari. Pengambilan testes dilakukan setelah 35 hari perlakuan.

Penelitian ini menggunakan disain Rancangan Acak Lengkap. Data dianalisis menggunakan Sidik Ragam (Analisis Varian) yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil.

Hasil penelitian menunjukkan penyusutan diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan berbeda nyata dibanding kelompok kontrol ($p < 0,05$). Nilai rata-rata diameter tertinggi adalah kelompok kontrol P_0 dan terendah adalah kelompok P_3 dan P_4 . Pemberian PGE_1 dan $\text{PGF}_{2\alpha}$ juga menurunkan jumlah sel kelamin yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatozoa kelompok perlakuan yang berbeda nyata dibanding kontrol ($p < 0,05$). Nilai rata-rata tertinggi adalah kelompok P_0 dan terendah adalah P_1, P_3, P_4 .

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk memperhatikan penggunaan prostaglandin baik pada ternak maupun pada manusia dalam waktu lama. Penggunaan PGE_1 sebagai terapi setiap hari perlu diperhatikan karena dapat mengarah ke infertilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbatiello, E. R., M. Kaminsky, and S. Weisbroth. 1976. The Effect of Prostaglandins $F_{1\alpha}$ and $F_{2\alpha}$ on Spermatogenesis. *Int. J. Fertil.* 21 : 82-88.
- Arsyad, K. M. 1981. Kemajuan Penelitian Spermatogenesis Dalam Pendekatan Kontrasepsi Pria. Dalam: *Prosiding Spermatogenesis. Perkumpulan Andrologi Indonesia.*
- Au, C. L. D. M. Robertson, and D. M. de Kretser. 1984. Effect of Hipophysectomy and Subsequent FSH and Testosterone Treatment on Inhibin Production by Adult Rat Testes. *J. Endocr.* 105-106.
- Bartke, A., N. Musto, B. V. Caldwell, and H. R. Behrman. 1973. Effect of a Cholesterol Esterase Inhibitor and of Prostaglandin $F_{2\alpha}$ on Testis Cholesterol and on Plasma Testosterone in Mice. *Prostaglandins* 3 : 97.
- Bennet, J. P., and B. H. Vickery. 1970. Rats and Mice. In : *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals.* E. S. E. Hafez. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 299-305.
- Bloom, W., and D. W. Fawcett. 1970. A Text Book of Hystology 9th Ed. W. B. Saunders Co Philadelphia Igaku Shoim Ltd. Tokyo. 685-708.
- Breazile, J. E. 1971. Text Book of Veterinary Physiology. Lea and Febiger. Philadelphia. 514-521.
- Caldani, M., M. Batailler, J. C. Thiery, and M. P. Du bois. 1988. LHRH Immunoreactive Structures in The Sheep Brain. *Histochemistry.* 89: 129-130.
- Caraty, A., and A. Locatelli. 1988. Effect of Time after Castration on Secretion of LHRH and LH in the Ram. *J. Reprod. Fertil.* 82: 263-269.
- Carpenter, M. P. 1971. Prostaglandins Synthesis in The Rat Testis. *Fed. Proc.* 30: 1081.
- De Kretser, D. M. 1984. The Testis. In : *Reproduction in Mammals, book 3 : Hormonal Control of Reproduction.* C. R. Austin and R. V. Short. Eds. Second Edition. Cambridge University Press. 81-82.

- Dellman, H. D. 1971. Veterinary Histology an Outline Text Atlas. Lea and Fabiger, Philadelphia. 192-197.
- Effendi, C., S. Hendromartono, N. M. R. Wijaya, E. A., E. A. Suhartono dan I. Hidayat. 1982. Pengaruh Prostaglandin Terhadap Kontraksi Otot Polos. Lemlit Universitas Airlangga.
- Ericcson, R. J. 1972. Prostaglandin (E1 and E2) and Reproduction in the Male Rat. In : Advances in the Biosciences 9. Pergamon Press Viewg. 737-743.
- Frandsen, R. D. 1974. Anatomy and Physiology of Farm Animal 2nd Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 348: 361-366.
- Gunarso. 1986. Pengaruh Pemberian PGF_{2α} Secara Sub Cutan Terhadap Testes Mencit Umur Muda. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Hafez, E. S. E. 1970. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger. Philadelphia. 299-302.
- Hafez, E. S. E. 1987. Reproduction in Farm Animals. 5th Ed. Lea and Fabiger. Philadelphia. 68-91.
- Hardijanto, M. Hariadi, Ismudiono, D. N. K. L. Mahaputra, S. Tjondronegoro dan S. Hardjopranjoto. 1980. Pengaruh Prostaglandin F_{2α} Terhadap Kecepatan Dan Lama Hidup Sel Mani Domba Ekor Gemuk. Lemlit Universitas Airlangga.
- Hardjopranjoto, S. 1980. Fisiologi Reproduksi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 59 - 86.
- Hardjopranjoto, S. 1992. Ilmu Kemajiran. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Harper. 1987. Biokimia. Alih Bahasa : I. Damarwan. Ed.20. C. V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. 223-225.
- Higgins, C. B., and E. Braunwald. 1972. The Prostaglandin, Biochemical, Physiology, and Clinical Consideration. Am. J. Med. 53: 92-109.

- Henny Tedja . 1993. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Manggis (*Garcinia Mangostana Linn.*) Terhadap Berat dan Gambaran Histologi Testes Mencit. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Inskeep, E. K. 1973. Potential Uses of Prostaglandin in Control of Reproduction Cycle of Domestic Animal. *J. Anim. Sci.*, 36: 1149-1153.
- Junquiera, L. C., J. Carneiro, and A. M. Contopoulos. 1977. Basic Histology. 2nd Ed. Lange Medical Publication. Los Altos. California. 412-422.
- Junquiera, L. C. dan J. Carneiro. 1992. Histologi Dasar (Basic Histology). Ed. 3. Terjemahan : A. Dhoma. I. V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. 444-461.
- Karim, S. M. M. 1976. Prostaglandins : Physiological, Pharmacological, and Pathological Aspect. Lancaster: M. T. P. Press Ltd. International Medical Publisher.
- Karsch, F. J. 1984. The Hypothalamus and Anterior Pituitary Gland. In : Reproduction in Mammals, Book 3 : Hormonal Control of Reproduction, C. R. Austin and R. V. Short. Eds. Second Edition. Cambridge University Press. 1-19.
- Katongole, C.B., FNaftolin and R. V. Short. 1974. Seasonal Variations in Blood Luteinizing Hormone and Testosterone Levels in Rams. *J. endocr.* 34-35.
- Katzung, B. G. 1989. Farmakologi Dasar dan Klinik. Dept. Pharmacology. University of California. 980.
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga 53-94.
- Lesson, T. S., and C. R. Lesson. 1981. Histology. W. B. Saunders Company. Philadelphia. 515-533.
- Lincoln, G. A., and M. J. Peetet. 1977. Photoperiodic Control of Gonadotropin Secretion in The Ram. A Detailed Study of Temporal Changes in Plasma Levels of FSH, LH, and Testosterone Following and Abrupt Switch from Long to Short Days. *J. Endocr.* 74: 355-357.

- Mc Donald. 1990. Reproductive Endocrinology. Study Guide 3. Animal Science 401. The Animal Science Group School of Agriculture University of WA.
- Mc Keever, S. 1970. Male Reproductive Organs. In : Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals, E .S .E. Hafez Ed. Lea and Febiger. Philadelphia . 23-35.
- Moore, P. K. 1984. Prostanoid : Pharmacological, Physiological and Clinical Relevance. Cambridge University Press Cambridge London.
- Nalbandov, A. V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Terjemahan : Sunaryo Keman. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 219-262.
- Pangkahila, W. 1994. Suntikan Prostaglandin E₁ Secara Intrakavernosa Untuk Pengobatan Impotensi. Medika No. XX.
- Pramono, H. A. 1981^a. Obat-obat Yang Menghambat Spermatogenesis. Dalam : Prosiding Spermatogenesis. Penerbit Perkumpulan Andrologi Indonesia.
- Pramono, H. A. 1981^b. Pemeriksaan Plasma Sperma Dan Pengetrapannya pada Klinik. Dalam : Prosiding Spermatogenesis. Perkumpulan Andrologi Indonesia.
- Ross, M.H. and E.J. Reith. 1985. Histology A Text and Atlas. Harper and Row, Publisher J. B. Lippincott Company. 605-635.
- Saksena, S. K., S. El Safoury and A. Bartke. 1973. Prostaglandins E₂ and F_{2α} Decrease Plasma Testosterone Levels in Male Rats. Prostaglandins 4 : 235.
- Salisbury, G. W., and N. L. Van Demark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan : R. Djanuar. Gajah Mada. 207-210.
- Sarmanu. 1988. Histologis Dan Ultra Struktur Testis Tikus Putih Yang Diberi Pakan Mengandung Biji Lamtoro Gung. Lemlit Universitas Airlangga.
- Smith, J. B., dan Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 10-36.

- Sorensen, A. M. J. R. 1979. Animal Reproduction Principles and Practices. McGraw Hill Publication in Agriculture Sciences. 31-45.
- Soedjiharti Tjondronegoro. 1992. The Role of Gonadotropins in The Control of Reproductive Function in The Ram. Phd. Thesis. University of Western Australia. 4-8.
- Steinberger. 1978. The Etiology and Pathophysiology of Testicular Dysfunction in Man. In : Fertility and Sterility.
- Tadjudin, M. K. 1981. Arah Dalam Penelitian Biologi Spermatologi. Dalam : Prosiding Spermatogenesis. Penerbit Perkumpulan Andrologi Indonesia.
- Tampubolon, M. 1988. Petunjuk Laboratorium Protozoologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Dirjen Pendidikan Tinggi. IPB.
- Toelihere, M. R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung. 68-105.
- Turner, C. D., and J. T. Bagnara. 1988. Endokrinologi Umum. Airlangga University Press. Edisi keenam. 146-147.
- Whittingham, D. G. and M. J. Wood. 1983. Reproductive Physiology. In : The Mouse in Biomedical Research Foster, H. L. J. D. Small and J. G. Fox. Eds. Vol III. Academic Press. 140.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Evaluasi Statistik Diameter Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Setelah Diberi PGE₁ dan PGF_{2α} Selama 35 hari (μ)

| Nomor Mencit | Diameter Tubulus Seminiferus | | | | |
|--------------|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | P ₀ | P ₁ | P ₂ | P ₃ | P ₄ |
| 1. | 147,23 | 159,23 | 171,03 | 156,4 | 162,63 |
| 2. | 180,2 | 159,23 | 154,36 | 158,67 | 161,5 |
| 3. | 164,9 | 141,67 | 163,2 | 159,23 | 152,43 |
| 4. | 168,87 | 153 | 170 | 163,2 | 150,17 |
| 5. | 147,33 | 168,87 | 172,83 | 162,63 | 165,47 |
| 6. | 172,27 | 155,83 | 153 | 144,5 | 142,8 |
| 7. | 179,07 | 168,3 | 158,1 | 163,76 | 166,6 |
| 8. | 173,97 | 164,77 | 155,27 | 155,83 | 151,3 |
| 9. | 159,23 | 174,53 | 149,6 | 136,57 | 154,13 |
| 10. | 179,63 | 159,8 | 164,33 | 144,5 | 156,4 |
| Σ x | 1672,7 | 1605,23 | 1611,72 | 1545,29 | 1563,43 |
| \bar{x} | 167,27 | 160,523 | 161,172 | 154,529 | 156,343 |
| SD | 12,477 | 9,323 | 8,276 | 9,393 | 7,614 |

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y_{..}^2}{t \cdot n} = \frac{(7998,37)^2}{50} = 1279478,453$$

$$\text{JK Total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= 147,23^2 + \dots + 156,4^2 - 1279478,453 \\ &= 5093,839 \end{aligned}$$

$$\text{JK Perlakuan (JKP)} = \sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{n} - \text{FK}$$

$$\text{JKP} = \frac{1672,7^2 + \dots + 1563,43^2}{10} - 1279478,453$$

$$= 1280256,455 - 1279478,453$$

$$= 978,002$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Sisa (JKS)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 5093,839 - 978,002 \\ &= 4115,837 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{\text{JKP}}{t - 1} \\ &= \frac{978,002}{4} \\ &= 244,500 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Sisa (KTS)} &= \frac{\text{JKS}}{t (n - 1)} \\ &= \frac{4115,837}{45} \\ &= 91,463 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} \\ &= \frac{244,500}{91,463} \\ &= 2,673 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam (Analisis Varian)

| SK | db | JK | KT | F_{Hitung} | $F_{Tabel} (0,05)$ |
|-----------|----|----------|--------|--------------|--------------------|
| Perlakuan | 4 | 978,002 | 244,5 | 2,673 | 2,575 |
| Sisa | 45 | 4115,837 | 91,463 | | |
| Total | 49 | 5093,839 | | | |

$F_{Hitung} (2,673) > F_{Tabel} 0,05 (2,575)$ artinya terdapat perbedaan yang nyata.

Kesimpulan :

Pemberian PGE_1 0,75 μ g setiap hari, tiga kali perminggu dan $PGF_{2\alpha}$ 3 μ g setiap hari, tiga kali perminggu selama 35 hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap diameter tubulus seminiferus testes mencit.

H_0 : ditolak

Uji BNT (5%)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT (5\%)} &= t (\alpha) (\text{dbsisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= t (5\%) (45) \times \sqrt{\frac{2 \times 91,463}{10}} \\
 &= 2,014 \times 4,277 \\
 &= 8,614
 \end{aligned}$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

| Perlakuan | Rata-rata Perlakuan (\bar{x}) | Beda (Selisih) | | | | BNT 5% |
|--------------------|--------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| | | $\bar{x} - E$ | $\bar{x} - D$ | $\bar{x} - C$ | $\bar{x} - B$ | |
| P ₀ (A) | 167,270 ^a | 12,741* | 10,927* | 7,47 | 6,089 | 8,614 |
| P ₂ (B) | 161,172 ^{ab} | 6,643 | 4,829 | 0,649 | | |
| P ₁ (C) | 160,523 ^{ab} | 5,994 | 4,18 | | | |
| P ₄ (D) | 156,343 ^b | 1,84 | | | | |
| P ₃ (E) | 154,529 ^b | | | | | |

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

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

| | | | | | | |
|-----------|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Kelompok | : | A | B | C | D | E |
| Rata-rata | : | : | : | : | : | : |
| | : | : | : | : | : | : |
| | : | <u>a</u> | <u>a</u> | <u>a</u> | : | : |
| | : | : | : | : | : | : |
| | : | : | <u>b</u> | <u>b</u> | <u>b</u> | <u>b</u> |

Kesimpulan : Rataan diameter tubulus seminiferus terbesar adalah P₀ tidak berbeda nyata dengan P₂ dan P₁. Rataan diameter tubulus terkecil adalah P₃ dan P₄ tidak berbeda nyata dengan P₂ dan P₁.

Lampiran 2. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatogonia dalam Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE₁ dan PGF_{2α} selama 35 hari

| Nomor Mencit | Jumlah Sel Spermatogonia | | | | |
|--------------|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | P ₀ | P ₁ | P ₂ | P ₃ | P ₄ |
| 1. | 42,67 | 31,67 | 24,5 | 28,17 | 26,67 |
| 2. | 33,84 | 31 | 30,33 | 30,33 | 29,5 |
| 3. | 38,83 | 25,5 | 32,83 | 29,67 | 27,83 |
| 4. | 44,67 | 33,83 | 24,83 | 27 | 28,33 |
| 5. | 40,5 | 26,17 | 39,83 | 27,5 | 28,5 |
| 6. | 38 | 31,67 | 36,67 | 30,83 | 26,17 |
| 7. | 37 | 22,17 | 41,83 | 32 | 36,67 |
| 8. | 47,33 | 23,5 | 33,17 | 31,33 | 25,83 |
| 9. | 34,17 | 26 | 25,83 | 27 | 30,17 |
| 10. | 40,17 | 32 | 33,12 | 26,83 | 29 |
| Σ x | 397,18 | 283,51 | 322,99 | 290,66 | 286,67 |
| - x | 39,718 | 28,351 | 32,299 | 29,066 | 28,867 |
| SD | 4,326 | 4,117 | 6,06 | 1,99 | 3,088 |

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y..^2}{t.n} = \frac{(1581,10)^2}{50} = 49997,544$$

$$\text{JK Total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= 42,67^2 + \dots + 29^2 - 49997,544 \\ &= 1681,396 \end{aligned}$$

$$\text{JK Perlakuan (JKP)} = \sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{n} - \text{FK}$$

$$\begin{aligned}
 JKP &= \frac{397,18^2 + \dots + 288,63^2}{10} - 49997,544 \\
 &= 908,189
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Sisa (JKS)} &= JKT - JKP \\
 &= 1681,396 - 908,189 \\
 &= 773,208
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{JKP}{t - 1} \\
 &= \frac{908,189}{4} \\
 &= 227,047
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Sisa (KTS)} &= \frac{JKS}{t (n - 1)} \\
 &= \frac{773,208}{45} \\
 &= 17,182
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung} &= \frac{KTP}{KTS} \\
 &= \frac{227,047}{17,182} \\
 &= 13,214
 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam (Analisis Varian)

| SK | db | JK | KT | F _{Hitung} | F _{Tabel} (0,05) |
|-----------|----|----------|---------|---------------------|---------------------------|
| Perlakuan | 4 | 908,189 | 277,047 | 13,214 | 2,575 |
| Sisa | 45 | 773,208 | 17,182 | | |
| Total | 49 | 1681,396 | | | |

F_{Hitung} (13,214) > F_{Tabel} 0,05 (2,575) artinya terdapat perbedaan yang nyata.

Kesimpulan :

Pemberian PGE₁ 0,75 µg setiap hari, tiga kali perminggu dan PGF_{2α} 3 µg setiap hari, tiga kali perminggu selama 35 hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap sel spermatogonia.

H₀ : ditolak

Uji BNT (5%)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT (5\%)} &= t(\alpha) (\text{dbsisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= t(5\%) (45) \times \sqrt{\frac{2 \times 17,182}{10}} \\
 &= 2,014 \times 1,854 \\
 &= 3,733
 \end{aligned}$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

| Perlakuan | Rata-rata Perlakuan (\bar{x}) | Beda (Selisih) | | | | BNT 5% |
|--------------------|--------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| | | $\bar{x} - E$ | $\bar{x} - D$ | $\bar{x} - C$ | $\bar{x} - B$ | |
| P ₀ (A) | 39,718 ^a | 11,367* | 10,851* | 10,652* | 7,419* | 3,733 |
| P ₂ (B) | 32,299 ^b | 3,948* | 3,432 | 3,233 | | |
| P ₁ (C) | 29,066 ^{bc} | 0,715 | 0,199 | | | |
| P ₄ (D) | 28,867 ^{bc} | 0,516 | | | | |
| P ₃ (E) | 28,351 ^{bc} | | | | | |

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

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

| | | | | | | |
|-----------|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Kelompok | : | A | B | C | D | E |
| Rata-rata | : | : | : | : | : | : |
| | : | <u>a</u> | : | : | : | : |
| | : | : | : | : | : | : |
| | : | : | <u>b</u> | <u>b</u> | <u>b</u> | : |
| | : | : | : | : | : | : |
| | : | : | : | <u>b</u> | <u>b</u> | <u>c</u> |

Kesimpulan : Rataan jumlah sel spermatogonia tertinggi adalah P₀ berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Rataan jumlah sel spermatogonia terendah adalah P₁, P₃ dan P₄ tidak berbeda nyata dengan P₂.

Lampiran 3. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatoosit Primer dalam Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE₁ dan PGF_{2α} selama 35 hari.

| Nomor Mencit | Jumlah Sel Spermatoosit Primer | | | | |
|--------------|--------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | P ₀ | P ₁ | P ₂ | P ₃ | P ₄ |
| 1. | 79,5 | 31,83 | 36,33 | 38,33 | 26,67 |
| 2. | 35,83 | 46,83 | 37,33 | 26,33 | 29,5 |
| 3. | 49,17 | 32,83 | 44,33 | 37,5 | 27,83 |
| 4. | 55,67 | 33,83 | 39 | 34,67 | 25,83 |
| 5. | 59 | 26,17 | 45 | 35 | 33,67 |
| 6. | 54,33 | 31,67 | 53 | 27,33 | 20 |
| 7. | 58,5 | 22,17 | 56 | 34,83 | 36,5 |
| 8. | 53 | 23,5 | 51,83 | 32,83 | 38,83 |
| 9. | 39,5 | 26 | 40 | 24,83 | 26,5 |
| 10. | 45,67 | 32 | 44,5 | 28,17 | 36,83 |
| Σ x | 530,17 | 335,17 | 447,32 | 311,49 | 327,83 |
| \bar{x} | 53,017 | 33,517 | 44,732 | 31,149 | 32,783 |
| SD | 12,124 | 6,267 | 6,885 | 5,585 | 6,342 |

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y..^2}{t \cdot n} = \frac{(1951,95)^2}{50} = 76202,176$$

$$\text{JK Total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= 79,5^2 + \dots + 36,83^2 - 76202,176 \\ &= 6342,519 \end{aligned}$$

$$\text{JK Perlakuan (JKP)} = \sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{n} - \text{FK}$$

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{530,17^2 + \dots + 327,83^2}{10} - 76202,176 \\ &= 3596,76 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Sisa (JKS)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 6342,519 - 3596,76 \\ &= 2745,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{\text{JKP}}{t-1} \\ &= \frac{3596,769}{4} \\ &= 899,192 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Sisa (KTS)} &= \frac{\text{JKS}}{t(n-1)} \\ &= \frac{2745,75}{45} \\ &= 61,017 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} \\ &= \frac{899,192}{61,017} \\ &= 14,737 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam (Analisis Varian)

| SK | db | JK | KT | F _{Hitung} | F _{Tabel} (0,05) |
|-----------|----|----------|---------|---------------------|---------------------------|
| Perlakuan | 4 | 3596,769 | 899,192 | 14,737 | 2,575 |
| Sisa | 45 | 2745,750 | 61,017 | | |
| Total | 49 | 6342,519 | | | |

F_{Hitung} (14,737) > F_{Tabel} 0,05 (2,575) artinya terdapat perbedaan yang nyata.

Kesimpulan : Pemberian PGE₁ 0,75 µg setiap hari, tiga kali perminggu dan PGF_{2α} 3 µg setiap hari, tiga kali perminggu selama 35 hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap sel spermatosit primer.

H₀ : ditolak

Uji BNT (5%)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT (5\%)} &= t(\alpha) (\text{dbsisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= t(5\%) (45) \times \sqrt{\frac{2 \times 61,017}{10}} \\
 &= 2,014 \times 61,017 \\
 &= 7,036
 \end{aligned}$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

| Perlakuan | Rata-rata Perlakuan (\bar{x}) | Beda (Selisih) | | | | BNT 5% |
|--------------------|---|----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| | | $\bar{x} - E$ | $\bar{x} - D$ | $\bar{x} - C$ | $\bar{x} - B$ | |
| P ₀ (A) | 53,017 ^a | 21,868* | 20,234* | 19,5* | 8,285* | 7,036 |
| P ₂ (B) | 44,732 ^b | 13,583* | 11,949* | 11,215* | | |
| P ₁ (C) | 33,517 ^c | 2,368 | 0,734 | | | |
| P ₄ (D) | 32,783 ^c | 1,634 | | | | |
| P ₃ (E) | 31,149 ^c | | | | | |

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

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

| | | | | | | |
|-----------|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Kelompok | : | A | B | C | D | E |
| Rata-rata | : | : | : | : | : | : |
| | : | <u>a</u> | : | : | : | : |
| | : | : | : | : | : | : |
| | : | : | <u>b</u> | : | : | : |
| | : | : | : | : | : | : |
| | : | : | : | <u>c</u> | <u>c</u> | <u>c</u> |

Kesimpulan : Rataan jumlah sel spermatis primer tertinggi adalah P₀ berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Rataan jumlah sel spermatis primer terendah adalah P₁, P₃ dan P₄.

Lampiran 4. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatozoa dalam Tubulus Seminiferus dari Masing-masing Testes Mencit Setelah Diberi PGE₁ dan PGF_{2α} selama 35 hari.

| Nomor Mencit | Jumlah Sel Spermatozoa | | | | |
|--------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | P ₀ | P ₁ | P ₂ | P ₃ | P ₄ |
| 1. | 16,83 | 17,83 | 13 | 13,5 | 19,33 |
| 2. | 17,67 | 19 | 18,5 | 9,83 | 12,83 |
| 3. | 14,5 | 16,83 | 19,5 | 15,83 | 12,67 |
| 4. | 18,83 | 19 | 16,67 | 10 | 13,33 |
| 5. | 30,67 | 26 | 24,67 | 11,17 | 11,67 |
| 6. | 21,17 | 24,67 | 18,67 | 9 | 10,83 |
| 7. | 23,17 | 9,17 | 21,67 | 7,83 | 11,83 |
| 8. | 33,17 | 8 | 20,5 | 11,33 | 9,5 |
| 9. | 26 | 7,4 | 22,5 | 10,5 | 8,3 |
| 10. | 27,83 | 7,5 | 18 | 9 | 10,17 |
| Σ x | 230,34 | 155,4 | 193,68 | 107,99 | 118,36 |
| \bar{x} | 23,34 | 15,54 | 19,368 | 10,799 | 11,836 |
| SD | 6,99 | 7,086 | 3,257 | 2,357 | 3,267 |

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{Y_{..}^2}{t \cdot n} = \frac{(805,77)^2}{50} = 12985,306$$

$$\text{JK Total} = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= 16,83^2 + \dots + 10,17^2 - 12985,306 \\ &= 2061,952 \end{aligned}$$

$$\text{JK Perlakuan (JKP)} = \sum_{i=1}^t \frac{Y_i^2}{n} - \text{FK}$$

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{229,84^2 + \dots + 120,46^2}{10} - 12985,306 \\ &= 1029,072 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Sisa (JKS)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 2061,952 - 1029,072 \\ &= 1032,880 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{\text{JKP}}{t - 1} \\ &= \frac{1029,072}{4} \\ &= 257,268 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Sisa (KTS)} &= \frac{\text{JKS}}{t (n - 1)} \\ &= \frac{1032,880}{45} \\ &= 22,953 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} \\ &= \frac{257,268}{22,953} \\ &= 11,209 \end{aligned}$$

Daftar Sidik Ragam (Analisis Varian)

| SK | db | JK | KT | F _{Hitung} | F _{Tabel} (0,05) |
|-----------|----|----------|---------|---------------------|---------------------------|
| Perlakuan | 4 | 1029,072 | 257,268 | 11,209 | 2,575 |
| Sisa | 45 | 1032,880 | 22,953 | | |
| Total | 49 | 2061,952 | | | |

F_{Hitung} (11,209) > F_{Tabel} 0,05 (2,575) artinya terdapat perbedaan yang nyata.

Kesimpulan :

Pemberian PGE₁ 0,75 µg setiap hari, tiga kali perminggu dan PGF_{2α} 3 µg setiap hari, tiga kali perminggu selama 35 hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap sel spermatozoa.

H₀ : ditolak

Uji BNT (5%)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT (5\%)} &= t(\alpha) (\text{dbsisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= t(5\%) (45) \times \sqrt{\frac{2 \times 22,953}{10}} \\
 &= 2,014 \times 2,143 \\
 &= 4,315
 \end{aligned}$$

Selisih Rata-rata Perlakuan

| Perlakuan | Rata-rata Perlakuan (\bar{x}) | Beda (Selisih) | | | | BNT 5% |
|--------------------|--------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| | | $\bar{x} - E$ | $\bar{x} - D$ | $\bar{x} - C$ | $\bar{x} - B$ | |
| P ₀ (A) | 22,984 ^a | 12,185* | 10,938* | 7,44* | 3,616* | 4,315 |
| P ₂ (B) | 19,368 ^{ab} | 8,569* | 7,322* | 3,838 | | |
| P ₁ (C) | 15,54 ^{bc} | 4,741* | 3,494 | | | |
| P ₄ (D) | 12,046 ^{cd} | 1,247 | | | | |
| P ₃ (E) | 10,799 ^d | | | | | |

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

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

| | | | | | | |
|-----------|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Kelompok | : | A | B | C | D | E |
| Rata-rata | : | : | : | : | : | : |
| | | <u>a</u> | <u>a</u> | : | : | : |
| | | : | : | : | : | : |
| | | : | <u>a</u> | <u>b</u> | : | : |
| | | : | : | : | : | : |
| | | : | : | <u>b</u> | <u>c</u> | : |
| | | : | : | : | : | : |
| | | : | : | : | <u>c</u> | <u>d</u> |

Kesimpulan : Rataan jumlah sel spermatozoa tertinggi adalah P₀ berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. Rataan jumlah sel spermatozoa adalah terendah P₃ tidak berbeda nyata dengan P₄.

Lampiran 5. Pembuatan Sediaan Histologis Testes

Pembuatan sediaan histologis ini dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dengan cara sebagai berikut:

a. Fiksasi dan Pencucian

Tujuan : Mencegah terjadinya degenerasi post mortem.

Mematikan kuman dan bakteri.

Meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam-macam zat warna.

Menjadikan jaringan lebih keras sehingga menjadi lebih mudah dipotong.

Meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan.

Reagen : Larutan *Bouin*.

Cara kerja: Setelah diadakan seksi, kedua testes mencit diambil, selanjutnya 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 jaringan.

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

Cara kerja: Testes 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 II masing-masing setengah jam.

c. Infiltrasi (embedding)

Tujuan : Untuk menginfiltrasikan jaringan dengan parafin, dimana 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 ke 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: Sediakan beberapa cetakan besi yang sebelumnya diolesi gliserin dengan maksud untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan, kemudian testes dimasukkan dengan pinset ke

dalamnya, diberi tanda pada masing-masing organ dan ditunggu sampai parafin membeku.

e. Pengirisan Dengan Mikrotom

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

Alat : Mikrotom

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

f. Pewarnaan

Tujuan : Memudahkan melihat perubahan jaringan. Disini digunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Dengan pewarnaan HE dapat dilihat dengan jelas bentuk-bentuk masing-masing selnya, dimana 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. Kemudian jaringan atau organ dimasukkan ke dalam zat warna hematoxylin selama 5-10 menit, air kran 2-5 menit, asam alkohol 3-10 celupan, air kran 4-7 celupan, amoniak 6 celupan, air kran 10 menit, aquades secukupnya, zat warna eosin selama 1/4 menit, kemudian dimasukkan lagi dalam aquades secukupnya. Kemudian dimasukkan dalam alkohol 70%, alkohol 80% masing-masing selama 1/2 menit, alkohol 96%, alkohol absolut I dan II selama satu menit, yang terakhir dimasukkan ke dalam xylol I dan II 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 balsam.