

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN ETINILESTRADIOL
TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN HISTOLOGIS
TESTES MENCIT (*Mus Musculus*)**



OLEH :

HIKMAH YULIANI

KEDIRI - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
2000**


**PENGARUH PEMBERIAN ETINILESTRADIOL TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN
HISTOLOGIS TESTES MENCIT (*Mus Musculus*)**

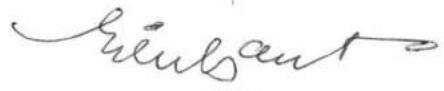
**Skripsi sebagai salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga**

Oleh :

HIKMAH YULIANI
069011700

**Menyetujui
Komisi Pembimbing**


m Mustofa, M.Kes, drh.
Pembimbing I

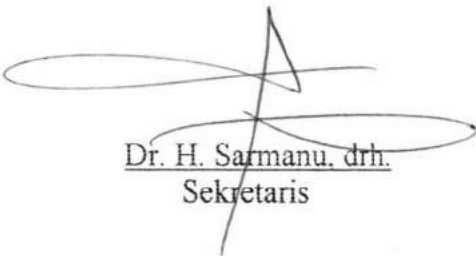

Soetji Prawesthirini, S.U, drh
Pembimbing II

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

Mengetahui
Panitia Penguji



Husni Anwar, drh
Ketua



Dr. H. Sarmanu, drh.
Sekretaris



Rr. Sri Pantja Madyawati, M Kes., drh
Anggota



Imam Mustofa, M. Kes., drh
Anggota



Soetji Prawesthirini, S.U., drh
Anggota

Surabaya, 11 Februari 2000
Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Airlangga
Dekan



Dr. Ismudiono, M.S., drh
NIP. 130687297

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan dan karunia-Nya sehingga penyusunan makalah ini dapat terselesaikan.

Dengan rasa hormat, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak Imam Mustofa, Mkesdrh. selaku pembimbing pertama dan Ibu Soetji Prawesthirini, SU, drh. selaku pembimbing kedua yang selalu bersedia memberikan bimbingan, saran dan nasihat yang sangat berguna dalam penyusunan makalah ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan dan seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah membimbing serta mendidikan penulis untuk dapat menyelesaikan studi ini. Ucapan terima kasih penulis juga kepada Universitas Airlangga yang membiayai sebagian dana penelitian melalui dana OPF.

Tak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada Kepala dan staf Laboratorium Reproduksi dan Kebidanan dan Laboratorium Makanan ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, serta staf Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Airlangga atas kesempatan, sarana dan bimbingan yang diberikan selama melaksanakan penelitian ini.

Kepada ayah dan ibu tercinta, penulis mohon maaf atas terlambatnya studi penulis, penulis juga mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas doa restunya selama ini. Kepada suami dan anakku tersayang, penulis ucapkan terima kasih atas pengertian, pengorbanan dan bantuan yang telah diberikan. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kakak, adik rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya.

Akhirnya penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam makalah ini dapat bermanfaat bagi mereka yang memerlukannya.

PENGARUH PEMBERIAN ETINILESTRADIOL TERHADAP BERAT DAN GAMBARAN HISTOLOGIS TESTES MENCIT (*Mus musculus*)

HIKMAH YULIANI

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian etinilestradiol per oral selama 36 hari terhadap berat dan gambaran histologis testes mencit (*Mus musculus*).

Penelitian ini menggunakan 32 ekor mencit jantan strain Indo Jerman, umur 3 bulan, berat badan 20 - 30 gram, sudah dewasa kelamin belum pernah dikawinkan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan delapan kali ulangan. Empat perlakuan tersebut adalah: pemberian aqudest 0,1 ml sebagai kontrol (P_0), etinilestradiol 0,00625 mg/ekor (P_1), etinilestradiol 0,0125 mg/ekor (P_2), etinilestradiol 0,025 mg/ekor (P_3), diberikan per oral satu kali sehari selama 36 hari. Perubahan yang diamati adalah berat testes, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit, jumlah sel spermatid dan jumlah sel spermatozoa. Data dianalisa dengan menggunakan Analisis Varian. Jika terdapat perbedaan nyata pada Analisis Varian ($p < 0,05$) akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil 5% (BNT) 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian etinilestradiol per oral dosis 0,00625 mg/ekor (P_1) tidak mengakibatkan penurunan berat testes. Pemberian etinilestradiol dosis 0,0125 mg/ekor (P_2), etinilestradiol dosis 0,025 mg/ekor (P_3) mengakibatkan penurunan berat testes. Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/ekor (P_1), 0,0125 mg/ekor (P_2), 0,025 mg/ekor (P_3) dapat menurunkan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid dan sel spermatozoa.

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Penelitian

Sistem reproduksi secara keseluruhan sangat tergantung pada hormon (Cole dan Cupps, 1977). Hipotalamus mensekresi *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) yang disalurkan ke hipofisa anterior untuk mensekresi hormon gonadotropin, yang terdiri dari *luteinizing hormon* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH).

Hormon utama yang mengatur fungsi testes adalah hormon gonadotropin. Sekresi hormon gonadotropin dikendalikan oleh androgen dan estrogen, tetapi apabila hormon tersebut berlebihan akan terjadi hambatan produksi gonadotropin (Hafez, 1970; Hardjopranjoto, 1980). Pada hewan jantan, FSH dan LH bekerja pada testes. *Follicle Stimulating Hormone* diperlukan untuk proses spermatogenesis dan merangsang sel Sertoli mensekresi inhibin. *Luteinizing Hormone* merangsang sel Leydig untuk mensekresi testosteron.

Testosteron diperlukan untuk memelihara spermatogenesis dan perkembangan alat kelamin sekunder jantan yaitu pertumbuhan bulu, suara lebih besar dan pembesaran genitalia. Testosteron dan LH diperlukan pada proses spermiogenesis (Partodiharjo, 1992). Testosteron menyebabkan umpan balik negatif pada hipotalamus (D'occhio, *et al.*, 1982). Peningkatan kadar testosteron pada darah akan menghambat pelepasan GnRH dari hipotalamus, adanya hambatan ini menyebabkan sekresi LH dari hipofisa anterior menurun (Smith dan William, 1987). Penurunan

satu pulsus GnRH akan diikuti penurunan satu pulsus LH. Testosteron menekan sekresi hormon gonadotropin dari hipofisa anterior (Paschkis, *et al.*, 1954).

Inhibin mengandung bahan non steroid, bersifat larut dalam air dan merupakan protein dengan berat molekul lebih dari 10.000 yang disekresi oleh sel Sertoli atau beberapa unsur tubulus seminiferus (Ganong, 1983). Inhibin beraksi langsung pada hipofisa anterior untuk menghambat sekresi FSH (Melmon dan Morreli, 1978).

Estrogen dapat dianggap sebagai anti androgen alami. Efek estrogen pada jaringan target berlawanan dengan androgen (Purwastyastuti, 1987). Estrogen menyebabkan umpan balik negatif pada hipotalamus, apabila kadar estrogen dalam darah meningkat akan menghambat sekresi releasing hormon dari hipotalamus (Soffer, 1956). Estrogen diduga menurunkan kadar testosteron karena estrogen menghambat sekresi LH (Ganong, 1983).

Estrogen terdiri dari estradiol, estriol dan estron (Grollman, 1947). Estradiol mempunyai potensi estrogenik paling kuat (Abrams, 1983). Salah satu estrogen sintetik paling poten adalah etinilestradiol. Melalui pemberian per oral, etinilestradiol dapat dimetabolisme di hepar dan jaringan lain jauh lebih lambat daripada estrogen alami, karena itu masa kerja estrogen ini lebih lama dan dapat diberikan satu hari sekali sedangkan estrogen alami harus diberikan dua atau tiga kali sehari (Suherman, 1987).

Penggunaan etinilestradiol pada hewan belum banyak digunakan, sedangkan pada manusia etinilestradiol digunakan untuk terapi defisiensi estrogen endogen,

hipoplasia mammae, menghambat laktasi, serta digunakan untuk terapi hiperseksualitas pada pria.

I.2. Perumusan Masalah

Pemberian etinilestradiol secara terus menerus menyebabkan gangguan hormonal dan mempengaruhi steroidogenesis testes. Etinilestradiol menyebabkan umpan balik negatif pada hipotalamus, sehingga menghambat sekresi releasing hormon dari hipotalamus dan juga menghambat hipofisa anterior untuk mensekresi FSH dan LH, karena FSH dan LH menurun maka sekresi hormon dari testes juga menurun. Penurunan semua hormon tersebut mengakibatkan proses spermatogenesis menurun, apabila hal ini berlangsung terus dalam waktu lama mungkin menyebabkan proses spermatogenesis berhenti.

Berdasar latar belakang tersebut dapat dibuat suatu permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian etinilestradiol berpengaruh terhadap berat testes ?
2. Apakah pemberian etinilestradiol berpengaruh terhadap proses spermatogenesis ?

I.3. Landasan Teori

Peningkatan kadar etinilestradiol dalam darah menyebabkan hambatan pelepasan GnRH yang diikuti penurunan hormon gonadotropin (Tortora dan Anagnastakar, 1984). Estrogen diduga menurunkan kadar testosteron karena estrogen menghambat sekresi LH (Ganong, 1983). Testosteron diperlukan dalam jumlah tinggi pada testes untuk proses spermatogenesis (Nalbandov, 1990).

Spermiogenesis adalah proses penyempurnaan spermatid menjadi spermatozoa yang berlangsung di bawah peranan LH dan testosteron (Partodiharjo, 1992).

1.4. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh penggunaan etinilestradiol terhadap berat testes dan proses spermatogenesis dengan melihat gambaran histologis testes mencit.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi lebih jauh tentang penggunaan etinilestradiol pada hewan jantan untuk kastrasi secara hormonal.

1.6. Hipotesis

1. Pemberian etinilestradiol per oral selama 36 hari akan menurunkan berat testes.
2. Pemberian etinilestradiol per oral selama 36 hari akan menurunkan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid dan sel spermatozoa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan Umum Hormon Estrogen

Hormon adalah senyawa yang secara normal dikeluarkan oleh kelenjar endokrin atau jaringan tubuh dan dilepaskan dalam peredaran darah menuju jaringan sasaran, berinteraksi secara selektif dengan reseptor khas dan menimbulkan efek biologis. Hormon dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu hormon kelenjar dan hormon jaringan. Hormon kelenjar yaitu hormon yang dikeluarkan oleh kelenjar-kelenjar endokrin, seperti kelenjar adrenal, pituitary, tiroid, pankreas dan gonad. Hormon jaringan yaitu hormon yang dihasilkan oleh jaringan seperti histamin, norepinefrin, dan serotonin (Siswandono dan Bambang, 1995).

Estrogen dibentuk dalam folikel ovarium oleh sel teka interna. Setelah ovulasi estrogen maupun progesteron disintesis oleh sel granulosa korpus luteum (Katzung, 1995) dan dalam jumlah kecil oleh korteks adrenal dan testes (Ganong, 1983). Pada jantan, estrogen dihasilkan melalui proses aromatisasi testosteron di dalam sel sertoli (De Kretzer, 1984).

Secara kimia maupun potensinya, estrogen dibedakan menjadi tiga yaitu :

1. Estron, diisolir dari urin.
2. Estriol, hormon estrogen yang berasal dari plasenta dan dikeluarkan bersama urin.
3. Estradiol, hormon estrogen yang berasal dari ovarium dan mempunyai efek paling kuat terutama estradiol 17 Beta.

Pemberian estrogen menyebabkan perkembangan mengarah ke wajah betina, memperlambat pertumbuhan jengger, memperlambat dan mempengaruhi pertumbuhan bulu, merendahkan kecepatan metabolisme, menaikkan deposisi kalsium tulang panjang pada golongan burung dan ayam jantan, menurunkan produksi hormon jantan, mengecilkan testes (Hardjopranto, 1980; Partodihardjo, 1992; Frandson, 1992). Estrogen menyebabkan kemampuan seksual pria berkurang (Gladkova, 1999).

II.1.1. Etinilestradiol

Dengan mengadakan perubahan struktur kimia estrogen alami yang umumnya kurang efektif, diperoleh estrogen sintetik yang lebih efektif. Salah satu derivat yang paling poten adalah estradiol. Estradiol mudah dioksidasi dalam hepar menjadi estron dan dinonaktifkan menjadi estriol (Suherman, 1987). Efek fisiologi dari estrogen sintetik tidak berbeda dengan estrogen alami, hanya potensi dan lama kerjanya berbeda (Mc Donald, 1965). Estradiol menghambat produksi androgen dan perkembangan serta pertumbuhan sel Leydig dalam testes (Abney, 1999).

II.2. Anatomi dan Fisiologi Reproduksi Hewan Jantan

II.2.1. Anatomi Alat Reproduksi Hewan Jantan

Testes merupakan alat reproduksi primer pada jantan. Alat reproduksi sekunder berupa saluran yang menghubungkan testes dengan dunia luar meliputi vas eferens, epididimis, vas deferens dan penis yang dipakai menyalurkan sel spermatozoa keluar, cairan asesoris dan uretra (Hardjopranto, 1980).

Testes satu spesies agak berbeda dengan spesies lain dalam hal bentuk, ukuran, lokasi, tetapi struktur dasarnya sama (Frandsen, 1992).

Golongan mamalia laut dan unggas mempunyai sepasang testes yang terletak di dalam rongga perut tanpa adanya gangguan proses spermatogenesis. Testes golongan rodentia dapat berpindah dari dalam skrotum ke dalam rongga perut, pada musim kawin testes di dalam kantong skrotum sedangkan di luar musim kawin testes berada dalam rongga perut (Hardjopranjoto, 1980).

Testes terletak pada daerah prepubis, terbungkus dalam skrotum dan digantung oleh funiculus spermaticus (Toelihere, 1981).

Testes berbentuk oval seperti bentuk kacang tersusun dari kelenjar tubulus (Copenhaver, *et al.*, 1978). Pada keadaan normal, kedua testes adalah sama besar mempunyai konsistensi ketat tetapi tidak keras, dan dapat bebas bergerak ke atas dan ke bawah dalam skrotum (Toelihere, 1981).

Skrotum berisi dua lobi, setiap lobi berisi satu testes (Junqueira, *et al.*, 1988). Kedua testes dibatasi oleh dua selaput jaringan fibroelastis bercampur dengan serabut otot polos yang disebut tunika dartos (Frandsen, 1992). Skrotum berfungsi memelihara temperatur testes (7° F dibawah temperatur tubuh) dengan jalan berkontraksi dan dilatasi sehingga proses spermatogenesis dapat terjadi secara sempurna (Hardjopranjoto, 1980).

II.2.2. Histologis Testes

Secara histologis testes dibungkus oleh tunika albugenia, suatu lapisan putih yang tersusun dari jaringan ikat dan serabut-serabut otot licin. Pada tepi proksimal

testes, tunika albugenia memasuki testes dan membentuk suatu penebalan yang disebut mediastinum testes. Dari mediastinum testes ini dilepaskan sekat-sekat berupa selaput tipis yang disebut septula testes. Septula testes membagi testes menjadi beberapa lobulus, dalam lobulus-lobulus ini terdapat tubulus seminiferus (Hafez, 1970; Toelihere, 1981; Junqueira, *et al.*, 1988).

Pada potongan melintang testes tampak bentukan tubulus seminiferus yang merupakan kelenjar sitogenus dan menghasilkan spermatozoa (Ross dan Reith, 1985). Tubulus seminiferus berupa gulungan panjang berbelit-belit. Lebih dari 90% bagian testes merupakan tubulus seminiferus dengan panjang 30 - 70 cm dan diameternya 150 - 250 mikron (Copenhaver, *et al.*, 1978; Nalbandov, 1990). Pada ujung apikal terjadi penyempitan lumen dan membentuk segmen pendek disebut tubulus rektus, yang merupakan segmen pertama dari sistem saluran kelamin. Saluran ini masuk ke rete testes (Ross dan Reith, 1985).

Dinding tubulus seminiferus terdiri tiga lapisan dari luar ke dalam yaitu tunika propria, *laminabasis* dan lapisan epitelium (Copenhaver, *et al.*, 1978). Tunika propria terdiri beberapa lapisan fibroblast dan berfungsi sebagai alat transportasi sel spermatozoa dari tubulus ke epididimis dengan cara berkontraksi. Lapisan epitel terdiri dua macam sel yaitu *sel spermatogenik* (sel benih) dan *sel sertoli* atau sel penyokong (Junqueira, *et al.*, 1988).

Sel spermatogenetik tersusun dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruang antara membran basalis dan lumen tubulus (Junqueira, *et al.*, 1988). Sel ini akan mengalami perubahan selama proses spermatogenesis, sebelum siap

untuk mengadakan fertilisasi (Hardjopranjoto, 1980). Sel spermatogenik terdiri dari spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid, dan spermatozoa (Ferdinandus, 1991). Spermatogonia terletak di dekat dinding tubulus seminiferus, berbentuk bulat dan kecil. Spermatosit primer tampak lebih besar dan menonjol pada lumen tubulus seminiferus. Spermatosit sekunder lebih kecil daripada spermatosit primer. Spermatosit sekunder jarang terlihat karena segera membelah (Meiosis II) setelah interfase singkat (Craigmyle, 1987). Spermatid tampak dengan inti bulat pada pusat, banyak mitokondria dan sepasang sentriol (Ferdinandus, 1991). Sel spermatid mengalami transformasi menjadi spermatozoa. Spermatozoa dewasa terdiri dari kepala, leher, ekor (Bevelander dan Ramaley, 1988).

Sel Sertoli terletak di antara sel-sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus, berbentuk piramid. Sel Sertoli mengatur nutrisi spermatozoa yang sedang berkembang, juga bersifat fagosit karena memakan sel spermatozoa yang telah mati atau yang mengalami degenerasi. Sel ini juga mensekresi cairan yang digunakan untuk mengangkut sel-sel spermatogenik, hormon estrogen dan inhibin (Hardjopranjoto, 1980; Lesson dan Lesson, 1981; Junqueira, *et al.*, 1988).

Di antara tubulus seminiferus terdapat jaringan interstitial. Pada jaringan interstitial terdapat pembuluh-pembuluh darah, syaraf, limfe dan sel Leydig. Sel Leydig berbentuk bulat, dan menghasilkan hormon jantan terutama testosteron yang bertanggung jawab terhadap perkembangan ciri-ciri sekunder kelamin jantan (Toelihere, 1981; Junqueira, *et al.*, 1988).

II.2.3. Fisiologi Reproduksi Hewan Jantan.

II.2.3.1. Poros Hipotalamus-Hipofisa-Testes

Testes mempunyai dua fungsi utama yaitu fungsi endokrinologi dan fungsi reproduksi (Hafez, 1970; Salisbury dan Van Denmark, 1985). Fungsi endokrin dari testes yaitu menghasilkan hormon steroid (androgen dan estrogen) dan hormon non steroid (inhibin). Sebagai organ reproduksi, fungsi testes adalah menghasilkan sel-sel kelamin jantan di dalam tubulus seminiferus. Perkembangan dan fungsi testes dipelihara oleh hormon gonadotropin dari kelenjar hipofisa anterior (Hafez, 1970).

Hipotalamus dalam sistem reproduksi mamalia berfungsi menghubungkan susunan syaraf pusat (SSP) dan proses reproduksi dengan jalan mengirimkan sinyal-sinyal neurohormonal (GnRH) ke hipofisa anterior. *Gonadotrophin Releasing Hormone* merangsang kelenjar hipofisa untuk mengeluarkan hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH yang selanjutnya akan mempengaruhi testes untuk berfungsi. FSH menstimulir pertumbuhan sel-sel germinatif dari tubulus seminiferus dan mendorong terjadinya proses spermatogenesis secara sempurna. *Follicle Stimulating Hormone* juga akan merangsang sel-sel sertoli untuk menghasilkan inhibin. *Luteinizing Hormone* 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 beta) di dalam sel Sertoli (De Kretser, 1984).

Melalui testosteron yang dipengaruhi pelepasannya, LH menyebabkan stimulasi sifat-sifat kelamin sekunder dan kelenjar-kelenjar aksesoris

(Toelihere, 1981). Menurut Davidson dan Sawyer (1961) yang dikutip oleh Toelihere (1981), testosteron bekerja secara langsung terhadap hipofisa dan menghambat pelepasan FSII, LH dan sintesa androgen. Menurut pendapat Tjondronegoro (1992) yang dikutip oleh Tedja (1993) menyatakan bahwa testosteron, estrogen dan inhibin secara bersama-sama menghambat sekresi FSH, sedangkan sekresi LH dihambat secara bersama-sama oleh testosteron dan estrogen. Gonadotropin distimulir dari hipotalamus dan dihambat oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh testes. Hubungan timbal balik antara hipotalamus hipofisa anterior dan testes dapat disimpulkan sebagai berikut :

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

II.2.3.2. Hormon-hormon Reproduksi Hewan Jantan

Hormon-hormon yang berperan dalam sistem reproduksi hewan jantan adalah:

- a). Hormon yang dihasilkan hipotalamus (GnRH), b). Hormon yang dihasilkan

hipofisa anterior FSH dan LH dan c). Hormon-hormon yang dihasilkan testes, yang terdiri hormon steroid (testosteron dan estrogen) dan hormon non steroid (inhibin).

a). *Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH)*

Gonadotrophin Releasing Hormone disintesis oleh badan sel saraf di daerah pre optik yang terletak di bagian anterior hipotalamus (Caldani, *et al.*, 1988). *Gonadotrophin Releasing Hormone* disekresi dalam bentuk pulsus melalui terminal saraf yang berakhir di median eminensia dan selanjutnya melalui sistem otak menuju hipofisa anterior untuk merangsang sintesis dan sekresi gonadotropin (Thiery dan Martin, 1991).

Salah satu faktor yang mempengaruhi sintesa dan pelepasan GnRH adalah neurotransmitter dalam hipotalamus yang banyak mengandung monoamine. Sekresi GnRH juga dapat dipengaruhi oleh suatu agen dengan mengubah sintesis, metabolisme dan menghambat kerja reseptor *post sinap* yang mengikat neurotransmitter (Karsch, 1984). Hormon-hormon gonad dan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) dari hipofisa anterior dipengaruhi hipotalamus melalui mekanisme umpan balik negatif. Sekresi FSH dari kelenjar hipofisa anterior ke sistem peredaran darah dan konsentrasinya relatif konstan selama 24 jam (Lincoln dan Peet, 1977). Respon LH dalam bentuk pulsus dan tiap pulsus LH terjadi akibat rangsangan satu pulsus GnRH dari hipotalamus (Caraty dan Locatelli, 1988).

b). *Hormon-hormon Follicle Stimulating Hormone dan Luteinizing Hormone*

Sintesa dan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) dari kelenjar hipofisa anterior dirangsang oleh GnRH yang disekresikan hipotalamus.

Follicle Stimulating Hormone menstimulir pertumbuhan sel-sel germinatif dari tubulus seminiferus dan mendorong terjadinya proses spermatogenesis. *Luteinizing Hormone* menstimulir pertumbuhan sel-sel interstitial terutama sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron (Hardjopranto, 1980). *Follicle Stimulating Hormone* merangsang sel Sertoli untuk menghasilkan *Androgen Binding Protein (ABP)*. Ikatan ABP – androgen kompleks diangkut ke dalam lumen tubulus seminiferus dan masuk ke dalam sel-sel germinal untuk mengadakan interaksi dengan suatu reseptor protein khusus, dengan demikian merangsang peningkatan aktifitas-aktifitas metabolisme dan pendewasaan sel-sel germinal (Ferdinandus, 1991).

c). *Hormon-hormon yang dihasilkan Testes* (testosteron, estrogen dan inhibin)

Testosteron merupakan hormon steroid yang dihasilkan testis, ovarium dan kelenjar adrenal. Testosteron disekresi dalam bentuk pulsus (Sanford, *et al.*, 1976). Tiap Pulsus testosteron dihasilkan sebagai respon terhadap tiap pulsus LH. Masing-masing puncak LH diikuti oleh puncak testosteron dalam waktu 50 sampai 60 menit (Katongoley *et al.*; 1974). Testosteron berpengaruh terhadap sifat jantan. Testosteron essential untuk mengontrol sifat kelamin sekunder, tingkah laku seksual serta kemampuan fungsional saluran-saluran reproduksi dan kelenjar asesoris (Turner dan Bagnara, 1988). Testosteron mempunyai peranan pada pembelahan meiosis, spermatosit pertama (Soeradi, 1979). Dengan demikian bila produksi testosteron menurun maka pembelahan meiosis juga akan terhambat.

Estrogen testes dihasilkan melalui proses aromatisasi dari testosteron di dalam sel Sertoli (De Kretser, 1984). Estrogen menyebabkan penyusutan diameter tubulus

seminiferus dan penipisan lapisan epitel tubulus seminiferus serta menghambat spermatogenesis (Limanowski, *et al.*, 1999).

Inhibin merupakan protein dengan berat molekul lebih dari 10.000 yang disekresi oleh sel sertoli atau beberapa unsur tubulus seminiferus dan langsung bekerja pada hipofisa (Ganong, 1983). Inhibin merupakan hormon nonsteroid dari testes yang secara spesifik menekan sekresi FSH, karena itu organ sasaran inhibin adalah hipofisa anterior (Au, *et al.*, 1984). Bersama-sama hormon steroid, inhibin akan mengadakan interaksi sinergis untuk menghambat sekresi FSH (Hafez, 1970).

II.3. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah pembentukan sel spermatozoa di dalam tubulus seminiferus yang terjadi secara berkala setelah hewan mencapai dewasa kelamin (Junqueira, *et al.*, 1988). Proses spermatogenesis merupakan proses berkesinambungan selama hidup (Wodzicka, *et al.*, 1991).

Lama proses spermatogenesis yaitu waktu yang diperlukan untuk menghasilkan spermatozoa. Lama proses spermatogenesis berbeda menurut spesiesnya. Sapi membutuhkan waktu 50 - 62 hari, sedangkan domba 46 - 49 hari dan babi 35 - 46 hari, kelinci 50 - 52 hari, tikus membutuhkan waktu spermatogenesis 45 - 48 hari (Toelihere, 1981). Menurut Whittingham dan Wood (1983), proses spermatogenesis pada mencit 34,5 hari.

Kapasitas produksi spermatozoa ditentukan lebih dulu oleh hereditas, dikendalikan oleh kelenjar hipofisa anterior dan faktor-faktor lain yang

mempengaruhi testes secara tidak langsung melalui kelenjar hipofisa atau secara langsung terhadap testes sendiri (Toelihere, 1981).

Menurut Hafez (1970) spermatogenesis terdiri dari dua yaitu proses *spermatositogenesis* dan proses *spermiogenesis*. *Spermatositogenesis* merupakan rangkaian pembelahan dari spermatogonia menjadi spermatid. *Spermiogenesis* merupakan proses metamorfosa sel spermatid menjadi spermatozoa (Junqueira, *et al.*, 1988).

Menurut Toelihere (1981), proses spermatogenesis pada mamalia dapat dibagi menjadi empat fase yaitu pertama pembelahan mitosis spermatogonia tipe A (Dormant) yang menjamin penyediaan spermatogonia selanjutnya, dan satu spermatogonia tipe B yang aktif membagi diri sebanyak empat kali sehingga membentuk delapan spermatosit primer. Fase pertama ini memerlukan waktu kurang lebih 15 - 17 hari. Fase kedua adalah pembelahan meiosis dari spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder, membutuhkan waktu kurang lebih 15 hari. Fase ketiga terjadi pembelahan spermatosit sekunder menjadi spermatid, berlangsung selama beberapa jam. Fase keempat terjadi metamorfosa yang merupakan proses perubahan spermatid menjadi spermatozoa tanpa mengalami pembelahan sel. Fase I, II, III disebut spermatositogenesis dan fase IV disebut spermiogenesis.

Spermatogonia tipe A mempunyai inti bulat atau lonjong dengan satu atau dua nukleoli yang melekat pada membran inti, dan granul-granul kromatin halus. Spermatogonia tipe B mempunyai inti bulat dengan satu nukleolus di tengah dan granul kromatin. Spermatosit primer merupakan sel diploid besar dengan inti bulat

besar. Spermatisit sekunder lebih kecil daripada spermatisit primer dan menempati daerah pertengahan dari tubulus seminiferus. Spermatisit sekunder jarang terlihat karena segera membelah setelah interfase singkat. Spermatid merupakan sel kecil dengan inti bulat dan terdapat dekat lumen tubulus (Craigmyle, 1987).

Spermiogenesis adalah proses pematangan spermatid menjadi spermatozoa. Hal ini terjadi setelah meiosis, merupakan proses perubahan dari spermatid kecil, bulat menjadi spermatozoa yang memanjang dan mempunyai ekor. Tahap-tahap yang terjadi dalam proses ini terdiri atas, (1) pembentukan akrosom (suatu penurunan dari alat golgi), (2) perubahan dalam bentuk dan derajat kondensasi dari nukleus, (3) pembentukan flagellum yang kelak akan menjadi motil dan (4) pembentukan kembali dari sitoplasma yang luas, termasuk pembentukan selubung mitokondrium.

Akrosom mengandung enzim yang diperlukan untuk penetrasi (penembusan) telur oleh sperma. Akrosom dengan gelembungnya terletak di antara alat golgi dan membran nukleus. Gelembung membesar dan akhirnya membungkus hampir separuh dari permukaan nukleus, akhirnya ia bersatu dan membentuk membran yang menutupi akrosom yang dikenal sebagai tudung akrosom atau tudung kepala. Selama pembentukan akrosom pada salah satu kutub nukleus, satu dari sentriolnya berubah menjadi flagellum ramping pada kutub yang berlawanan. Deferensiasi selanjutnya terdiri dari pemasangan selubung filamen mengelilingi filamen-filamen aksial dari flagellum. Sementara itu, sentriol yang lain berpindah ke arah permukaan sel dan memberikan annulus (cincin) yang melingkari filamen-filamen aksial yang membujur. Nukleusnya mengecil ukurannya, menjadi pipih dan memanjang, dan

kemudian dikenal sebagai kepala sperma. Perkembangan ekornya berupa pergeseran sitoplasma dan penyusunan kembali mitokondria ke daerah di antara sentriol dasar anulus. Di daerah ini, mitokondrianya tersusun dalam bentuk spiral dan menjadi selubung mitokondrial dari bagian tengah sperma yang berkembang. Ketika terjadi defensiasi lebih lanjut, sitoplasma yang berlebihan dibuang sebagai benda sisa (*residual body*), dengan demikian akhirnya spermatozoa tertutup oleh suatu lapisan sitoplasma yang sangat tipis. Sperma mamalia terdiri tiga komponen utama : kepala, leher dan ekor (Bevelander and Ramaley, 1988). Dengan terbentuknya spermatozoa berarti proses spermatogenesis telah selesai dan spermatozoa akan masuk ke lumen tubulus seminiferus.

BAB III

MATERI DAN METODA

III.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Sediaan histologis dibuat di Laboratorium Medika Sumbawa, Jl. Biliton No. 75 Surabaya. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan.

Penelitian dilaksanakan tanggal 22 Februari 1995 sampai dengan 7 April 1995.

III.2. Materi Penelitian

III.2.1. Hewan Percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 32 ekor mencit jantan strain Indo Jerman, umur 3 bulan, sudah dewasa kelamin dan belum pernah dikawinkan dengan berat badan 20 - 30 gram. Mencit tersebut diperoleh dari PUSVETMA Surabaya.

III.2.2. Bahan Penelitian

- a. Pakan ayam bentuk pellet (Par-G, Comfeed) sebagai pakan mencit.
- b. Air PDAM sebagai minum mencit.
- c. Preparat etinilestradiol (Lynoral, Organon) berbentuk tablet 0,05 mg yang akan disondekan pada mencit.
- d. Aquadest steril untuk melarutkan tablet etinilestradiol.

- e. Larutan chloroform untuk membunuh mencit.
- f. Larutan formalin 10 % untuk fiksasi testes.
- g. Bahan untuk proses dehidrasi dan clearing yaitu : alkohol 70%, 80%, 95%, 96%; alkohol absolut I dan II, xylol I dan II.
- h. Bahan untuk pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) yaitu : xylol I, II alkohol absolut I dan II, alkohol 96%, 80%, 70%, air kran, zat warna Harris, zat warna Eosin, acid alkohol, amonia.
- i. Balsam canada untuk perekat.

III.2.3. Alat Penelitian

- a. Empat kandang mencit yang terbuat dari kotak plastik berukuran 35 cm x 30 cm x 12,5 cm, serta tutup berupa kawat kasa.
- b. Tempat makan dan minum dari plastik.
- c. Timbangan Sartorius untuk menimbang berat badan mencit dan timbangan Libror untuk menimbang testes mencit.
- d. Cawan porselen dan mortal untuk menghaluskan tablet etinilestradiol.
- e. S spuit tuberkulin dengan jarum tumpul untuk menyonde mencit.
- f. Sarung tangan, pinset, skalpel dan gunting untuk mengambil testes.
- g. Pot plastik 50 mg untuk menyimpan testes.

III.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Hewan Percobaan

Tiga puluh dua ekor mencit jantan dibagi secara acak menjadi empat kelompok. Setiap kelompok terdiri 8 ekor. Mencit-mencit tersebut dimasukkan ke

dalam kotak plastik yang telah dipersiapkan. Pemberian makan dan minum secara *ad libitum*. Mencit diadaptasikan selama satu minggu.

3.3.2. Persiapan Pemberian Etinilestradiol

Preparat etinilestradiol berupa tablet (Lynoral, buatan Organon) dihaluskan dalam cawan porselin dengan menggunakan mortal, kemudian dilarutkan dalam aquadest.

Dosis terapi dari etinilestradiol untuk hiperseksualitas pada pria adalah 0,05 – 0,15 mg. Seandainya digunakan untuk terapi hiperseksualitas pada mencit harus dikonversikan dengan dikalikan 0,0026 sehingga diperoleh 0,00013 – 0,00039 mg. Tujuan penelitian ini bukan untuk terapi hiperseksual pada mencit, tetapi untuk membuktikan bahwa etinilestradiol dapat digunakan untuk kastrasi, peneliti mencoba dengan memberikan etinilestradiol lebih banyak daripada dosis untuk terapi hiperseksual.

III.3.3. Perlakuan Pada Hewan Percobaan

Setelah masa adaptasi selesai, keempat kelompok mencit diberi perlakuan sebagai berikut:

Kelompok Kontrol (P_0) : diberi aquadest 0,1 ml/ekor

Kelompok Perlakuan (P_1) : diberi etinilestradiol sebanyak 0,00625 mg/ekor

Kelompok Perlakuan (P_2) : diberi etinilestradiol sebanyak 0,0125 mg/ekor

Kelompok Perlakuan (P_3) : diberi etinilestradiol sebanyak 0,025 mg/ekor

Preparat etinilestradiol diberikan per oral, satu kali sehari selama 36 hari, dengan menggunakan spuit tuberkulin yang dilengkapi dengan jarum tumpul sebagai sonde.

III.3.4. Pengambilan Testes Dan Pembuatan Sediaan Histologis

Setelah masa percobaan selesai, seluruh mencit dibunuh dengan cara memasukkannya ke dalam toples berisi kapas yang telah dibasahi dengan kloroform. Setelah mencit mati, dilakukan pembedahan untuk mengambil testes. Dibuat sayatan memanjang pada kulit abdominal, dinding perut di buka kemudian kedua testes diambil secara *lege artis*. Testes ditimbang dengan timbangan merk *Libror* di Laboratorium Makanan Ternak FKHUA. Testes kemudian dimasukkan ke dalam pot yang berisi *larutan formalin 10 %*.

Pembuatan sediaan histologis dilakukan setelah 24 jam atau lebih, asal tidak lebih dari empat hari. Sediaan histologis dibuat di Laboratorium Medika Sumbawa, Surabaya. Tahapan-tahapan pembuatan sediaan histologis dapat dilihat pada lampiran 8.

III.3.5 Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis untuk menghitung sel-sel spermatogenik dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi. Pemeriksaan dilakukan pada enam potong tubulus seminiferus dari setiap testes, pembesaran 400X.

III.4. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati adalah berat testes, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit, jumlah sel spermatid dan jumlah sel spermatozoa.

1. Berat testes
2. Sel spermatogonia : inti bulat, melekat pada membrana basalis, mengandung granul-granul kromatin (Craigmyle, 1987).
3. Sel spermatosit : sel spermatosit primer merupakan sel diploid besar dengan inti bulat besar. Sel spermatosit sekunder lebih kecil daripada sel spermatosit primer dan menempati daerah pertengahan dari tubulus seminiferus. Sel spermatosit sekunder jarang terlihat karena segera membelah setelah interfase singkat (Craigmyle, 1987).
4. Sel spermatid : sel kecil dengan inti bulat dan terdapat dekat lumen tubulus seminiferus (Craigmyle, 1987).
5. Sel spermatozoa : sel spermatozoa terdiri kepala, leher, ekor (Craigmyle, 1987).

III.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena perlakuan, kondisi lingkungan dan umur homogen serta sistim pemilihan dilakukan secara acak. Penelitian dilakukan dengan empat perlakuan dan delapan kali ulangan, untuk menganalisa data hasil penelitian tersebut digunakan F_{tabel} yang dibandingkan dengan F_{hitung} dari Analisis Varian, kalau dalam perhitungan diketahui ada perbedaan (F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel}) maka untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda dilakukan uji Beda Nyata Terkecil 5% (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh pemberian etinilestradiol terhadap berat testes, jumlah sel spermatogonia, jumlah sel spermatosit, jumlah sel spermatid dan spermatozoa dari 32 ekor mencit jantan berumur 3 bulan yang pengaruhnya dilihat 36 hari kemudian, hasilnya akan diuraikan pada beberapa sub bab di bawah ini dengan beberapa data disajikan dalam bentuk tabel.

IV.1. Berat Testis

Tabel 1. Rata-rata Berat Testes setelah perlakuan (mg)

Perlakuan	Berat Testis ($\bar{X} \pm SD$)
P ₀	181,35 ± 30,7673 ^a
P ₁	156,55 ± 22,8117 ^a
P ₂	120 ± 28,4966 ^b
P ₃	77,25 ± 19,9433 ^c

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Dari tabel 1 di atas dapat dilihat pada mencit perlakuan kontrol (P₀), rata-rata berat testes 181,35 ± 30,7673 mg. Pada mencit perlakuan 1 (P₁), rata-rata berat testes 156,55 ± 22,8117 mg. Pada mencit perlakuan 2 (P₂), rata-rata berat testes 120 ± 28,4966 mg. Pada mencit perlakuan 3 (P₃), rata-rata berat testes

77,25 ± 19,9433 mg. Setelah diuji dengan Analisis Varian (Anava) ternyata diperoleh hasil berbeda nyata ($p < 0,05$), ini berarti pemberian etinilestradiol dapat menurunkan berat testes mencit. Hasil uji Beda Nyata Terkecil 5 % (BNT 5 %) menunjukkan berat testes tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (P_0) dan perlakuan 1 (P_1) yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Berat testes terendah terdapat pada perlakuan 3 (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain (Lihat lampiran 1).

IV.2. Jumlah Sel Spermatogonia

Tabel 2. Rata-rata Jumlah Sel Spermatogonia

Perlakuan	Sel spermatogonia ($\bar{X} \pm SD$)
P_0	35,15 ± 1,5062 ^a
P_1	29,15 ± 1,7437 ^b
P_2	27,40 ± 1,3340 ^c
P_3	25,73 ± 0,8110 ^d

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Dari tabel 2 di atas dapat dilihat pada mencit perlakuan kontrol (P_0), rata-rata jumlah sel spermatogonia 35,15 ± 1,5062. Pada mencit perlakuan 1 (P_1), rata-rata jumlah sel spermatogonia 29,15 ± 1,7437. Pada mencit perlakuan 2 (P_2), rata-rata jumlah sel spermatogonia 27,40 ± 1,3340. Pada mencit perlakuan 3 (P_3), rata-rata jumlah sel spermatogonia 25,73 ± 0,8110. Setelah diuji dengan Analisis Varian (Anava) ternyata diperoleh hasil berbeda nyata ($p < 0,05$), ini berarti pemberian

etinilestradiol dapat menurunkan jumlah sel spermatogonia dalam tubulus seminiferus. Hasil uji Beda Nyata Terkecil 5 % (BNT 5 %) menunjukkan jumlah sel spermatogonia tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatogonia terendah terdapat pada perlakuan 3 (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain (Lihat lampiran 2).

IV.3. Jumlah Sel Spermatisit

Tabel 3. Rata-rata Jumlah Sel Spermatisit

Perlakuan	Sel spermatisit ($\bar{X} \pm SD$)
P_0	$45,92 \pm 1,7574^a$
P_1	$43,29 \pm 1,5729^b$
P_2	$41,81 \pm 1,8695^b$
P_3	$32,85 \pm 1,9107^c$

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Pada tabel 3 di atas dapat dilihat pada mencit perlakuan kontrol (P_0), rata-rata jumlah sel spermatisit $45,92 \pm 1,7574$. Pada mencit perlakuan 1 (P_1), rata-rata jumlah sel spermatisit $43,29 \pm 1,5729$. Pada mencit perlakuan 2 (P_2), rata-rata jumlah sel spermatisit $41,81 \pm 1,5729$. Pada mencit perlakuan 2 (P_2), rata-rata jumlah sel spermatisit $32,85 \pm 1,9107$. Setelah diuji dengan Analisis Varian (Anava) ternyata diperoleh hasil berbeda nyata ($p < 0,05$), ini berarti pemberian etinilestradiol dapat menurunkan jumlah sel spermatisit dalam tubulus seminiferus.



Hasil uji Beda Nyata Terkecil 5 % (BNT 5 %) menunjukkan jumlah sel spermatis tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatis terendah terdapat pada perlakuan 3 (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Perlakuan 1 (P_1) tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2 (P_2). (Lihat lampiran 3).

IV.4. Jumlah Sel Spermatid

Tabel 4. Rata-rata Jumlah Sel Spermatid

Perlakuan	Sel spermatid ($\bar{X} \pm SD$)
P_0	$137,06 \pm 2,0471^a$
P_1	$125,50 \pm 1,8676^b$
P_2	$82,08 \pm 1,8822^c$
P_3	$19,83 \pm 2,0079^d$

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Dari tabel 4 di atas dapat dilihat pada mencit perlakuan kontrol (P_0), rata-rata jumlah sel spermatid $137,06 \pm 2,0471$. Pada mencit perlakuan 1 (P_1), rata-rata jumlah sel spermatid $125,50 \pm 1,8676$. Pada mencit perlakuan 2 (P_2), rata-rata jumlah sel spermatid $82,08 \pm 1,8822$. Pada mencit perlakuan 3 (P_3), rata-rata jumlah sel spermatid $19,83 \pm 2,0079$. Setelah diuji dengan Analisis Varian (Anava) ternyata diperoleh hasil berbeda nyata ($p < 0,05$), ini berarti pemberian etinilestradiol dapat menurunkan jumlah sel spermatid dalam tubulus seminiferus. Hasil uji Beda Nyata

Terkecil 5 % (BNT 5 %) menunjukkan jumlah sel spermatid tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatid terendah terdapat pada perlakuan 3 (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain (Lihat lampiran 4).

IV.5. Sel Spermatozoa

Tabel 5. Rata-rata Jumlah Sel Spermatozoa

Perlakuan	Sel spermatozoa ($\bar{X} \pm SD$)
P_0	$22,33 \pm 1,8574^a$
P_1	$20,27 \pm 1,7951^b$
P_2	$6,50 \pm 1,9126^c$
P_3	$0,00 \pm 0,00^d$

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Dari tabel 5 di atas dapat dilihat pada mencit perlakuan kontrol (P_0), rata-rata jumlah sel spermatozoa $22,33 \pm 1,8574$. Pada mencit perlakuan 1 (P_1), rata-rata jumlah sel spermatozoa $20,27 \pm 1,7951$. Pada mencit perlakuan 2 (P_2), rata-rata jumlah sel spermatozoa $6,50 \pm 1,9126$. Pada mencit perlakuan 3 (P_3) jumlah sel spermatozoa nol (tidak terbentuk). Setelah diuji dengan Analisis Varian (Anava) ternyata diperoleh hasil berbeda nyata ($p < 0,05$), ini berarti pemberian etinilestradiol dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa dalam tubulus seminiferus. Hasil uji Beda Nyata Terkecil 5 % (BNT 5 %) menunjukkan jumlah sel spermatozoa tertinggi

terdapat pada perlakuan kontrol (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatozoa terendah terdapat pada perlakuan 3 (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain (Lihat lampiran 5).

BAB V

PEMBAHASAN

Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/ekor, 0,0125 mg/ekor dan 0,025 mg/ekor, selama 36 hari pada mencit jantan mengakibatkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid dan sel spermatozoa.

Pemberian etinilestradiol secara terus menerus menyebabkan kadar estrogen dalam darah meningkat. Estrogen menimbulkan umpan balik negatif pada hipotalamus (Purwastyastuti, 1987), sehingga GnRH menurun. Sekresi GnRH dari hipotalamus mempengaruhi penurunan hormon gonadotropin (Thiery dan Martin, 1991), penurunan sekresi hormon GnRH menyebabkan penurunan sekresi LH dan FSH.

Perkembangan dan fungsi testes dipelihara oleh hormon gonadotropin (Hafez, 1970). Penurunan GnRH, LH dan FSH akibat pemberian etinilestradiol menyebabkan spermatogenesis menurun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dan didukung pernyataan Lintanowski *et al.*, (1999) yang menyatakan bahwa estrogen menghambat spermatogenesis.

Estradiol menghambat produksi androgen dan perkembangan serta pertumbuhan sel Leydig (Abney, 1999). Testosteron diperlukan dalam jumlah tinggi untuk proses spermatogenesis (Nalbandov, 1990). Testosteron membuat epitel germinalis dari tubulus seminiferus peka terhadap FSH (Salisbury dan Van Denmark, 1985). FSH memulai spermatogenesis dengan

pembelahan spermatogonia (Santamarina dan Reece, 1957). Kadar testosteron yang menurun akibat pemberian etinilestradiol, menyebabkan epitel germinalis kurang peka terhadap FSH, pembelahan sel spermatogonia terhambat sehingga jumlah sel spermatogonia yang dihasilkan menurun. Jumlah sel spermatogonia terbanyak tampak pada perlakuan kontrol (gambar 1) dan tampak semakin menurun pada perlakuan 1 (gambar 2) perlakuan 2 (gambar 3), dan perlakuan 3 (gambar 4).

Menurut Salisbury dan Van Denmark (1985) terdapat 2 macam sel spermatogonia; tipe A membelah secara mitosis dan menghasilkan spermatogonia lain; tipe B membelah secara mitosis menghasilkan 2 spermatosit. Pemberian etinilestadiol menyebabkan jumlah sel spermatogonia yang membelah menurun sehingga jumlah sel spermatosit yang dihasilkan menurun. Jumlah sel spermatosit terbanyak tampak pada perlakuan kontrol (gambar 1), dan: semakin menurun pada perlakuan 1 (gambar 2), perlakuan 2 (gambar 3), dan perlakuan 3 (gambar 4).

Spermatosit primer berkembang dan membesar, kemudian membelah, setiap spermatosit primer menjadi 2 spermatosit sekunder, dari setiap spermatosit sekunder membelah menjadi 2 spermatid. Penurunan jumlah spermatosit, menyebabkan sel spermatosit yang membelah menurun sehingga jumlah sel spermatid yang dihasilkan menurun. Jumlah sel spermatid terbanyak tampak pada gambar 1 dan tampak semakin menurun pada gambar 2, gambar 3 dan gambar 4.

Spermiogenesis adalah proses penyempurnaan spermatid menjadi spermatozoa. Penurunan jumlah sel spermatid menyebabkan sel spermatid yang mengalami spermiogenesis menurun sehingga jumlah sel spermatozoa yang

dihasilkan menurun. Jumlah sel spermatozoa terbanyak tampak pada perlakuan kontrol (gambar 1), dan semakin menurun pada perlakuan 1 (gambar 2), perlakuan 2 (gambar 3), dan pada perlakuan 3 (gambar 4), spermatozoa tidak tampak.

Penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid dan sel spermatozoa menyebabkan penurunan berat testes.

Pemberian etinilestradiol 0,00625 mg/ekor tidak menyebabkan penurunan berat testes, dapat diartikan pada dosis ini hambatan yang ditimbulkan etinilestradiol terhadap hipotalamus tidak begitu besar sehingga hormon gonadotropin yang tersedia masih cukup untuk memelihara spermatogenesis walaupun terjadi penurunan jumlah sel-sel kelamin.

Pemberian etinilestradiol dosis 0,0125 mg/ekor dan dosis 0,025 mg/ekor menyebabkan penurunan berat testes yang sangat nyata, hal ini terjadi karena besarnya hambatan fungsi hipotalamus. Pada dosis 0,025 mg/ekor spermatozoa tidak terbentuk sama sekali, sehingga terjadi penurunan berat testes. Hal ini sesuai dengan pernyataan Bongso *et al.*, (1982) yang dikutip oleh Ismaya (1992) yang menyatakan besarnya testes mempunyai hubungan yang prinsip dengan umur dan berat tubuh kambing, besarnya testes berkorelasi positif terhadap volume semen, motilitas dan konsentrasinya serta kadar hormon testosteron pada ternak sapi. Hafez (1970) menyatakan jumlah sel spermatozoa yang dihasilkan tergantung berat testes.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang pemberian etinilestradiol per oral selama 36 hari pada mencit jantan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/ekor tidak menyebabkan penurunan berat testes, tetapi mulai dosis 0,0125 mg/ekor menyebabkan penurunan berat testes.
2. Pemberian etinilestradiol menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid serta sel spermatozoa. Semakin besar dosis yang diberikan, jumlah sel-sel kelamin semakin berkurang. Pada dosis 0,025 mg/ekor menyebabkan spermatozoa tidak terbentuk.

VI.2. SARAN

1. Berdasarkan hasil penelitian ini etinilestradiol hendaknya digunakan untuk menghentikan proses spermatogenesis dan dapat dicoba pada hewan lain, misalnya kucing.
2. Perlu dilakukan penelitian apakah hambatan spermatogenesis akibat pemberian etinilestradiol ini bersifat reversibel atau irreversibel.

RINGKASAN

HIKMAH YULIANI. Pengaruh pemberian etinilestradiol terhadap berat dan gambaran histologis testes mencit, di bawah bimbingan Imam Mustofa, Mkes, drh dan Soetji P, SU, drh.

Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh pemberian etinilestradiol terhadap berat dan gambaran histologis testes. Untuk mengetahui perubahan gambaran histologis testes dilakukan pengamatan terhadap proses spermatogenesis dengan menghitung jumlah sel-sel kelamin pada potongan tubulus seminiferus.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 32 ekor mencit jantan umur 3 bulan, sudah dewasa kelamin dengan berat badan 20 - 30 gram dan belum pernah dikawinkan. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi empat kelompok perlakuan. Perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok adalah aquadest 0,1 ml (P_0), etinilestradiol 0,00625 mg/ekor (P_1), etinilestradiol 0,00125 mg/ekor (P_2) dan etinilestradiol 0,025 mg/ekor (P_3). Etinilestradiol diberikan melalui sonde dan pemberian selama 36 hari. Pada hari ke 37 seluruh mencit dibunuh dengan cara memasukkan mencit ke dalam toples berisi kapas yang telah dibasahi dengan kloroform. Kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil testes, lalu ditimbang dengan timbangan sartorius selanjutnya dibuat sediaan histologis testes, kemudian dilakukan penghitungan sel spermatogenik.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Data dianalisis dengan Analisis Varian dengan taraf signifikan 0,05 dan diuji dengan Uji Beda Nyata Terkecil 5 % (BNT 5 %).

Hasil penelitian menunjukkan penurunan berat testes pada perlakuan berbeda nyata dibanding kontrol ($p < 0,05$). Berat testes terendah terdapat pada perlakuan 3 (P_3).

Hasil penelitian menunjukkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid dan sel spermatozoa pada perlakuan berbeda nyata dibanding kontrol ($p < 0,05$). Hal ini memungkinkan pemakaian etinil estradiol untuk menghentikan proses spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

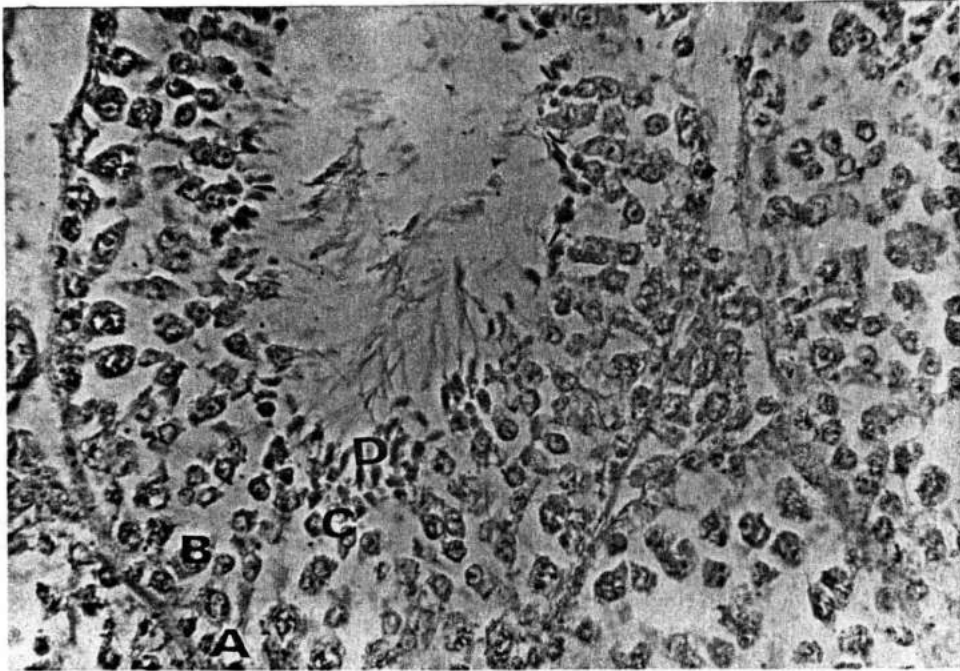
- Abney, T.O. 1999. The Potential Roles of Estrogens in Regulating Leydig Cell Development and Function. Department of Physiology and Endocrinology, Medical College of Georgia, Augusta 30912, USA. *Steroid* 1999 Sep; 64(9): 610-7.
- Abrams, A.C.. 1983. *Clinical Drug Therapy*. J.B. Lippincott Company Philadelphia. 27, 290.
- ✓ Au, C.L., D.M. Robertson, dan U.M. de Kretser. 1984. Effect of Hipofhysectomy on Subsequent FSH and Testis Treatment on Inhibin Production by Adult Rat Testis. *Jurnal Endocrinology*. 105-106.
- Bevelander, G. and J.A. Ramaley, 1988. *Dasar-dasar Histologi*. Edisi ke delapan. Terjemahan.
- ✓ Caldani, M. Batailler, J.C. Thiery, and M.P. Dubois, 1988. LHRH Immunoreactive Structures in The Sheep Brain. *Histochemistry*. 89, 129-130.
- Caraty, A., dan A. Locatelli. 1988. Effect of Time after Costration on Secretion of LHRH and LH in the Ram *Journal Reproduction Fertility*. 82, 263-269.
- Cole, H.H., dan P.T. Cupps. 1977. *Reproduction In Domestic Animals*. Third Edition. Academic Press, INC. New York.
- Copenhaver, W.M., D.E. Kelly dan R.L. Wood. 1978. *Bailey's Textbook of Histology*. 17th ed. The William and Willeins. Co. Baltimore. Tokyo. 611-635.
- Craigmyle, M.B.L. 1987. *A Clour Atlas of Histology, Anatomy and Histology*. Texas A and University Medical Medical School College Station. Texas. USA.
- ✓ 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.
- D'occhio, M.J., B.D. Schanbacher dan J.E. Kinder, 1982. Testosteron Feedback on FSH Secretion in Male Sheep. *J. Reprod. Fert*. 66, 699-702.

- ✓ Ferdinandus. 1991. Spermatogenesis Dalam K.M. Arsyad Prosiding Seminar Spermatogenesis. Perkumpulan Andrologi Indonesia. Surabaya. 4-14.
- ✓ Frandson, R.D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi ke empat. Terjemahan : Srigandono dan Praseno. 714-716.
- ✓ Ganong, W.F. 1983. Fisiologi Kedokteran. Terjemahan : Adji Dharma. EGC. Jakarta. 372-378.
- Gladkova, A.I. 1999. The Regulation of Male Sexual Behavior by The Sex Hormones (Article in Russian). Ukr NII of Pharmacotherapy of Endocrine Disease, Kharkov. Usp Fiziol Nauk 1999 Jan-Mar; 30(1) : 97-105.
- Grollman, A., 1947. Essential of Endocrinology. 2^{ed} ed. J.B. Lippincott Company Philadelphia. London. 515.
- Guyton, A.C. 1983. Buku Teks Fisiologi Kedokteran. Terjemahan : Adji Dharma dan P. Lukmanto. EGC. Jakarta. 447, 529.
- ✓ Hafez, S.S.E. 1970. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals. Lea and Febiger. Philadelphia. 13, 31-33.
- ✓ Hardjopranjoto, S. 1980. Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 45-47, 59-77.
- Ismaya. 1992. Relationship of Testis Weight to Age, Body Weight and Scrotal of Ceccumference in Indigeneus Rams. Media Kedokteran Hewan. Vol. 8. No 1. 29.
- Jungueira, L.C., Carneiro, J., dan R.O. Kelly. 1988. Basic Histology. 3rd Edition. EGC. Jakarta. 423-424.
- Katongole, C.B., F.Naftolin and R.V. Short. 1974. Seasonal Variations in blood Luteinizing Hormone and Testosteron Levels in Ram. J. Endocr. 34-35.
- Katzung, B.G. 1995. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi III. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Karsch, F.J. 1984. The Hypothalamus and Anterior Pituitary Gland. In : Reproduction in Mamals. Book 3; Hormonal Control of Reproduction. C.R. Austin and R.V. Short. Eds. Second Edition. Cambridge University.

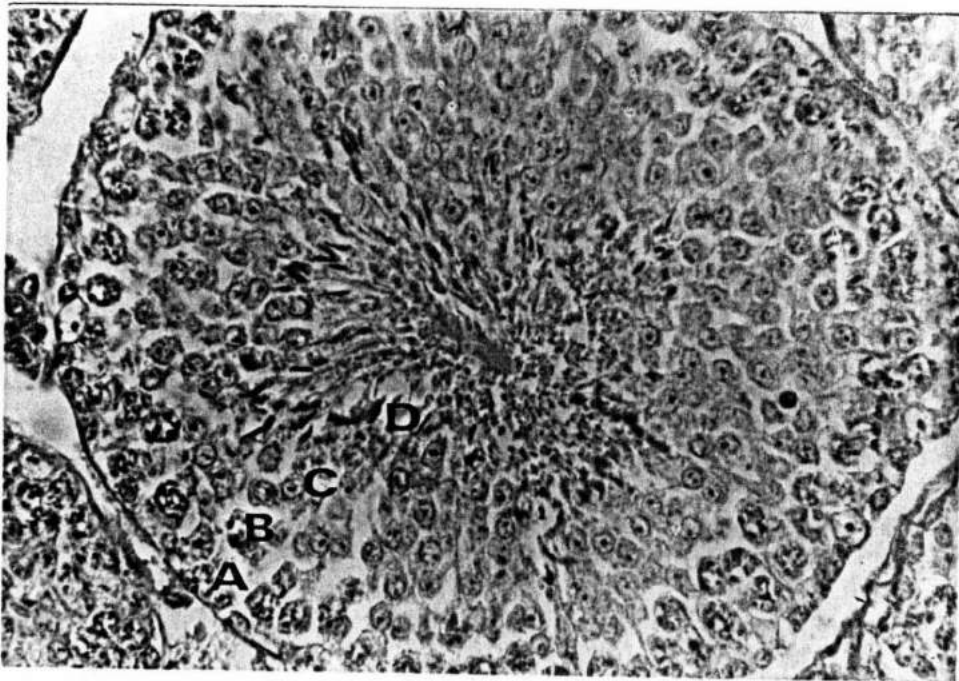
- Kusriningrum. 1989. Dasar Rancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 53-94.
- Lesson, T.S., dan Lesson. 1981. Histologi. W.B. Saunder Company. Philadelphia. 515-533.
- ✓ Limanowski, A., B. Miskowiak, B. Otulakowski, M. Partyka. 1999. Morphometric Studies on The Testes of Rats Treated Neonatally with Oestrogen and Subsequently with Gonadotrophins and Testosterone. Departement of Histology and Embriology, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences, Poznan, Poland. *Andrologia* 1999 Jul; 31(4): 225-31.
- Lincoln, G.A., dan M.J. Peet. 1977. Photoperiodic Control of Gonadotropin Secretion in The Ram. A Detailed Study of Temporal Changes in Plasma Levels of FSH, LH, and Testosteron Following and Abrupt Switch from Long to Shorth Days *Journal Endocrinology*.
- Mc Donald, L.E. 1965. *Vetenary Pharmacology and Therapeutics*. 3rd Edition. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 774-777.
- Melmon, K.L. dan H.F. Morelli, 1978. *Clinical Pharmacology. Principles in Therapeutics*.
- Nalbandov, A.V. 1990. *Reproductive Phisiology of Mammals and Bird. The Comparative Phisiology of Domestic and Laboratory Animals and Man*. Francisco. 38.
- Partodiharjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit Mutiara Jakarta. 131.
- Paschkis, K.E., A.E. Rahoff, B. Cantarow. 1954. *Clinical Endocrinology*. 2^{ed} ed. A Hoeber Harper Book. United State of America. 612.
- Purwastyastuti, A. 1987. Androgen, Antiandrogen dan Anabolic Steroid di dalam : *Farmakologi dan Terapi Edisi 3*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 416-417.
- Ross, M.H. and E.J. Reith. 1985. *Histology A Text and Atlas*. Harper and Row, Publisher J.B. Lippincott Company 605-635.
- Salisbury, G.W. and N.L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Terjemahan. R. Djanuar. Gajah Mada. 218-237.

- Sanford, L.M, W.M. Palmer, and B.E. Howland. 1976. LH Release in Castrated Male Sheep Treated with Testosterone and Dihydrotestosterone. IRCS Med. Sci. 4. 408.
- Siswandono dan Bambang. 1995. Kimia Medisinal. Cetakan 1. Erlangga University Press. Surabaya.
- Smith and Williams. 1987. Introduction to The Principles of Drug Design. 2^{ed} ed. 209.
- Soeradi, O. 1979, Sprmatogenesis dan Pengendalian Hormon. Dalam : S.Kuncoro , Prosiding Seminar Spermatogenesis. Perkumpulan Andrologi Indonesia. Surabaya 131-133.
- Soffer, L.J. 1956. Disease of Endocrine Glands. 2^{ed} ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 467.
- Suherman, S.K.,1987. Estrogen, Antiestrogen, Progestin dan Kontrasepsi Hormonal. Di dalam : Farmakologi dan Terapi. Edisi 3. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 396-397.
- Tedja, H. 1993. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Manggis (*Garcinia Mangostana Linn*) terhadap Berat dan Gambaran Histologi Testis Mencit. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Thiery, J.C. dan G.B. Martin , 1991. Neurophysiological Control of The Scrotum of Gonadotropin Releasing Hormone and Luteinizing Hormone in The Sheep. A. Review . *Reprod Fertil.* 3^{ed} 137-173.
- Tjondronegoro, S. 1992. The Role of Gonadotropins in The Control of Reproductive Function in The Ram. PhD. Thesis. University of Western Australia.
- Toclihere, M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa Bandung. 37-52, 68-72.
- Tortora dan Anagnostakar, 1984. Principles of Anatomy and Phisiology. 4^{ed} ed. Harpes and Row Publisher. New York.
- Turner, C.D., dan J.T. Bagnara . 1988 . Endokrinologi Umum Edisi 6 . Airlangga University Press. Surabaya. 68-105.

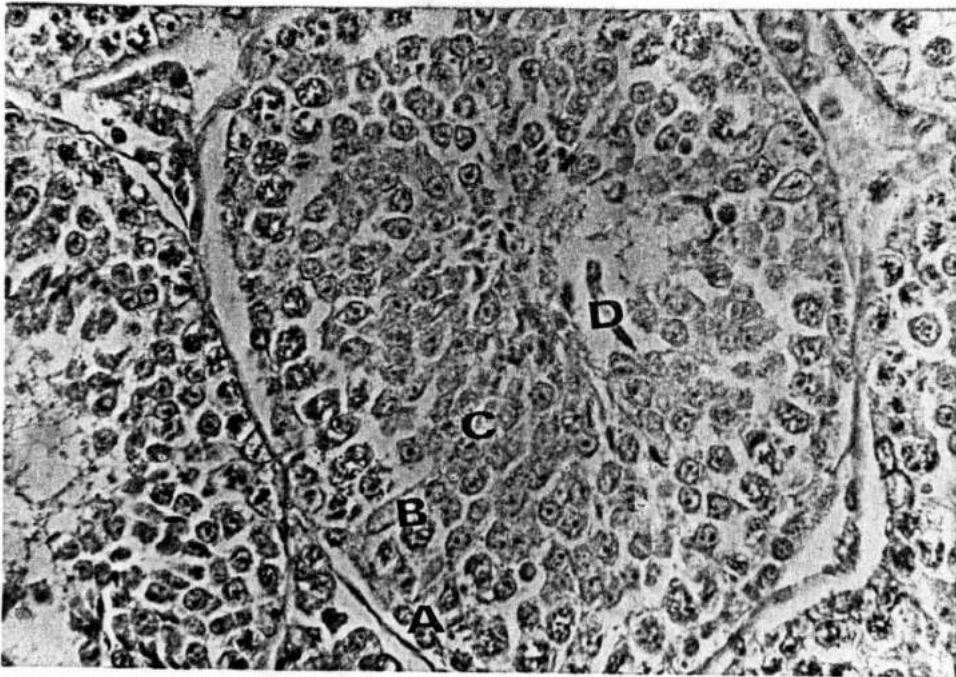
- Whittingham, D.G. dan M.J. Wood. 1983. Reproductive Physiology in : The Mouse in Biomedical Research. Foster, H.L.J.D., Small and J.G. Fox. Eds. Vol. III. Academic Press. 140.
- Wodzicka, M., Tomaszewka, I.K. Sutarna, I.G. Putu dan T.D. Chaniago. 1991. Reproduksi, Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. Gramedia Pustaka Utama Jakarta.



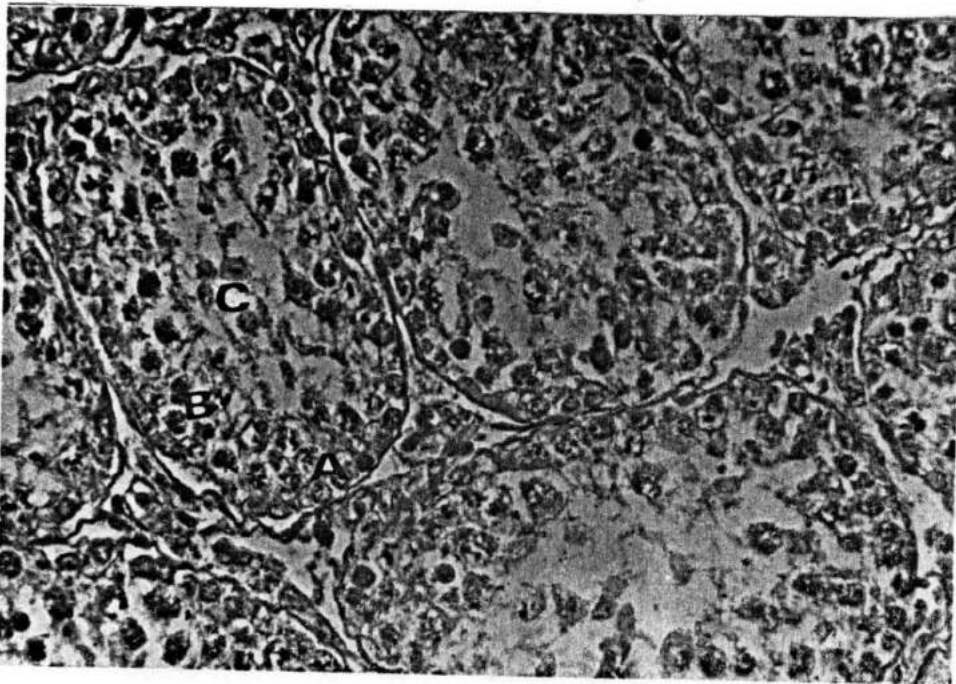
Gambar 1. Sel-sel kelamin dari irisan melintang testis mencit kelompok perlakuan 0 (P_0) pewarnaan HE, pembesaran 400x.



Gambar 2. Sel-sel kelamin dari irisan melintang testis mencit kelompok perlakuan 1 (P_1) pewarnaan HE, pembesaran 400x



Gambar 3. Sel-sel kelamin dari irisan melintang testis mencit kelompok perlakuan 2 (P₂) pewarnaan HE, pembesaran 400x



Gambar 4. Sel-sel kelamin dari irisan melintang testis mencit kelompok perlakuan 3 (P₃) pewarnaan HE, pembesaran 400x

Keterangan gambar (Gambar 1, 2, 3, 4)

- A = Sel spermatogonia
- B = Sel spermatosit
- C = Sel spermatid
- D = Sel Spermatozoa

LAMPIRAN

Lampiran 1. Evaluasi statistik berat testes mencit setelah diberi perlakuan selama 36 hari (mg).

Nomor mencit	Berat Testes (mg)			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	226,6	180,0	149,8	87,2
2	187,8	180,0	100,0	78,2
3	203,4	140,0	86,4	90,6
4	194,0	150,0	100,0	106,8
5	176,0	173,2	166,6	50,6
6	123,0	113,8	137,2	64,4
7	160,0	165,4	100,0	52,0
8	180,0	150,0	120,0	88,2
Σx	1450,8	1252,4	960	618
\bar{X}	181,35	156,55	120	77,25
SD	30,7673	22,8117	28,4966	19,9433

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (Fk)} &= \frac{y^2}{t.n} = \frac{4281,2^2}{4 \times 8} \\ &= \frac{18328673}{32} \\ &= 572771,05 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Jk_{\text{total}} &= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - Fk \\ &= 226,6^2 + 187,8^2 + \dots + 88,2^2 - 572771,05 \\ &= 640774,6 - 572771,05 \\ &= 68003,55 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 Jk_{\text{perlakuan}} &= \sum_{i=1}^t \frac{y_{i..}^2}{n} - Fk \\
 &= \frac{1450,8^2 + 1252,4^2 + 960^2 + 618^2}{8} - 572771,05 \\
 &= \frac{4976850,4}{8} - 572771,05 \\
 &= 622106,3 - 572771,05 \\
 &= 49335,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 Jk_{\text{sisa}} &= JkT - JkP \\
 &= 68003,55 - 49335,25 \\
 &= 18668,3
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengahnya dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JkP}{t-1} = \frac{49335,25}{3} = 16445,083$$

$$KTS = \frac{JkS}{t(n-1)} = \frac{18668,3}{4(8-1)} = \frac{18668,3}{28} = 666,725$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{16445,083}{666,725} = 24,6655$$

Daftar Sidik Ragam (Analisa Varian)

Sumber Keseragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	49335,25	16445,083	24,6655*	2,95	4,57
Sisa	28	18668,3	666,725			
Total	31	68003,55				

$$F_{\text{hitung}} (24,6655) > F_{\text{tabel}} (0,05) (2,95)$$

Kesimpulan: Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/hari, 0,0125 mg/hari, 0,025 mg/hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap berat testes

H_0 = Ditolak

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

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

$$\begin{aligned} \text{BNT} (5\%) &= t (5\%) (28) \times \sqrt{\frac{2 \times 666,725}{8}} \\ &= 2,048 \times 12,9105 \\ &= 26,4407 \end{aligned}$$

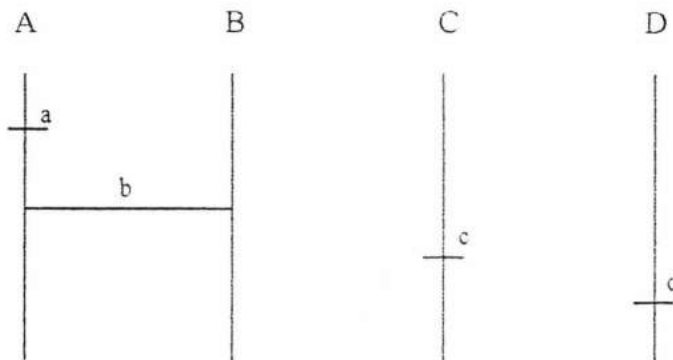
Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda selisih			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (P ₀)	181,35 ^a	104,1 [*]	61,35 [*]	24,8	26,4407
B (P ₁)	156,55 ^a	79,3 [*]	36,55 [*]		
C (P ₂)	120 ^b	92,75 [*]			
D (P ₃)	77,25 ^c				

* Berbeda Nyata ($p < 0,05$)

Superskrip a,b,c dan d yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Notasi :



Kesimpulan : Berat testes tertinggi terdapat pada perlakuan A (P_0) dan perlakuan B (P_1) yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Berat testes terendah terdapat pada perlakuan D (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain.

Lampiran 2. Evaluasi statistik jumlah sel spermatologia dalam tubulus seminifesus dari masing-masing testes.

Nomor mencif	Jumlah Sel Spermatogonia			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	34,33	27,33	27,17	24,50
2	35,17	27,67	27,50	25,83
3	34,17	27,17	28,67	25,83
4	36,33	29,33	25,33	25,17
5	35,17	31,17	27,83	27,17
6	33,33	28,83	25,67	26,33
7	34,50	29,83	29,17	25,17
8	38,17	31,83	31,83	15,83
Σx	281,17	233,16	219,17	205,83
\bar{x}	35,15	29,15	27,40	25,73
SD	1,5062	1,7437	1,3340	0,8110

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (FK)} &= \frac{y..^2}{t.n} = \frac{939,33^2}{4 \times 8} \\ &= \frac{882340,85}{32} \\ &= 27573,152 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK}_{\text{total}} &= \sum_{i=1}^l \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - FK \\ &= 34,33^2 + 35,17^2 + \dots + 25,83^2 - 27573,152 \\ &= 28031,928 - 27573,152 \\ &= 458,7761 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \sum_{i=1}^t \frac{y_i^2}{n} - FK \\
 &= \frac{281,17^2 + 233,16^2 + 219,17^2 + 205,83^2}{8} - 27573,152 \\
 &= \frac{223821,63}{8} - 27573,152 \\
 &= 27977,704 - 27573,152 \\
 &= 404,552
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{sisu}} &= JKT - JKP \\
 &= 458,7761 - 404,8507 \\
 &= 54,2241
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengahnya dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{404,552}{3} = 134,8507$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{54,2241}{4(8-1)} = \frac{54,2241}{28} = 1,9366$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{134,8507}{1,9366} = 69,6101$$

Daftar sidik ragam (Analisa Varian)

Sumber Keragaman (SK)	Derajad bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	404,552	134,8507	69,6101 *	2,95	4,57
Sisa	28	54,2241	1,9366			
Total	31	458,7761				

$$F_{\text{hitung}} (69,6101) > F_{\text{tabel}} (0,05) (2,95)$$

Kesimpulan : Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/hari, 0,0125 mg/hari, 0,025 mg/hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatogonia dalam tubulus seminiferus testes mencit.

H_0 : ditolak

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

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

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (28) \times \sqrt{\frac{2 \times 1,9366}{8}} \\ &= 2,048 \times 0,6958 \\ &= 1,4250 \end{aligned}$$

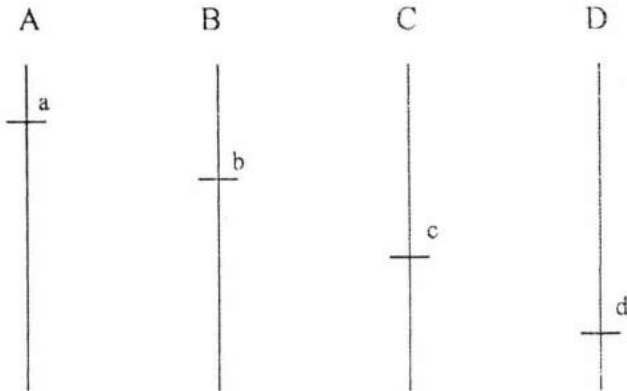
Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda selisih			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (P_0)	35,15 ^a	9,42 [*]	7,75 [*]	6 [*]	1,4250
B (P_1)	29,15 ^b	3,42 [*]	1,75 [*]		
C (P_2)	27,40 ^c	1,67 [*]			
D (P_3)	25,73 ^d				

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

Super skrip a, b, c, dan d yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Notasi :



Kesimpulan : Jumlah sel spermatogonia tertinggi terdapat pada perlakuan A (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatogonia terendah pada perlakuan D (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain.

Lampiran 3. Evaluasi statistik jumlah sel spermatosit dalam tubulus seminiferus dari masing-masing testes.

Nomor mencif	Jumlah Sel Spermatosit			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	43,67	44,5	40,83	34,33
2	48,17	44,33	41,00	33,33
3	48,00	45,00	39,33	34,00
4	46,17	40,83	44,33	35,5
5	44,67	43,67	39,83	30,00
6	43,83	44,17	43,83	31,00
7	47,00	42,67	43,33	31,17
8	45,83	41,17	42,00	33,5
Σx	367,34	346,34	334,48	262,83
\bar{x}	45,92	43,29	41,48	32,85
SD	1,7574	1,5729	1,8696	1,9107

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (FK)} \frac{y..^2}{t.n} &= \frac{(1310,99)^2}{4 \times 8} \\ &= \frac{1718694,8}{32} \\ &= 53709,212 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK}_{\text{total}} &= \sum_{i=1}^l \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= 43,67^2 + 48,17^2 + \dots + 33,5^2 - 53709,212 \\ &= 54569,777 - 53709,212 \\ &= 860,5649 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \sum_{i=1}^t \frac{y_i^2}{n} - FK \\
 &= \frac{3678,34^2 + 346,34^2 + 334,48^2 + 262,83^2}{8} - 53709,212 \\
 &= \frac{43546,55}{8} - 53709,212 \\
 &= 54480,819 - 53709,212 \\
 &= 771,60681
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{sisas}} &= JKT - JKP \\
 &= 860,5649 - 771,60681 \\
 &= 88,9581
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengahnya dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{771,6081}{3} = 257,2023$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{88,9581}{4(7)} = \frac{88,9581}{28} = 3,1771$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{257,2023}{3,1771} = 80,9551$$

Daftar sidik ragam (Analisa Varian)

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	771,60681	257,2023	80,9551 *	2,95	4,57
Sisa	28	88,9581	3,1771			
Total	31	860,5649				

$$F_{\text{hitung}} (80,9551) > F_{\text{tabel}} (0,05) (2,95)$$

Kesimpulan : Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/hari, 0,0125 mg/hari, 0,025 mg/hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatisit dalam tubulus seminiferus testes mencit.

H_0 : ditolak

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

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

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (28) \times \sqrt{\frac{2 \times 3.1771}{8}} \\ &= 2,048 \times 0,8912 \\ &= 1,8252 \end{aligned}$$

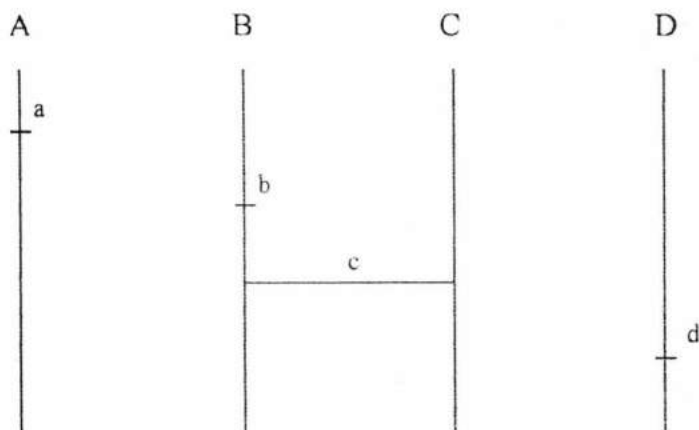
Selish rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda selish			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (P_0)	45,92 ^a	13,07 [*]	4,11 [*]	2,63 [*]	1,8252
B (P_1)	43,29 ^b	10,44 [*]	1,48 [*]		
C (P_2)	41,81 ^b	8,96 [*]			
D (P_3)	32,85 ^c				

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

Super skrip a, b, c, dan d yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Notasi :



Kesimpulan : Jumlah sel spermatis tertinggi terdapat pada perlakuan A (P_0) yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatis terendah pada perlakuan D (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Perlakuan B (P_2) tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (P_3).

Lampiran 4. : Evaluasi statistik jumlah sel spermatid dalam tubulus seminiferus dari masing-masing testes.

Nomor mencif	Jumlah Sel Spermatid			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	140,50	128,50	83,17	21,50
2	138,67	123,50	80,67	18,00
3	135,83	122,83	81,00	22,83
4	138,83	127,00	82,17	17,33
5	136,00	125,83	85,33	21,17
6	134,50	124,33	83,83	20,83
7	135,50	125,83	80,50	19,00
8	136,67	126,17	80,00	18,00
Σx	1096,50	1003,99	656,67	158,67
\bar{x}	137,06	125,50	82,08	19,83
SD	2,0471	1,8676	1,8822	2,0079

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (FK)} &= \frac{y..^2}{t.n} = \frac{2915,83^2}{4 \times 8} \\ &= \frac{8502064,6}{32} \\ &= 265689,52 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK}_{\text{total}} &= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= 140,50^2 + 138,67^2 + \dots + 18,00^2 - 265689,82 \\ &= 333443,85 - 265689,82 \\ &= 67754,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \sum_{i=1}^t \frac{y_i^2}{n} - FK \\
 &= \frac{1096,50^2 + 1003,99^2 + 656,67^2 + 158,67^2}{8} - 265689,82 \\
 &= \frac{26666,8}{8} - 265689,82 \\
 &= 333337,48 - 265689,82 \\
 &= 67647,958
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{sisas}} &= JKT - JKP \\
 &= 67754,33 - 67647,958 \\
 &= 106,3722
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengahnya dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{67647,958}{3} = 22549,319$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{106,3722}{4(8-1)} = \frac{106,3722}{28} = 3,799$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{22549,319}{3,799} = 5935,5933$$

Daftar Sidik Ragam (Analisa Varian)

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	67647,958	22549,319	5935,5933*	2,95	4,57
Sisa	28	106,3722	3,799			
Total	31	67754,33				

$$F_{\text{hitung}} (5935,5933) > F_{\text{tabel}} (0,05) (2,95)$$

Kesimpulan : Pemberian etinilestradiol dengan dosis 0,00625 mg/hari, 0,025 mg/hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatid dalam tubulus seminiferus testes mencit.

H_0 : ditolak

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

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

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (28) \times \sqrt{\frac{2 \times 3,799}{8}} \\ &= 2,048 \times 0,8284 \\ &= 5,5615 \end{aligned}$$

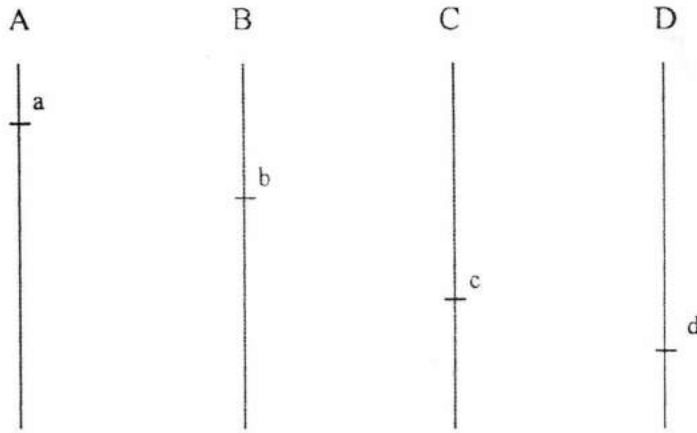
Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda selisih			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (P_0)	137,06 ^a	117,23 [*]	54,98 [*]	11,56 [*]	5,5615
B (P_1)	125,50 ^b	20,27 [*]	43,42 [*]		
C (P_2)	82,08 ^c	62,25 [*]			
D (P_3)	19,83 ^d				

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

Super skrip a, b, c, dan d yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Notasi :



Kesimpulan : Jumlah sel spermatid tertinggi terdapat pada perlakuan A (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatozoa terendah pada perlakuan D (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain.

Lampiran 5. : Evaluasi statistik jumlah sel spermatozoa dalam tubulus seminiferus dari masing-masing testes.

Nomor mencit	Jumlah Sel Spermatozoa			
	Kontrol	P ₁	P ₂	P ₃
1	21,60	21,17	7,00	0,00
2	22,50	18,50	6,00	0,00
3	25,17	22,17	5,50	0,00
4	23,00	18,00	9,83	0,00
5	20,33	20,67	5,33	0,00
6	23,17	18,50	8,67	0,00
7	23,50	22,83	4,00	0,00
8	19,33	20,33	5,67	0,00
Σx	178,6	162,17	52	0,00
\bar{x}	22,32	20,27	6,5	0,00
SD	1,8574	1,7951	1,9126	0,00

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (FK)} &= \frac{y..^2}{t.n} = \frac{392,77^2}{4 \times 8} \\ &= \frac{154268,27}{32} \\ &= 4820,8835 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{\text{total}} &= \sum_{i=1}^1 \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - FK \\ &= 21,6^2 + 22,5^2 + \dots + 0,00^2 - 4820,8835 \\ &= 7684,9457 - 4820,8835 \\ &= 2864,0622 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \sum_{i=1}^t \frac{y_i^2}{n} - FK \\
 &= \frac{178,6^2 + 162,17^2 + 52^2 + 0^2}{8} - 4820,8835 \\
 &= \frac{60901,069}{8} - 4820,8835 \\
 &= 7612,6336 - 4820,8835 \\
 &= 2791,7501
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{sisas}} &= JKT - JKP \\
 &= 2864,0622 - 2791,750 \\
 &= 72,3121
 \end{aligned}$$

Kuadrat tengahnya dihitung sebagai berikut :

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{2791,7501}{4-1} = 24,1040$$

$$KTS = \frac{JKS}{t(n-1)} = \frac{72,3121}{4(8-1)} = 2,5826$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{KTP}{KTS} = \frac{24,1040}{2,5826} = 9,3332$$

Daftar Sidik Ragam (Analisa Varian)

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	2791,7501	24,1040	9,3332 *	2,95	4,57
Sisa	28	72,3121	2,5826			
Total	31	2864,0622				

$$F_{\text{hitung}} (9,3332) > F_{\text{tabel}} (0,05) (2,95)$$

Kesimpulan : Pemberian etinilestradiol dosis 0,00625 mg/hari, 0,0125 mg/hari, 0,025 mg/hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah sel spermatozoa dalam tubulus seminiferus testes mencit.

H_0 : ditolak

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

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

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (28) \times \sqrt{\frac{2 \times 2,5826}{8}} \\ &= 2,048 \times 0,8035 \\ &= 1,6456 \end{aligned}$$

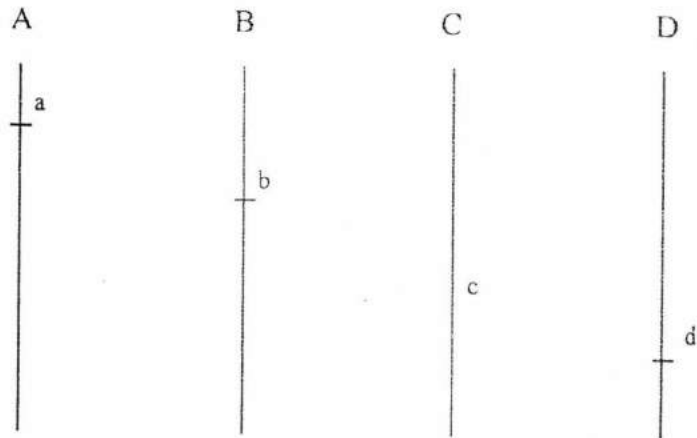
Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	Rata-rata perlakuan	Beda selisih			BNT 5%
		$\bar{x} - D$	$\bar{x} - C$	$\bar{x} - B$	
A (P ₀)	22,33 ^a	22,33 [*]	15,83 [*]	2,06 [*]	1,6456
B (P ₁)	20,73 ^b	20,27 [*]	13,77 [*]		
C (P ₂)	6,5 ^c	6,5 [*]			
D (P ₃)	0 ^d				

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

Super skrip a, b, c, dan d yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Notasi :



Kesimpulan : Jumlah sel spermatozoa tertinggi terdapat pada perlakuan A (P_0) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Jumlah sel spermatozoa terendah pada perlakuan D (P_3) dan berbeda nyata dengan perlakuan lain.

Lampiran 6. Daftar F (Kusriningrum, 1989)

Derajat bebas galat	Derajat bebas perlakuan							
	1		2		3		4	
	0.05	0.01	0.05	0.01	0.05	0.01	0.05	0.01
1	161	4.052	200	4.999	216	5.403	225	5.625
2	1851	9849	1900	9901	1916	9917	1925	9925
3	1013	3412	955	3081	928	2946	912	2871
4	771	2120	694	1800	659	1669	639	1598
5	661	1626	579	1327	541	1206	519	1139
6	599	1374	514	1092	476	978	453	915
7	559	1225	574	955	435	845	412	785
8	532	1126	446	865	407	759	384	701
9	512	1056	426	802	386	699	363	642
10	496	1004	410	756	371	655	348	599
11	484	965	398	720	359	622	336	567
12	475	933	388	693	349	595	326	541
13	467	907	380	670	341	574	318	520
14	460	886	374	651	334	556	311	503
15	454	868	368	636	329	542	306	489
16	449	853	363	623	324	529	301	477
17	445	880	359	611	320	518	296	467
18	441	828	355	601	316	509	293	458
19	430	818	352	593	313	501	290	450
20	435	810	349	585	310	494	287	443
21	432	8.02	347	578	307	487	284	437
22	430	794	344	572	305	482	282	431
23	428	788	342	566	303	476	280	426
24	426	782	344	561	301	472	278	422
25	424	777	338	557	299	468	276	418
26	422	772	337	553	298	464	274	414
27	421	768	335	549	296	460	273	411
28	420	764	334	545	295	457	271	407
29	418	760	333	542	293	454	270	404
30	417	756	332	539	292	451	269	402

32	415	750	330	534	290	446	267	397
34	413	744	328	529	288	442	265	393
38	410	735	325	521	285	434	262	386
42	407	727	322	515	283	429	259	380
46	4.05	7.21	3.20	5.10	2.81	4.24	2.57	3.76
50	4.03	7.17	3.18	5.06	2.79	4.20	2.56	3.72
60	4.00	7.08	3.15	4.98	2.76	4.13	2.52	3.65
80	3.96	6.96	3.11	4.88	2.72	4.04	2.48	3.56
100	3.94	6.90	3.09	4.82	2.70	3.98	2.46	3.51
200	3.89	6.76	3.04	4.71	2.65	3.88	2.41	3.41
1000	3.85	6.66	3.00	4.62	2.61	3.80	2.38	3.34
~	3.84	6.64	2.99	4.60	2.60	3.78	2.37	3.32

Lampiran 7. Daftar t (Kusriningrum, 1989)

Derajat bebas	t		Derajat bebas	t		Derajat bebas	t	
	95%	99%		95%	99%		95%	99%
1	12,706	63,657	23	2,069	2,087	56	2,003	2,667
2	4,303	9,925	24	2,064	2,797	58	2,001	2,663
3	3,182	5,841	25	2,060	2,787	60	2,000	2,660
4	2,776	4,604	26	2,056	2,779	62	1,999	2,658
5	2,571	4,032	27	2,052	2,771	64	1,998	2,655
6	2,447	3,707	28	2,048	2,763	65	1,997	2,633
7	2,365	3,449	29	2,045	2,756	66	1,996	2,652
8	2,306	3,355	30	2,042	2,750	68	1,995	2,650
9	2,262	3,250	32	2,037	2,738	70	1,994	2,648
10	2,228	3,169	34	2,032	2,728	72	1,993	2,646
11	2,201	3,106	35	2,030	2,724	74	1,992	2,644
12	2,179	3,055	36	2,028	2,720	75	1,992	2,642
13	2,160	3,012	38	2,024	2,712	78	1,990	2,640
14	2,145	2,977	40	2,021	2,704	80	1,989	2,639
15	2,131	2,947	42	2,018	2,698	82	1,988	2,637
16	2,120	2,921	44	2,015	2,692	84	1,987	2635
17	2,110	2,898	45	2,014	2,695	86	1,987	2,634
18	2,101	2,878	46	2,013	2,687	88	1,986	2,632
19	2,093	2,861	48	2,010	2,682	90	1,986	2,631
20	2,086	2845	50	2,008	2,678	92	1,986	2,630
21	2,080	2,831	52	2,006	2,674	94	1,986	2629
22	2,074	2,819	54	2,005	2,670	96	1,984	2,627
			55	2,004	26,,685	100	1,982	2,625

Lampiran 8. Pembuatan Sediaan Histologis Testes

Pembuatan sediaan histologis ini dilakukan di Laboratorium Medika Sumbawa, Jl. Biliton No. 75 Surabaya, 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 mudah dipotong.

Meningkatkan indek refraksi berbagai komponen jaringan.

Reagen : Formalin 10%

Cara kerja : Setelah diadakan seksu, kedua testes mencit diambil, selanjutnya dimasukkan dalam formalin 10% sekurang-kurangnya 24 jam dan kemudian 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 selama 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 selama 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 ke 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 lekatnya 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.

Reagen : Mikrotom

Cara kerja : Organ yang telah diblocking, diletakkan pada holder, kemudian dipotong dengan mikrotom setebal 5-7 mikron, diambil dan dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 20° sampai 30° agar jaringan mengembang dengan baik, selanjutnya diletakkan pada gelas onyek 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 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. Selanjutnya jaringan atau organ dimasukkan ke dalam zat warna hematoksilin 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 $\frac{1}{4}$ menit, kemudian dimasukkan lagi dalam aquades secukupnya. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80% masing-masing selama $\frac{1}{2}$ 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 dengan canada balsem.