

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KULIT BUAH
JERUK KEPROK (*Citrus nobilis* Lour) SEBAGAI
BAHAN ANTIFERTILITAS TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*)
JANTAN**



Oleh :

RATNA WATININGSIH

NIM 060610147

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KULIT BUAH JERUK KEPROK
(*Citrus nobilis* Lour) SEBAGAI BAHAN ANTIFERTILITAS TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*)
JANTAN**

Skripsi

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

Oleh

Ratna Watiningsih

NIM 060610147

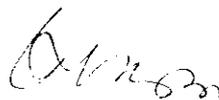
Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Aji Azmijah, SU., drh

Pembimbing Pertama



Hana Eliyani, M.Kes, drh

Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI AIR KULIT BUAH JERUK KEPROK
(*Citrus nobilis* Lour) SEBAGAI BAHAN ANTIFERTILITAS TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*)
JANTAN**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Agustus 2010

Ratna Watiningsih

NIM 060610147

Telah dinilai pada seminar hasil penelitian

Tanggal : 05 Agustus 2010

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

- Ketua** : Arimbi, M.Kes, drh
Sekretaris : Dr. Dewa Ketut Meles, M.S., drh
Anggota : Dr. Widjiati, M.Si., drh
Pembimbing Utama : Ajik Azmijah. SU, drh
Pembimbing Serta : Hana Eliyani, M.Kes., drh

Telah diuji pada

Tanggal : 25 Agustus 2010

KOMISI PENGUJI SKRIPSI :

Ketua : Arimbi, M.Kes., drh.

Anggota : Dr. Dewa Ketut Meles, M.S., drh.

Dr. Widjiati, M.Si., drh.

Ajik Azmijah, S.Ū., drh.

Hana Eliyani, M.Kes., drh

Surabaya, 25 Agustus 2010

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh

NIP. 130 687 305

**The Effects of the Water Fraction of *Citrus nobilis* Lour. Peels
As Antifertility on the Liver Histopathology
Features of Male Mice (*Mus musculus*)**

Ratna Watiningsih

ABSTRACT

The aim of research was to determine effects of the administration of water fraction of *Citrus nobilis* Lour. peels on the liver histopathology features of mice (*Mus musculus*). 24 males of mice (*Mus musculus*) with body weight of 30 g and ages of 6 months randomly assigned to four treatment groups with sixfold replication. 24 Males of mice (*Mus musculus*) divided in to research 35 days. The treatment P_0 as the control given aquadest, P_1 was given 40 mg/ kg body weight, P_2 was given 60 mg/ kg body weight, and P_3 was given 80 mg/ kg body weight. The male mice were then euthanized for resection of the liver for histopathological preparation. The preparation was then examined for data collection under a light microscope with magnification of 400x. Examination results of liver histopathology preparation were analyzed by means of Kruskal-wallis test and, in case of any significant difference ($P \leq 0,05$) among treatment groups, analyses were continued with Mann-whitney test. The result of this research show of water fraction of *Citrus nobilis* Lour. peels 40 mg/ kg body weight, 60 mg/ kg body weight, 80 mg/ kg body weight until 35 days damages in the mice liver histopathology features of congestion and degeneration

Key words : water fraction of *Citrus nobilis* Lour., antifertility, liver histopathology

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul **Pengaruh Pemberian Fraksi Air Kulit Buah Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) Jantan.**

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ajik Azmijah, SU., drh selaku dosen pembimbing pertama dan Hana Eliyani, M.Kes., drh selaku dosen pembimbing kedua atas kesediannya meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan, saran, dan nasehat yang berguna selama penelitian sampai selesainya penyusunan naskah seminar hasil ini.

Dr. Widjiati, Msi., drh. selaku dosen pembimbing penelitian sekaligus anggota penguji atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti penelitian serta nasehat, saran dan bimbingannya dalam penelitian sampai selesainya penyusunan naskah seminar hasil ini

Arimbi M, Kes., drh. selaku ketua penguji dan Dewa Ketut Meles selaku sekretaris penguji atas saran dan bimbingan yang diberikan dalam penyusunan naskah seminar hasil ini.

Seluruh Staff pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Keluarga tercinta bapak Mariono, ibu Siti Fatimah, kakak Muhammad Sofi'i, ST., kakak Fifin Anggraeni, SE., adik Muhammad Jumandono dan seluruh keluarga besar atas doa, kesabaran, semangat dan bantuan materiil yang diberikan selama ini.

A. Danu Herwintoko, ST atas doa, semangat, waktu dan tenaga yang diberikan selama penelitian dan sampai selesainya penyusunan naskah seminar hasil ini.

Teman-teman penelitian Visky, Devi Rovita, Anastasia, Ketut, Wulan dan Premitha atas dorongan semangat dan kerjasamanya selama penelitian sampai selesainya naskah seminar hasil ini.

Sahabat-sahabat Ertika Fitri Lisnanti, Desi Wulansari, Fidi Nur Aini, Darmawan Permana Putra, Yusak Beato, Andrika, Aris, Theresia Audita, Ilham Kurniawan, Ainur Rofiq, Arif atas doa dan semangat yang diberikan serta semua pihak yang mungkin belum penulis sebutkan.

Dalam penulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, saran dan kritik yang membangun selalu penulis harapkan. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat.

Surabaya, Agustus 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
HALAMAN PENILAI	v
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Landasan Teori.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Hipotesis Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Jeruk Keprok (<i>Citrus nobilis</i> Lour).....	6
2.2 Fraksi Air.....	8
2.3 Antifertilisasi.....	8
2.4 Sistem Reproduksi Jantan.....	10
2.4.1 Anatomi Fisiologi Reproduksi Jantan.....	10
2.4.2 Spermatozoa.....	11
2.5 Senyawa Saponin.....	13
2.6 Hati.....	14
2.6.1 Anatomi Hati.....	14
2.6.2 Histologi Hati.....	15
2.6.3 Fungsi Hati.....	19
2.6.4 Patologi Hati.....	21
2.7 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	23
BAB 3 MATERI DAN METODE	25
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.1.1 Tempat Penelitian.....	25
3.1.2 Waktu Penelitian.....	25

3.2	Bahan dan Materi Penelitian.....	25
3.2.1	Hewan Percobaan	25
3.2.2	Bahan Penelitian.....	25
3.2.3	Alat-Alat Penelitian.....	26
3.3	Metode Penelitian.....	26
3.3.1	Pembuatan Fraksi Air <i>Citrus nobilis</i> Lour.....	26
3.3.2	Skema Pembuatan Fraksi Air.....	27
3.3.3	Treatment dan Perlakuan Pada Mencit.....	28
3.3.4	Pemeriksaan Preparat Histopatologi.....	28
3.4	Peubah yang Diamati	29
3.5	Rancangan Penelitian dan Analisis Data	29
3.6	Kerangka Penelitian	30
BAB 4 HASIL PENELITIAN		31
BAB 5 PEMBAHASAN		36
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN		41
RINGKASAN		42
DAFTAR PUSTAKA		44
LAMPIRAN		49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Jeruk Keprok (<i>Citrus nobiliis</i> Lour)	5
2.2 Sel Hati Potongan Melintang.....	16
2.3 Sel Hati Sediaan Seksional	18
2.4 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	23
4.1 Gambaran Sel Hati Normal	35
4.2 Gambaran Sel Hati Kongesti	35
4.3 Gambaran Sel Hati Degenerasi.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Skoring Perubahan Gambaran Histopatologi Hati	29
4.1 Skoring dan Simpangan Baku Gambaran Histopatologi Hati	31
4.2 Grafik Perubahan Gambaran Histopatologi Hati	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi Hati.....	28
Lampiran 2. Pewarnaan Preparat Histopatologi Hati.....	29
Lampiran 3. Perhitungan Dosis dan Pembyatan Solusio.....	30
Lampiran 4. Volume Maksimum Larutan Obat	32
Lampiran 5. Tingkat Perubahan, Jumlah Skor dan Rata-Rata	33
Lampiran 6. Data Statistik Penelitian	34

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

BB	= Berat Badan
cm	= Sentimeter
CO ₂	= Karbondioksida
g	= gram
HCl	= Asam Klorida
HE	= Haematoxylin Eosin
KB	= Keluarga Berencana
kg	= kilogram
m	= meter
mg	= miligram
NaCl	= Natrium klorida
NaOH	= Natrium hidroksida
P ₀	= Kelompok kontrol
P ₁	= Kelompok perlakuan pertama
P ₂	= Kelompok perlakuan kedua
P ₃	= Kelompok perlakuan ketiga
PDAM	= Perusahaan Daerah Air Minum
pH	= derajat keasaman
ppm	= part per million
WHO	= World of Health Organization
±	= kurang lebih
µm	= mikro meter
%	= persen

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Peningkatan jumlah penduduk merupakan permasalahan yang perlu diperhatikan oleh pemerintah. Salah satu solusi untuk menekan laju peningkatan penduduk adalah dengan program Keluarga Berencana (KB). Ada beberapa cara KB modern yang dianjurkan oleh pemerintah yaitu dengan menggunakan pil, suntikan, kondom, sterilisasi wanita (tubektomi), sterilisasi pria (vasektomi). Namun pemilihan KB modern bukannya tanpa masalah terutama yang berhubungan dengan cara hormonal karena dapat menimbulkan efek samping seperti berat badan naik atau turun, sakit kepala, mual, tidak haid dan lain-lain (Winarno dan Sundari, 1997).

Dalam dunia kedokteran hewan, penggunaan kontrasepsi pada hewan kesayangan seperti anjing dan kucing lebih sering dimaksudkan untuk membuat hewan menjadi steril (mandul). Sterilisasi pada hewan jantan memiliki banyak metode antara lain sterilisasi dengan pembedahan dan sterilisasi tanpa pembedahan. Sterilisasi dengan pembedahan dapat dilakukan dengan cara vasektomi atau kastrasi, sedangkan sterilisasi tanpa pembedahan biasanya menggunakan preparat hormon (Marwanto, 2000).

Keterlibatan kontrasepsi pada hewan jantan mengacu pada perkembangan penelitian bidang kontrasepsi dan program KB pria pada manusia saat ini. Berbagai penelitian untuk menemukan bahan kontrasepsi pada pejantan terus diupayakan guna menghasilkan suatu metode kontrasepsi yang ideal dalam arti

berdaya guna, aman, murah, mudah didapat, mempunyai efek samping minimal, serta bersifat reversibel. Salah satu penelitian yang bisa dikembangkan adalah melalui pemanfaatan potensi sumber daya alam Indonesia yang sangat melimpah, diantaranya adalah tanaman (Setiawan, 2006).

Salah satu tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia adalah tanaman jeruk keprok. Buah jeruk keprok mengandung berbagai macam komponen yaitu vitamin A, vitamin B, vitamin C, hesperidin, limonene, citral, senyawa pififenol, saponin, alkaloid, minyak atsiri, flavonoid dan termasuk bahan inhibitor hyaluronidase (Prajogo dkk, 2002).

Hesperidin di dalam kulit buah jeruk keprok adalah bahan aktif yang dimanfaatkan sebagai salah satu alternative bahan antifertilitas pada pria karena diketahui mampu menghambat proses fertilisasi (Gyorgy dan Szent, 2002) dan dapat menurunkan aktivitas enzim hyaluronidase spermatozoa mencit (Martono, 2000).

Sebagai bahan antifertilitas, jeruk keprok harus mempunyai kandungan kimia yang tidak membahayakan bagi tubuh meskipun dalam dosis tinggi (Koeman, 1987). Pertimbangan ini dianggap perlu karena saponin dalam fraksi air kulit buah jeruk keprok berpotensi sebagai bahan toksik yang merusak hati.

Hati adalah organ paling kompleks dan berperan dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan zat toksik. Hati merupakan organ tubuh yang paling sering mengalami kelainan patologis. Hal ini karena hati merupakan pintu gerbang semua zat makanan, sebagian besar obat-obatan serta toksikan yang masuk ke tubuh melalui saluran cerna yang dibawa oleh vena porta ke hati. Oleh

karena itu, hati menjadi organ yang sangat potensial menderita keracunan lebih dahulu sebelum organ lain (Robbin & Kumar, 1995).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian terhadap khasiat fraksi air jeruk keprok sebagai penggunaan bahan antifertilitas dan efek samping terhadap hati pada mencit jantan perlu dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Dasar rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini yaitu : apakah pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok sebagai bahan antifertilitas yang diberikan secara peroral dapat menyebabkan kerusakan pada sel hati mencit jantan?

1.3 Landasan Teori

Tanaman yang mengandung glikosida, flavonoid, dan triterpenoid mempunyai efek anti fertilitas yaitu dengan cara menghambat kerja enzim hialuronidase spermatozoa yang diperlukan dalam proses fertilisasi (Farnsworth and Waller, 1982). Pada kulit buah *Citrus nobilis* Lour terdapat bioflavonoid berupa hesperidin, vitamin A, vitamin B, vitamin C, limonene, citral dan methyl antranilate (Li, 2002). Hesperidin merupakan senyawa glikosida flavonoid dan senyawa polifenol yang termasuk bahan *inhibitor* hialuronidase (Prajogo dkk, 1997).

Pada penelitian Setiawan (2006) pemberian fraksi air jeruk keprok dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB memberikan efek

hambatan fungsi penetrasi pada seluruh kelompok perlakuan sehingga belum diketahui dosis efisien yang dipakai sebagai dasar menentukan batas pengaruh bahan tersebut. Oleh karena itu dilakukan eksplorasi dosis berdasarkan modifikasi dari penelitian yang pernah dilakukan untuk mendapatkan dosis efisien yang mampu menghambat terjadinya fertilisasi secara *in vitro*. Setelah dilakukan eksplorasi dosis, didapatkan tiga rentang dosis dibawah dosis terkecil dari penelitian Setiawan (2006), antara lain 40 mg/kg BB, 60 mg/kg BB, 80 mg/kg BB. Dosis dalam penelitian ini diharapkan mampu mencegah penetrasi dan menurunkan angka fertilisasi. Sehingga dapat digunakan sebagai dosis efisien untuk pemberian fraksi air jeruk keprok sebagai bahan alternatif kontrasepsi pada pejantan.

Namun fraksi air kulit buah jeruk keprok ini mengandung bahan berpotensi toksik berupa saponin. Sehingga penggunaan dengan jumlah berlebih sangat memungkinkan untuk memicu kerusakan sel hati. Keadaan ini karena saponin mempunyai kemampuan menghemolisis eritrosit (Robbinson, 1995). Terjadinya hemolisis eritrosit oleh saponin mengakibatkan terlepasnya hemoglobin dari sel darah merah yang mengalami hemolisis sehingga menyebabkan hilangnya fungsi hemoglobin sebagai pembawa atau pengangkut oksigen dari paru-paru menuju ke seluruh jaringan tubuh, termasuk jaringan hati. Keadaan ini mengakibatkan berkurangnya oksigen yang dibebaskan ke jaringan hati maupun ke sel hati (Frandsen, 1992; Lu, 1995).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok sebagai bahan antifertilitas yang diberikan peroral terhadap gambaran histopatologi pada sel hati mencit jantan yang meliputi kongesti, degenerasi, dan nekrosis.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan melengkapi penelitian terdahulu yaitu jeruk keprok sebagai bahan antifertilitas untuk dasar pengujian lebih lanjut.

1.6 Hipotesis penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah : pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok sebagai bahan antifertilitas yang diberikan peroral dapat menyebabkan kerusakan pada sel hati mencit jantan.

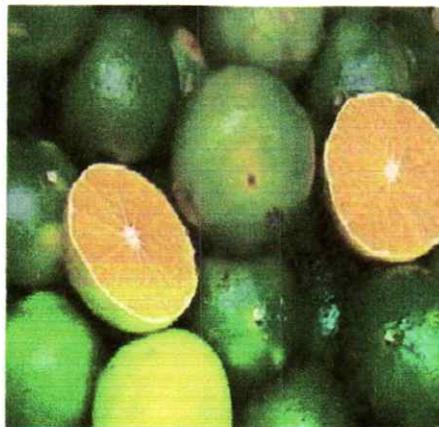
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour)

Jeruk keprok berasal dari daratan India, Cina Selatan, Australia Utara, dan New Caledonia. Daerah penyebaran tanaman jeruk sangat luas karena tanaman ini dapat tumbuh baik pada daerah tropis maupun subtropics (Andaya, 1993). Ada sekitar 16 spesies jeruk baik berupa pohon atau semak yang berdaun hijau dengan duri pada batang dan cabangnya (Robertson, 2004). Spesies jeruk melalui berbagai macam penelitian yang telah dilakukan diketahui mengandung berbagai macam bahan aktif dengan berbagai macam kegunaan. Kandungan tersebut diantaranya berupa vitamin C, berbagai macam flavonoid, asam serta *volatile oil* (Morris, 2004).



Gambar 2.1 Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour)

Sumber : //http.www.globalpinoy.com (8 April 2009)

Daun, akar, dan kulit buah jeruk keprok mengandung alkaloid dan polifenol, disamping itu daun dan akarnya juga flavonoid serta akar dan kulit buahnya mengandung saponin, pectin, dan minyak atsiri (Harborne, 1999).

Klasifikasi Jeruk Keprok menurut Hendrawan dkk., (2008) :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdevisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Klass	: Magnoliopsida (berkeping dua atau dikotil)
Sub-klass	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Familia	: Rutaceae (suku jeruk-jerukan)
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus nobilis</i> Lour

Kulit buah jeruk keprok mengandung berbagai macam komponen yaitu vitamin A, vitamin B, vitamin C, hesperidin, limonine, citral, senyawa pififenol, saponin, alkaloid, minyak atsiri, flavonoid yang termasuk bahan inhibitor hyaluronidase (Prajogo dkk, 2002).

Buah jeruk keprok dapat langsung dimakan untuk menghilangkan radang tenggorokan dan sakit demam, selain itu daging buahnya dapat diperas untuk dipakai sebagai minuman penyegar. Jus buahnya juga bisa digunakan untuk pengobatan gangguan hepar serta diare. Kulit buahnya yang masih segar digosokkan di wajah untuk menghilangkan jerawat sedangkan kulitnya yang sudah kering digunakan untuk pengobatan anoreksia, masuk angin, dan batuk (Morris, 2004).

2.2 Fraksi Air

Penelitian ini menggunakan fraksi air kulit buah jeruk keprok sebagai bahan uji yang ditujukan atau berorientasi ke penggunaan klinik pada manusia. Fraksi merupakan suatu terapan teknologi farmasi dimana tumbuhan segar yang telah dihaluskan atau material tumbuhan yang dikeringkan dan diproses dengan suatu cairan pengekstraksi secara berulang-ulang. Jenis dan bahan yang digunakan, terutama tergantung dari kelarutan bahan yang terkandung didalamnya (Voight, 1994).

Fraksi air adalah ekstrak kulit buah jeruk keprok yang diperoleh melalui proses ekstraksi dengan beberapa tahapan sehingga mengandung hesperidin yang memiliki aktivitas antifertilitas dengan menurunkan aktivitas enzim hyaluronidase spermatozoa. Fraksi air menggunakan pelarut air sebagai pelarut yang terakhir kali digunakan dengan harapan bahwa kandungan vitamin B, vitamin C, limonene, citral, senyawa polifenol, klorofil, serta alkaloid sudah dibebaskan (Prayogo, 2002).

Prayogo,dkk (2003) menyebutkan, aktivitas antifertilitas fraksi air lebih baik daripada ekstrak etanol 60% sehingga memungkinkan fraksi air lebih dikembangkan menjadi bahan aktif untuk kontrasepsi pria.

2.3 Antifertilisasi

Dalam dunia kedokteran hewan, penggunaan kontrasepsi pada hewan lebih sering dimaksudkan untuk membuat hewan menjadi steril (mandul). Sterilisasi

pada hewan kesayangan seperti anjing dan kucing dimaksudkan untuk mengontrol pertumbuhan populasi hewan tersebut dalam suatu lingkungan (Amanda, 2009).

Sterilisasi pada hewan jantan memiliki banyak metode antara lain sterilisasi dengan pembedahan dan sterilisasi tanpa pembedahan. Sterilisasi dengan pembedahan dapat dilakukan dengan cara vasektomi atau kastrasi, sedangkan sterilisasi tanpa pembedahan biasanya menggunakan preparat hormon (Winarno dan Sundari, 1997).

Dalam pengembangan metode kontrasepsi pada hewan jantan, sebenarnya ada beberapa bagian pada proses reproduksi yang dapat dipengaruhi antara lain spermatogenesis, maturasi spermatozoa dalam epididimis, transportasi spermatozoa serta pelepasan atau fusi dua sel kelamin (gamet) untuk membentuk individu baru tersebut (Winarno dan Sundari, 1997).

Pada fertilisasi untuk mencapai inti sel ovum, sel spermatozoa harus dapat menembus beberapa lapisan antara lain *cumulus oophorus*; *zona pellucida*; dan *membrana vitellin* (Partodihardjo, 1992). Enzim hialuronidase yang terdapat pada *acrosomal cap* spermatozoa berfungsi untuk menembus *cumulus oophorus* sedangkan enzim akrosin untuk penetrasi *zona pellucida*. Masing-masing enzim tersebut bekerja secara individual, spesifik dan harus berurutan (Ismudiono dkk, 2007).

Apabila salah satu enzim tidak disekresikan maka aktivitas enzim yang lain akan terganggu sehingga fertilisasi tidak akan terjadi. Bila hialuronidase dihambat maka kemampuan sel spermatozoa mendispersi *cumulus oophorus* akan terganggu, yang akhirnya berakibat gagalnya fertilisasi (Setiawan, 2006).

2.4 Sistem Reproduksi Jantan

2.4.1. Anatomi Fisiologi Reproduksi Jantan

Fungsi organ reproduksi pada jantan dapat dibagi menjadi tiga subdivisi utama : pertama, spermatogenesis, yang berarti hanya pembentukan sperma; kedua, kinerja kegiatan seksual pria; dan ketiga, pengaturan fungsi reproduksi pria oleh berbagai hormon. (Guyton and Hall, 1997).

Organ reproduksi jantan meliputi alat kelamin utama yaitu gonad atau testes, saluran reproduksi yang terdiri dari epididimis, vas deferens, ampulla, urethra, dan kelenjar asesoris yaitu vesikularis, prostata, dan bulbourethralis, serta alat kelamin luar berupa penis, preputium dan skrotum. Pada keadaan normal testes berbentuk bulat panjang dengan sumbu vertikal. Testes terbungkus dalam kantong skrotum, dimana dalam skrotum berisi dua lobi testes yang masing-masing lobi mengandung satu testes. Testes sebagai organ kelamin utama memiliki dua fungsi yaitu fungsi reproduktif sebagai penghasil sel spermatozoa dan fungsi endokrinologis sebagai penghasil hormon jantan atau androgen (Ismudiono dkk, 2007).

Setelah terbentuk sempurna, spermatozoa memasuki lumen tubuli seminiferi. Dari sini, spermatozoa didorong kearah epididimis oleh bagian dinding tubuli seminiferi yang berkontraksi. Walaupun pada mulanya gerakannya lambat, spermatozoa mendapatkan kemampuan gerak penuhnya di dalam epididimis. (Sadler, 1997). Epididimis memiliki empat fungsi utama yaitu transportasi, konsentrasi, pendewasaan atau kapasitasi dan tempat penyimpanan spermatozoa. Duktus (vas) deferens merupakan saluran yang menghubungkan cauda epididimis

dengan urethra. Urethra merupakan saluran urogenitalis untuk menyalurkan urine dan semen (Ismudiono dkk, 2007).

Penis adalah genitalia luar jantan, untuk menyalurkan semen ke dalam tubuh betina. Terdiri dari tiga batang silinder jaringan yang erektif : dua batang corpora cavernosa sebelah atas, satu batang corpus spongiosum di bawah. Corpus spongiosum menyelaputi urethra. Kalau penis berereksi, darah memenuhi batang yang tiga buah itu sehingga keras atau tegang. Kulit pembungkus glans penis disebut prepuce (Yatim, 1994).

2.4.2 Spermatozoa

Ada 2 macam spermatozoa menurut strukturnya yaitu spermatozoa tak berflagelum dan berflagelum. Spermatozoa tak berflagelum terdapat pada beberapa jenis Evertebrata yakni Nematoda, Crustacea, Diplopoda. Spermatozoa yang berflagelum umumnya terdapat pada hewan terdiri dari bagian kepala dan ekor. Kepala sebagai penerobos jalan menuju dan masuk ke dalam ovum dan membawa bahan genetik yang akan diwariskan kepada anak-cucu. Ekor untuk pergerakan menuju tempat pembuahan dan untuk mendorong kepala menerobos selaput ovum. Pada bagian kepala terdapat akrosom dan inti (Yatim, 1994).

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa yang terdapat di dalam semua tubulus seminiferus. Proses spermatogenesis terdiri dari dua fase yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Spermatositogenesis adalah pembentukan spermatosit primer dan sekunder dari spermatogonia tipe B melalui proses pembelahan mitosis yang dilanjutkan dengan pembelahan meiosis menjadi spermatid (Hafez, 1993).

Spermiogenesis merupakan serangkaian perubahan yang menimbulkan transformasi spermatid menjadi spermatozoa (Sadler, 1997). Menurut Poernomo dkk (2001) spermiogenesis ditandai dengan spermatid yang mengalami metamorfosis dan berubah bentuknya menjadi spermatozoa yang sempurna. Pada proses ini tidak terjadi pembelahan sel tetapi suatu proses dari transformasi sel yaitu aparat golgi menjadi tudung anterior atau akrosom, inti spermatid menjadi kepala sperma, dari sentriol keluar flagella (ekor), plasma membrane menjadi selubung tubuh sperma dan mitokondria mengumpul di bagian ekor.



Gambar 2.2 Spermatozoa mencit dengan pembesaran 1750x (Hafez,2000)

Enzim hialuronidase dan enzim proteolitik disimpan dalam jumlah besar di dalam akrosom spermatozoa. Saat ovum dikeluarkan dari folikel ovarium ke dalam rongga abdomen dan tuba fallopii, ovum membawa banyak lapisan sel-sel granulosa. Sebelum spermatozoa dapat membuahi ovum, spermatozoa akan melewati lapisan sel granulosa lalu menembus penutup tebal dari ovum yaitu *zona pellucida*. Pada proses ini enzim hialuronidase bekerja untuk membuka jalan di antara sel-sel granulosa sehingga dapat mencapai ovum (Guyton and Hall, 1997).

2.5 Senyawa Saponin

Senyawa yang berpotensi sebagai bahan toksik dalam fraksi air jeruk keprok adalah saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tanaman atau sewaktu memekatkan ekstrak tanaman merupakan bukti adanya saponin (Harborne, 1999).

Saponin dapat menimbulkan keracunan pada ternak sebab dapat menyebabkan kerusakan pada organ hati (Harborne, 1999). Menurut Robinson (1995) saponin mempunyai kemampuan menghemolisis sel darah merah dan dalam larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan, sehingga tumbuhan yang mengandung saponin dapat digunakan sebagai racun ikan.

Uji saponin yang sederhana adalah mengocok ekstrak dari tumbuhan keladi tikus ditambahkan alkohol dan air dalam tabung reaksi, maka akan terbentuk busa yang tahan lama pada permukaan cairan. Selain terdapat di dalam kulit, batang tumbuhan, saponin juga terdapat di dalam akar, biji, batang dan bahkan mungkin pada seluruh bagian tumbuhan (Kam, 1999).

Saponin bersifat menghancurkan eritrosit melalui reaksi hemolisis (Robinson, 1995). Terjadinya hemolisis eritrosit oleh saponin mengakibatkan terlepasnya hemoglobin dari sel darah merah yang mengalami hemolisis sehingga menyebabkan hilangnya fungsi hemoglobin sebagai pembawa atau pengangkut oksigen dari paru-paru menuju ke seluruh jaringan tubuh, termasuk jaringan hati. Keadaan ini mengakibatkan berkurangnya oksigen yang dibebaskan ke jaringan hati maupun ke sel hati (Frandsen, 1992; Lu, 1995).

Fungsi saponin dalam tumbuh-tumbuhan sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga. Kandungan saponin dapat menyebabkan toksik dan toksin saponin dikenal dengan sapotoksin (Kam, 1999).

2.6 Hati

2.6.1 Anatomi Hati

Hati merupakan kelenjar yang terberat dan terbesar dalam tubuh, rata-rata beratnya sekitar 1500 gram atau 2,5% berat badan orang dewasa dan hati mempunyai konsistensi yang lunak. Hati terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan bahan toksik yang masuk ke dalam tubuh. Gangguan metabolisme pada penyakit hati sangat khas dan membantu dalam mendiagnosa penyakit (Leeson and Paparo, 1995).

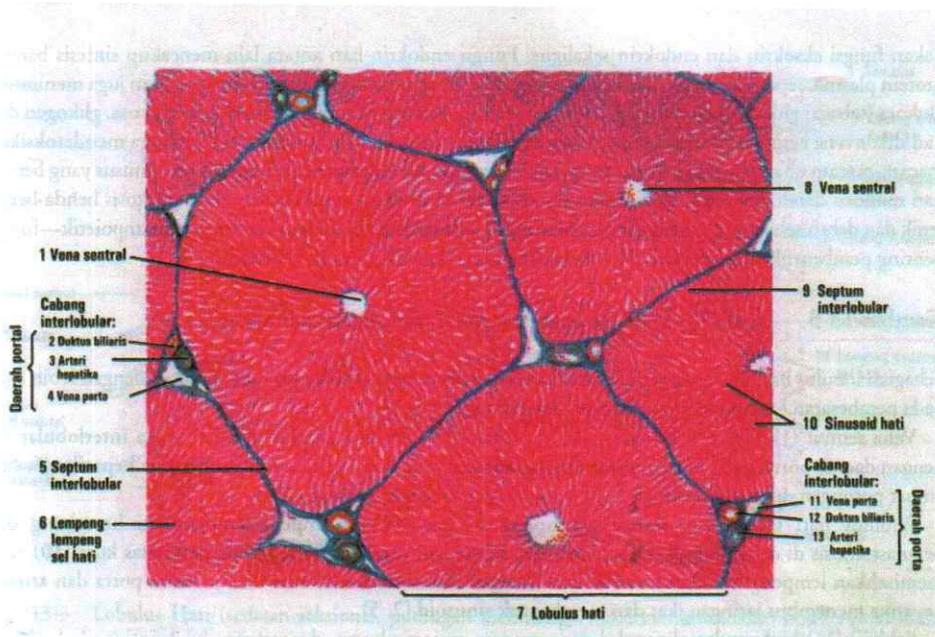
Hati terletak tepat di belakang diafragma dan cenderung di sebelah kanan dalam rongga abdomen. Lokasi maupun jumlah lobus hati sangat bervariasi antara spesies yang satu dengan yang lain (Frandsen, 1992). Hati berada pada bagian atas kanan rongga abdomen, mulai dari sela interkostal kelima sampai pada lengkung rusuk (Darmawan dan Himawan, 1998).

Bentuk permukaan hati bagian atas adalah cembung dan bagian bawahnya adalah cekung. Permukaan hati diselubungi oleh peritoneum pars viseralis (Wilson dan Lester, 1995).

Hati pada keadaan segar akan berwarna merah tua atau merah coklat, warna ini disebabkan adanya darah yang sangat banyak (Leeson and Paparo, 1995). Hati menerima darah sekitar 30% dari arteri hepatica dan menerima suplai darah sekitar 70% dari vena porta (Junqueira dan Carneiro, 1998). Vena porta membawa darah yang mengandung zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan organ tertentu menuju hati, sedangkan arteri hepatica memberi darah pada hati dengan darah bersih yang mengandung oksigen (Stinson dan Calhoun, 1992).

2.6.2 Histologi Hati

Struktur utama hati adalah sel hati (hepatosit). Bentuk sel hati adalah polihedral dengan enam permukaan atau lebih yang mempunyai garis tengah kira-kira 20-30 μm dengan membran yang jelas. Sel hati mempunyai inti yang bulat yang terletak di tengah, anak inti berjumlah satu atau lebih dengan kromatin yang menyebar. Sitoplasma sel agak berbutir dan di dalamnya mengandung mitokondria dalam jumlah banyak, lisosom, ribosom, retikulum endoplasma, serta aparatus Golgi yang biasanya terletak di dekat inti, tepi sel atau kanalikuli empedu (Stinson dan Calhoun, 1992; Leeson and Paparo, 1995).



Gambar 2.3 Sel hati potongan melintang (Eroschenko, 2000)

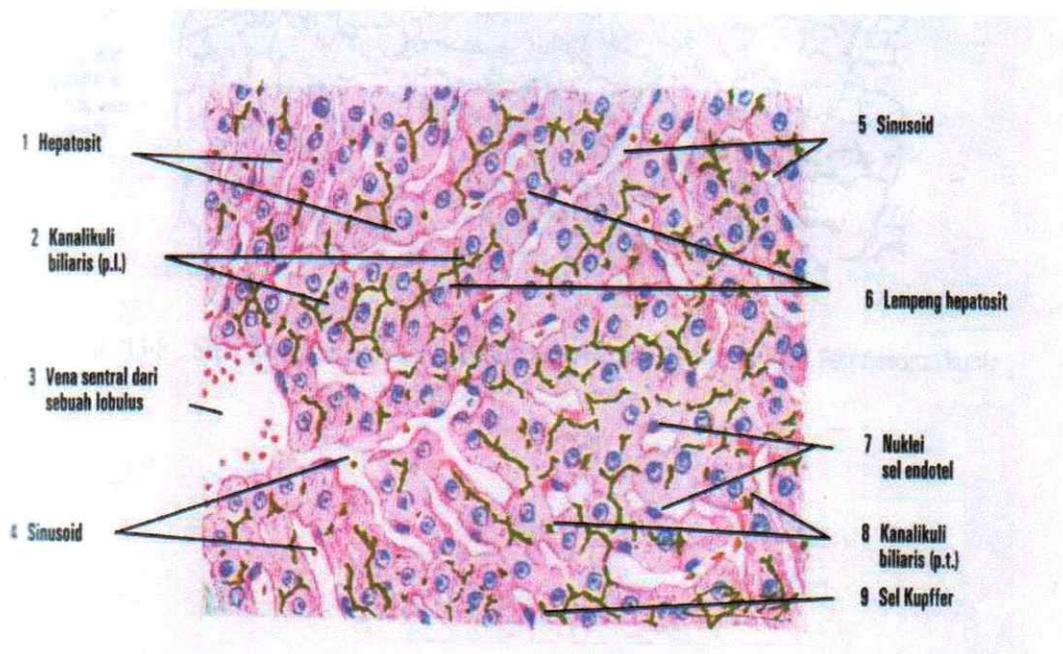
Setiap lobus hati dibagi menjadi struktur yang dinamakan lobulus yang merupakan unit mikroskopik dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan bentuk heksagonal yang terdiri atas lempeng sel hati berbentuk kubus yang tersusun radier mengelilingi vena sentralis. Lobulus hati yang satu dengan yang lainnya tidak terpisah secara jelas (Craigmyle, 1994). Celah di antara lempeng – lempeng sel hati terdapat sinusoid hati yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica (Junqueira dan Carneiro, 1998; Leeson and Paparo, 1995).

Lobulus hati merupakan unit struktural yang mengitari vena sentralis. Saluran portal (segitiga Kiernan) merupakan unit fungsional yang terdiri dari percabangan vena portal, percabangan arteri hepatic dan saluran empedu. Empedu yang dihasilkan parenkim ditampung oleh saluran empedu di daerah saluran portal yang disebut duktus interlobularis (Deelman dan Brown, 1992). Saluran portal dibentuk antara tiga sampai enam lobulus hati (Stinson dan Calhoun, 1992).

Lobulus hati terdiri atas dua bagian utama, yaitu bagian parenkim yang terdiri dari sel – sel dan bagian sinusoid (Bevelander dan Ramaley, 1998).

Sinusoid merupakan pembuluh yang membawa darah dari arteri dan vena sentralis, melebar tidak teratur dan hanya terdiri atas satu lapisan sel yang tidak kontinyu (Junqueira dan Carneiro, 1998). Sinusoid kapiler hati mempunyai pembatas yang tidak sempurna dan memungkinkan pengaliran makromolekul dengan mudah dari lumen ke sel – sel hati dan sebaliknya. Sinusoid dikelilingi dan disokong oleh serabut retikuler halus yang penting untuk mempertahankan bentuk sinusoid hati (Junqueira dan Carneiro, 1998; Stinson dan Calhoun, 1992).

Sinusoid berasal dari pinggir lobulus, diisi oleh venula dalam, beberapa cabang terminal vena porta dan arteriola hepatica dan mereka berjalan ke arah pusat, bermuara ke arah vena sentralis. Sinusoid dibatasi oleh sel endotel dan sel *Kupffer*. Sel endotel mempunyai inti kecil berwarna gelap dengan sitoplasma yang sangat tipis. Sel *Kupffer* mempunyai inti yang lebih besar dan pucat, sitoplasma lebih banyak dengan cabang – cabang yang luas atau melintang di dalam sinusoid hati (Leeson and Paparo, 1995). Sel *Kupffer* merupakan sistem retikuloendotel dengan fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri, sel yang sudah tua, sel tumor, virus, parasit, dan benda asing di dalam hati (Sherlock, 1995). Hanya sumsum tulang yang mempunyai massa retikuloendotel lebih banyak daripada yang terdapat dalam hati, jadi hati merupakan salah satu organ utama sebagai pertahanan terhadap invasi bakteri dan agen toksik (Fawcett, 2002).



Gambar 2.4 Sel hati sediaan seksional (Eroschenko, 2000)

Dalam hati terdapat kanalikulus empedu yang terletak diantara sel-sel hati yang saling berdampingan. Kanalis empedu tidak mempunyai dinding sendiri jadi kanalis empedu merupakan celah diantara sel-sel hati. Selain vena porta, juga ditemukan arteriol hepar didalam septum interlobularis. Arteriol ini menyuplai darah arteri ke jaringan septum di antara lobulus yang berdekatan, dan banyak arteriol kecil juga mengalir langsung ke sinusoid hati, paling sering pada sepertiga jarak ke septum interlobularis (Guyton and Hall, 2000).

Selain sel-sel hati, sinusoid vena dilapisi oleh dua tipe sel, seperti sel endotel khusus dan sel kupfer besar, yang merupakan makrofag jaringan (juga disebut sel retikuloendotel), yang mampu memfagositosis bakteri dan benda asing lain dalam darah sinus hepatikus. Sel kupfer berfungsi sebagai sel retikuloendotelial yang menguraikan hemoglobin menjadi bilirubin, membentuk

α -globulin dan immune bodies serta sebagai alat fagositosis terhadap bakteri, elemen korpuskuler atau makromolekuler (Hadi, 2002).

Lapisan endotel sinusoid vena mempunyai pori yang sangat besar, beberapa diantaranya berdiameter hampir 1 mikrometer. Di bawah lapisan ini, terletak di antara sel endotel dan sel hepar, terdapat ruang jaringan yang sangat sempit yang disebut *ruang disse*. Jutaan ruang disse kemudian menghubungkan pembuluh limfe di dalam septum interlobularis. Kelebihan cairan di dalam ruang ini di keluarkan melalui aliran limfatik. Zat didalam plasma bergerak bebas ke dalam ruang disse. Bahkan banyak protein plasma berdifusi dengan bebas ke ruang ini (Guyton and Hall, 2000).

2.6.3 Fungsi Hati

- Fungsi sirkulasi

Mengalirkan darah dari vena porta ke sistem sirkulasi, aktifitas dari Retikulum Endoplasmik Sel (RES) dalam mekanisme pertahanan dan sebagai penyimpanan darah atau sebagai pengatur jumlah darah (Bevelander dan Ramaley, 1998).

- Fungsi sekresi dan ekskresi

Sekresi dan ekskresi empedu merupakan fungsi utama hati. Saluran empedu dan kandung empedu menyimpan dan mengeluarkan empedu ke usus halus sesuai yang dibutuhkan (Bevelander dan Ramaley, 1998). Unsur utama empedu adalah air (97%) elektrolit garam empedu, fosfolipid, kolesterol dan pigmen-pigmen empedu, mempunyai derifat

hemoglobin yang tidak mengandung besi karena besi hemoglobin tersebut diambil oleh tubuh kemudian disimpan di dalam hati untuk digunakan pada sel-sel baru (Ganong, 2001).

- Fungsi metabolisme

Hati mempunyai peranan penting pada metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak setelah diabsorpsi di usus. Metabolisme yang terjadi di hati yaitu metabolisme karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan vitamin selain itu hati juga menghasilkan energi (Junqueira dan Carneiro, 1998). Fungsi metabolisme hati yang lain adalah menyimpan vitamin, besi, dan tembaga (Rush, 2008).

- Fungsi proteksi dan detoksifikasi

Fungsi ini juga tidak kalah pentingnya yaitu untuk pertahanan tubuh, fungsi ini dikerjakan oleh sel-sel kupfer pada sinusoid dengan menyaring bakteri di dalam darah portal dan bahan-bahan yang membahayakan, dengan cara fagositosis. Fungsi detoksifikasi yaitu menawarkan racun berbagai bahan toksik di dalam peredaran darah (Ganong, 2001).

- Fungsi hematologi

Fungsi hematologi terutama berperan pada hematopoiesis pada embrio dan pada fibrinogen, trombosit, heparin, dan destruksi eritrosit pada hewan dewasa (Darmawan dan Himawan, 1998).

Sel hati merupakan sel paling serba guna dalam tubuh. Pada saat yang sama ia adalah sel yang berfungsi endokrin dan eksokrin dan ia membentuk dan mengumpulkan substansi tertentu, mendetoksifikasi

substansi lain, dan mentranspor lainnya lagi (Junqueira dan Carneiro, 1998).

2.6.4 Patologi Hati

Hati sangat rentan terhadap pengaruh kebanyakan zat kimia, sebab hati mudah berhubungan melalui vena porta dengan zat yang diserap dari lambung, usus, dan ginjal (Koeman, 1998). Bentuk toksin yang menginduksi lesi pada hepar berbeda-beda tergantung dari tipe, dosis, dan lamanya paparan begitu juga faktor lainnya seperti logam-logam, mineral, dan zat kimia lain yang terabsorpsi masuk menuju portal darah yang ditransportasikan ke hati (Thomson, 2001).

Toksisitas pada jaringan hati pada pemeriksaan histopatologis tampak berupa kongesti, perdarahan (haemoragi), degenerasi, dan nekrosis. Kerja toksik jenis ini tidak mengubah fungsi sel (misalnya kandungan glikogen atau konsentrasi berbagai enzim) tetapi struktur sel langsung dirusak (Thomson, 2001).

Kongesti merupakan gangguan sirkulasi yang secara mikroskopik tampak pada kapiler dalam jaringan yang hiperemi melebar dan penuh darah. Kongesti dapat mengakibatkan rusaknya endotel dinding pembuluh darah. Kerusakan ini akan merangsang agregasi trombosit dan menempel pada sel endotel menyebabkan penyempitan lumen sehingga terjadi pembendungan pembuluh darah dan akhirnya pembuluh darah pecah dan mengalami perdarahan (Robbins and Kumar, 2004).

Perdarahan dapat terjadi pada keadaan kongesti kronis sehingga dapat mengakibatkan timbulnya jejas pada sel endotel dinding pembuluh darah. Sel endotel normal mempunyai fungsi sebagai anti-trombosit, anti-koagulan, dan pro-

koagulan sehingga pada keadaan normal trombosit mengalir dalam aliran darah dengan tidak melekat pada endotel. Namun ketika terjadi jejas sel endotel fungsi anti-trombosit tersebut tidak lagi berfungsi sehingga terjadi jejas sel endotel darah keluar ke dalam jaringan interstitial, sehingga trombosit akan menempel pada tempat terjadinya jejas sel endotel. Adanya trombosit yang menempel pada sel endotel pembuluh darah menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah, sehingga terjadi pembendungan aliran darah, dan akhirnya pembuluh darah pecah (Robbins dan Kumar, 2004).

Penghambatan aliran darah karena kongesti menyebabkan zat-zat makanan dan oksigen yang masuk ke jaringan berkurang sehingga mengakibatkan perubahan seluler. Perubahan tersebut mulai dari degenerasi sampai nekrosis. Degenerasi timbul karena adanya akumulasi dari bahan toksik dan zat metabolit yang lain. Zat metabolit dan bahan toksik dapat menyebabkan gangguan pada organel mitokondria yang menghasilkan energi *Adenosin Tri Phospat* (ATP). ATP dibutuhkan agar pompa natrium (Na^+) berjalan lancar. Bila ATP tidak dihasilkan maka Na^+ bersuat menarik air sehingga air terakumulasi ke dalam sel, akibatnya sel membengkak dan sitoplasma tampak keruh (Rippey, 1994).

Degenerasi sel merupakan kerusakan yang terjadi pada sitoplasma tetapi tidak sampai merusak inti sel sehingga kerusakan tersebut dapat pulih kembali menjadi normal bila penyebab kerusakan dihilangkan (*reversible*). Degenerasi sel yang berlangsung lama dan terus menerus akan mengakibatkan sel tidak dapat melaksanakan metabolisme sehingga terjadi kematian sel atau nekrosis sel (Frick and Wilson, 2006).

2.7 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan yang banyak digunakan dalam penelitian biomedik modern. Lama hidup mencit satu sampai dua tahun, tetapi ada pula yang bisa mencapai tiga tahun. Umur dewasa 35 hari, kawin 8 minggu, berat dewasa 20-40 g (jantan) dan 18-35 g untuk betina. Mencit merupakan hewan yang cukup efisien dan ekonomis. Mencit memiliki interval generasi dan siklus estrus yang pendek (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

Klasifikasi mencit (*Mus musculus*) menurut Vanderolip (2001) adalah:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Klass	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>



Gambar 2.5 Mencit (Sancheti *et al*,2002)

Proses spermatogenesis pada mencit membutuhkan waktu kira-kira 8 hari, meiosis lengkap diperkirakan 13 hari, dan spermiogenesis kira-kira 13,5 hari. Jadi proses satu siklus spermatogenesis pada mencit memerlukan waktu lebih kurang 34,5 hari (Morse, 1981).

Kusumawati (2004) menyebutkan bahwa mencit sering digunakan dalam penelitian antifertilitas karena mencit mempunyai banyak keuntungan, antara lain: daur estrusnya teratur dan mudah dideteksi, periode kebuntingan relatif singkat (18-21 hari) dan jumlah anak tiap kelahiran cukup banyak yaitu 6-15 ekor.

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Jurusan Biologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret sampai Desember 2009.

3.2 Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 6 bulan dengan berat badan rata-rata 30 gram yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sebanyak 24 ekor.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian terdiri dari: kulit buah jeruk keprok (*Citrus nobilis* Lour.), aquadest, larutan NaOH 2N dan larutan HCl 2N, pakan mencit, air PDAM untuk minum mencit, sekam padi, NaCl fisiologis, formalin 10%, alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, alkohol Absolut I, II, III, Xylol I, II, III, Parafin I, II, III, pewarnaan HE dan canada Balsam.

3.2.3 Alat-Alat Penelitian

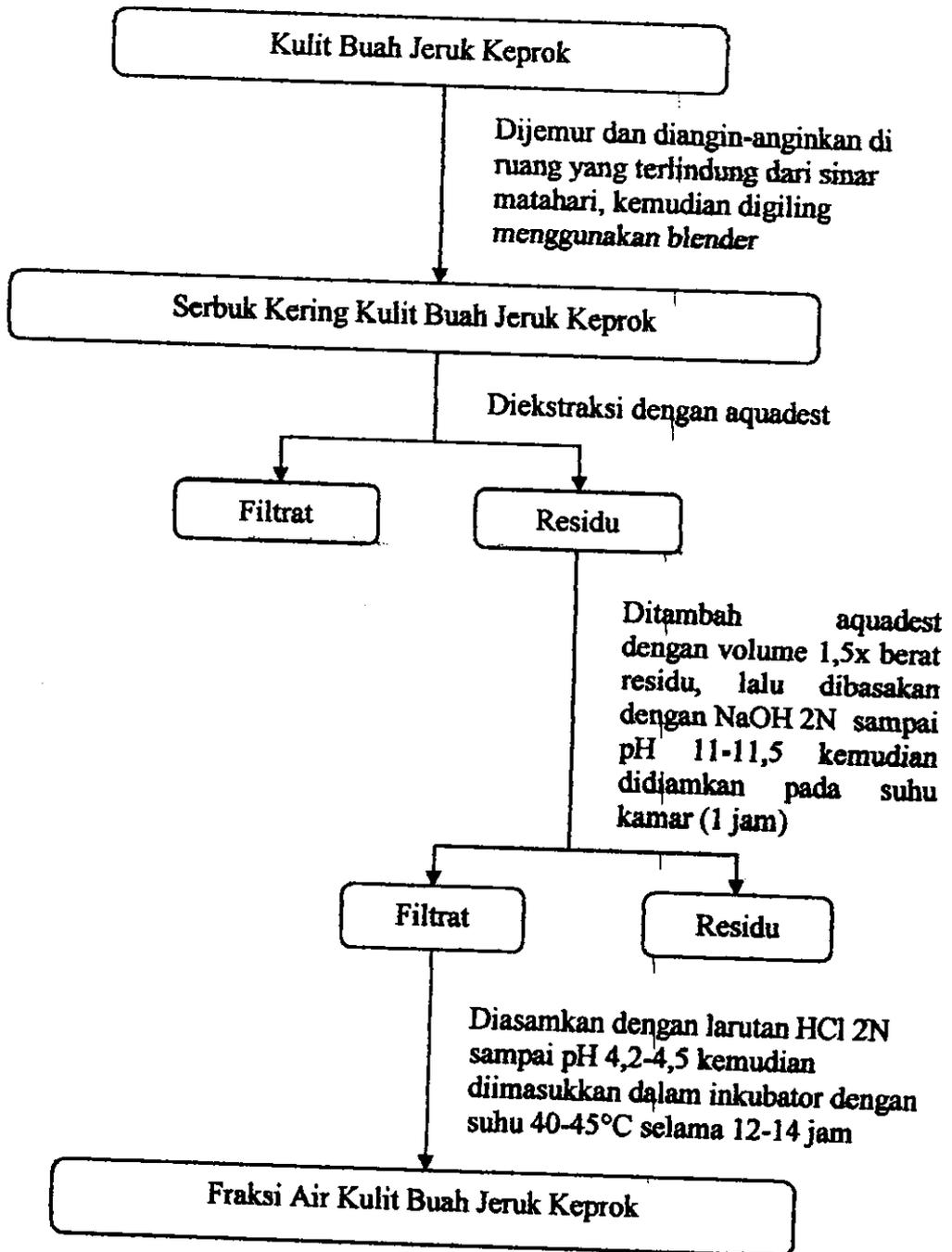
Alat yang digunakan meliputi toples kaca, kain flanel, baskom plastik, blender, gelas ukur, inkubator, Erlenmeyer, guanting, pH meter, cawan porselin, disposable syringe, sonde lambung, gloves, masker, empat buah kandang mencit berupa kotak plastik yang ditutup dengan anyaman kawat, botol tempat minum mencit, peralatan bedah, mikroskop dan obyek glass, hot plate, mikrotom, oven, dan cetakan blok.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pembuatan Fraksi Air Kulit Buah Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour)

Kulit buah jeruk keprok dijemur sampai kering, kemudian dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Serbuk sebanyak 600 g direndam dengan aquadest lalu dilakukan penyaringan dengan kain flanel secara berulang hingga mendapatkan filtrat yang bening. Setelah itu residu diberi aquadest sebanyak 1,5 kali berat residu, kemudian lakukan pembasaan dengan menggunakan larutan NaOH 2N sampai didapatkan pH 11-11,5 dan didiamkan pada suhu kamar selama satu jam. Rendaman disaring menggunakan kain flanel. Filtrat hasil penyaringan selanjutnya diasamkan dengan HCl 2N mencapai pH 4,2-4,5 kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu antara 40-45°C selama 12-24 jam. Fraksi air yang didapat dalam bentuk padat sebanyak 40 g sehingga harus dibuat larutan solusio dahulu sebelum diberikan pada hewan coba. Cara pembuatan larutan solusio yaitu timbang fraksi air jeruk keprok sesuai dosis yang dibutuhkan lalu digerus menggunakan mortil sampai halus dan tambahkan aquadest. (Setiawan, 2006).

3.3.2 Skema Pembuatan Fraksi Air Kulit Buah Jeruk Keprok



Gambar 3.1 Skema Pembuatan Fraksi Air Kulit Buah Jeruk Keprok

3.3.3 Treatment Jeruk Keprok pada Mencit Jantan

24 ekor mencit jantan fertii dibagi menjadi empat kelompok yaitu satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan masing-masing adalah P₁, P₂, dan P₃. Dosis yang diberikan pada masing-masing kelompok antara lain :

- P₀ : 6 ekor mencit jantan pada kelompok ini merupakan kontrol yaitu hanya diberi aquadest
- P₁ : 6 ekor mencit jantan diberi fraksi air kulit buah jeruk keprok peroral dengan dosis 40 mg/kg BB
- P₂ : 6 ekor mencit jantan diberi fraksi air kulit buah jeruk keprok peroral dengan dosis 60 mg/kg BB
- P₃ : 6 ekor mencit jantan diberi fraksi air kulit buah jeruk keprok peroral dengan dosis 80 mg/kg BB

Pemberian perlakuan secara peroral selama 35 hari. Pada hari ke 36 dilakukan pembedahan dan pengambilan hati mencit. Hati mencit tersebut dicuci dengan NaCl fisiologis. Selanjutnya dimasukkan ke dalam pot plastik dan difiksasi dengan formalin 10% selama 24 jam selanjutnya dibuat preparat histopatologi.

3.3.4 Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Pengamatan secara mikroskopis preparat histopatologi hati mencit jantan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Pengamatan dilakukan pada lima lapangan pandang. Perubahan yang diamati adalah kongesti, degenerasi, dan nekrosis sebagai akibat pemberian fraksi air kulit buah jeruk

keprok yang diberikan peroral. Hasil pembacaan dilakukan skoring berdasarkan tabel di bawah ini :

Tabel 3.1 Skoring perubahan gambaran histopatologi hati (Hidayat, 2008)

Perubahan	Skor
Tidak terjadi perubahan	0
Kongesti	1
Degenerasi	2
Nekrosis	3

3.4 Peubah yang Diamati

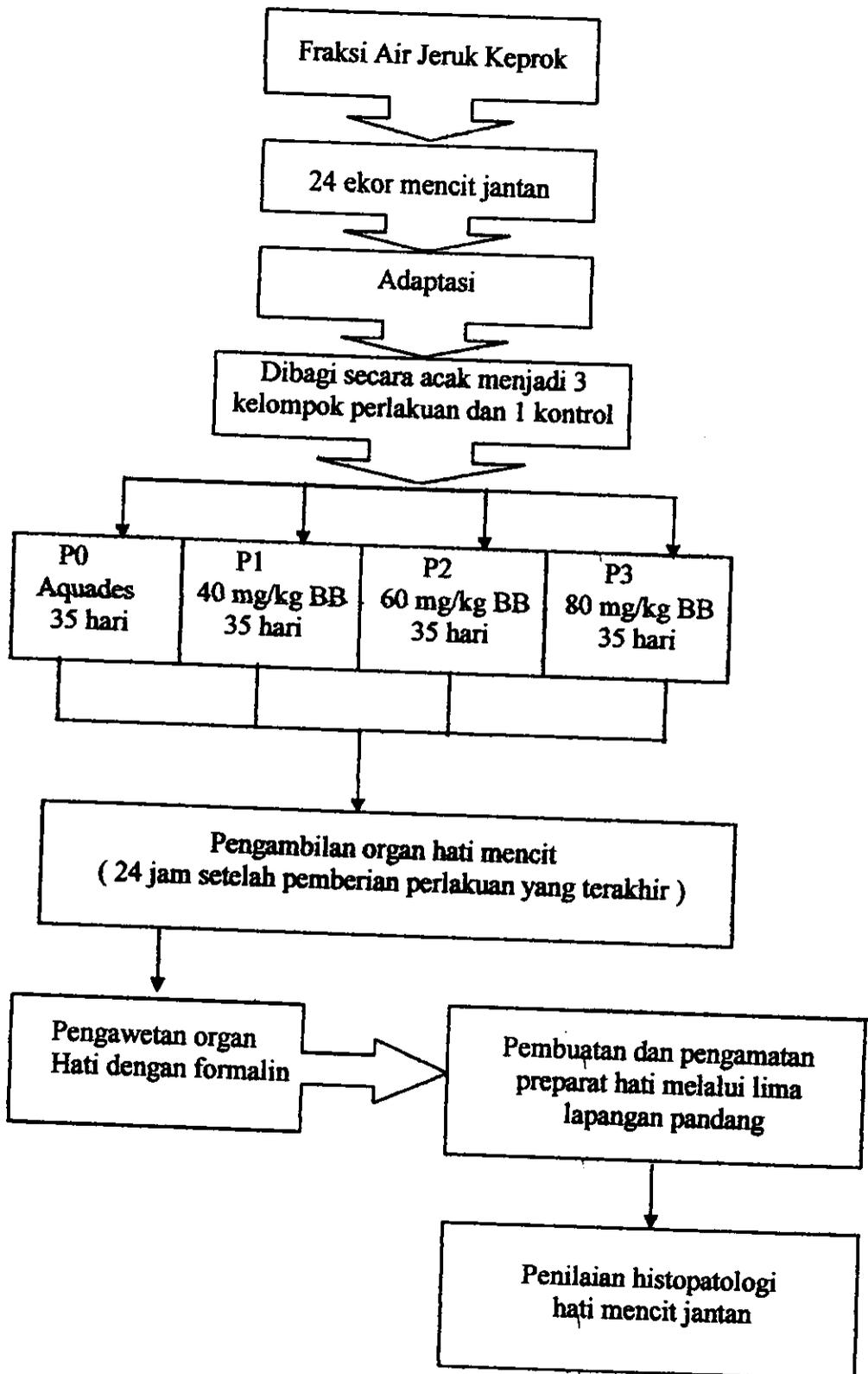
Setelah dibuat preparat histopatologi dan diamati dibawah mikroskop kemungkinan dapat berupa kongesti, degenerasi, dan nekrosis pada sel hati. Terjadinya kongesti diketahui bila adanya kenaikan volume darah pada beberapa sistem sirkulasi di seluruh tubuh , vena sentralis, sinusoid, dan pembuluh darah yang lain dan bila terjadi degenerasi diketahui adanya pembengkakan, akumulasi air, dan kekeruhan pada sitoplasma.

3.5 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian (percobaan) yang digunakan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu kelompok kontrol, tiga kelompok perlakuan dan enam ulangan (Kusriningrum, 2008).

Data perubahan gambaran histopatologi hati mencit jantan yang sudah diberi skor, diolah dengan penilaian peringkat (rank) lalu dianalisis dengan diuji statistik non parametrik dengan menggunakan Uji Kruskal – Wallis. Apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara kelompok perlakuan, dilakukan dengan Uji Mann-Whitney.

3.6 Kerangka Penelitian



BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan perubahan gambaran histopatologi hati mencit jantan terhadap pengaruh pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok secara peroral dengan dosis 40 mg/kg BB, 60 mg/kg BB, 80 mg/kg BB didapatkan bahwa pada kelompok perlakuan terjadi perubahan gambaran histopatologi hati yaitu kongesti dan degenerasi. Pengamatan secara mikroskopik yang dilakukan melalui lima lapangan pandang menunjukkan adanya perbedaan yang disajikan pada tabel berikut ini:

Tabel 4.1 Skoring dan Simpangan Baku Gambaran Histopatologi Hati Mencit Jantan Berupa Kongesti Setelah Diberi Fraksi Air Jeruk Keprok

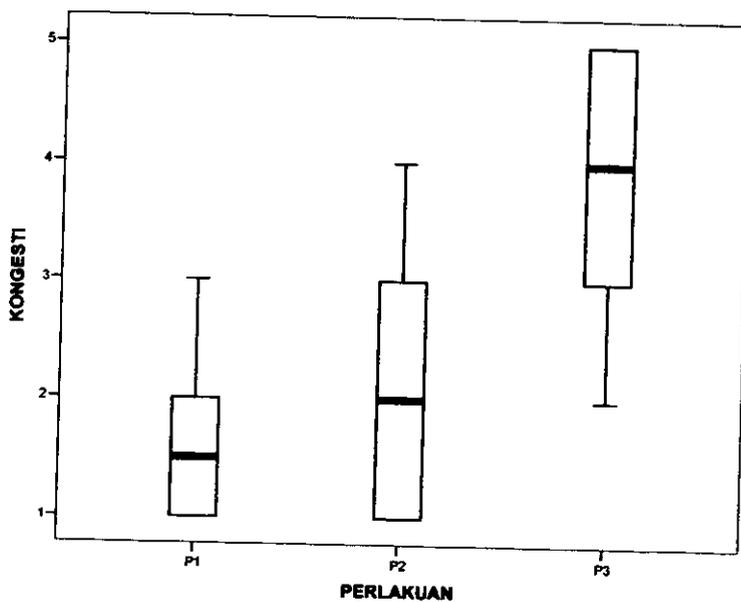
Perlakuan	Skoring dan Simpangan Baku (R ± SD)
P0	0,00 ± 0,000 ^a
P1	4,50 ± 1,095 ^a
P2	9,50 ± 3,266 ^a
P3	14,50 ± 3,485 ^b

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

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa kelompok P1 mengalami perubahan histopatologi hati paling ringan berupa kongesti (4,50), dilanjutkan dengan P2 (09,50), dan P3 (14,50) yang paling berat.

Hasil analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Jadi hipotesis yang diajukan pada penelitian ini diterima. Maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui urutan tingkat perubahan gambaran histopatologi hati antar kelompok perlakuan. Data statistik uji Mann-Whitney secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 4.2 Grafik Perubahan Gambaran Histopatologi Hati Mencit Jantan Berupa Kongesti yang Dianalisis dengan Uji Mann-Whitney.



Hasil analisis dengan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa antara kelompok P1, P2, P3 berbeda nyata ($p < 0,05$), kelompok P1 dengan P2 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), kelompok P1 dengan P3 berbeda nyata ($p < 0,05$), dan kelompok P2 dengan P3 berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 4.3 Skoring dan Simpangan Baku Gambaran Histopatologi Hati Mencit Jantan Berupa Degenerasi Setelah Diberi Fraksi Air Jeruk Keprok

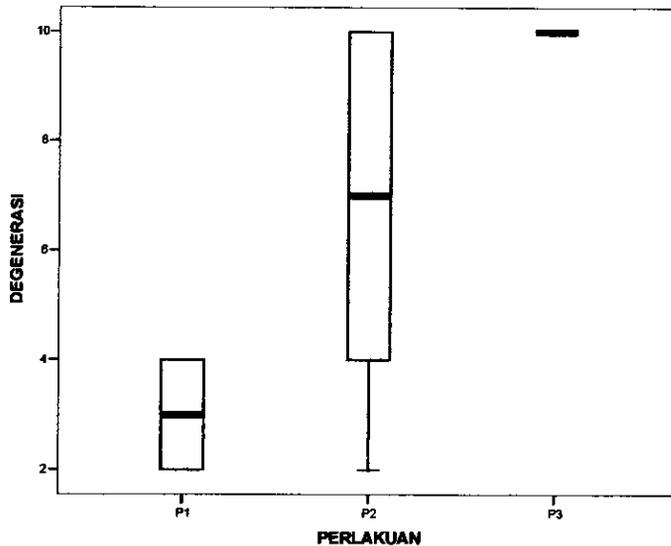
Perlakuan	Skoring dan Simpangan Baku (R ± SD)
P0	0,00 ± 0,000 ^a
P1	6,17 ± 0,816 ^a
P2	8,17 ± 1,169 ^a
P3	14,17 ± 1,381 ^b

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

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa kelompok P1 mengalami perubahan histopatologi hati paling ringan berupa degenerasi (6,17), dilanjutkan dengan P2 (8,17), dan P3 (14,17) yang paling berat.

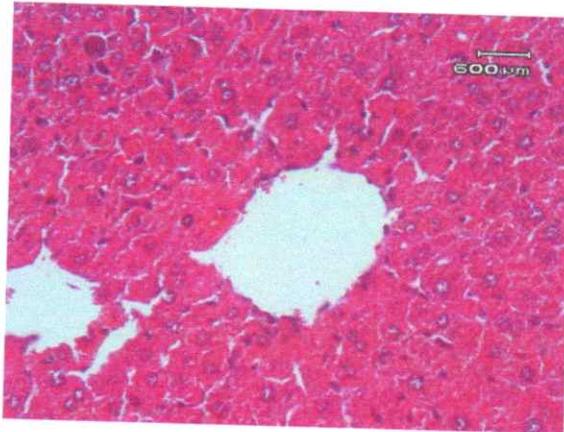
Hasil analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Jadi hipotesis yang diajukan pada penelitian ini diterima. Maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui urutan tingkat perubahan gambaran histopatologi hati antar kelompok perlakuan. Data statistik uji Mann-Whitney secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 4.4 Grafik Perubahan Gambaran Histopatologi Hati Mencit Jantan Berupa Kongesti yang Dianalisis dengan Uji Mann-Whitney.

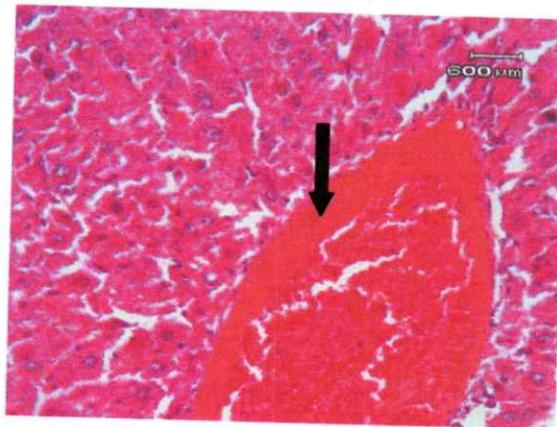


Hasil analisis dengan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa antara kelompok P1, P2, P3 berbeda nyata ($p < 0,05$), kelompok P1 dengan P2 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), kelompok P1 dengan P3 berbeda nyata ($p < 0,05$), dan kelompok P2 dengan P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

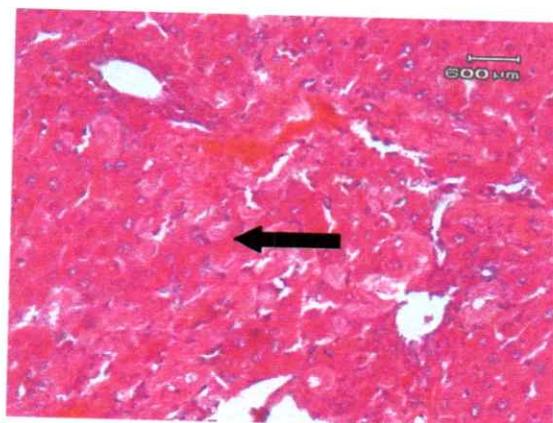
Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap preparat histopatologi hati mencit jantan akibat pengaruh pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok didapatkan hasil perubahan gambaran sebagai berikut:



Gambar 4.1. Gambaran histopatologi hati mencit jantan normal pada P0 dengan pembesaran 400x dan pewarnaan HE.



Gambar 4.2. Perubahan gambaran histopatologi hati mencit jantan pada P1, P2, P3 berupa kongesti dengan pembesaran 400x dan pewarnaan HE.



Gambar 4.3. Perubahan gambaran histopatologi hati mencit jantan pada P1, P2, P3 berupa degenerasi dengan pembesaran 400x dan pewarnaan HE.

BAB 5
PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian pengaruh pemberian fraksi air *Citrus nobilis* Lour dengan dosis 100 mg/kg BB; 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB untuk mengamati fungsi penetrasi spermatozoa dengan metode fertilisasi *in vitro* dan diperoleh data seluruh sel ovum mencit tidak mengalami penetrasi (100% tetap utuh). Dosis yang diberikan seluruhnya memberikan efek hambatan fungsi penetrasi yang mutlak sehingga pada penelitian ini dilakukan eksplorasi dosis lebih rendah yang masih mampu memberikan efek hambatan fungsi penetrasi dan penurunan angka fertilisasi.

Setelah dilakukan eksplorasi dosis, didapatkan tiga rentang dosis dibawah dosis terkecil dari penelitian Setiawan (2006) yaitu 100 mg/kg BB, dosis tersebut antara lain 40 mg/kg BB, 60 mg/kg BB, 80 mg/kg BB. Dosis dalam penelitian ini diharapkan mampu mencegah fertilisasi dan menurunkan angka fertilisasi. Sehingga dapat digunakan sebagai dosis efisien untuk pemberian fraksi air *Citrus nobilis* Lour sebagai bahan alternatif kontrasepsi pada pejantan.

Hasil penelitian pemberian fraksi air jeruk keprok selama 35 hari terhadap mencit jantan menunjukkan bahwa kelompok P0 tidak terdapat perubahan gambaran histopatologi yang cukup berarti karena tidak diberikan perlakuan apapun hanya aquades. Pada kelompok P1 (dosis 40 mg/kg BB), P2 (dosis 60 mg/kg BB), dan P3 (dosis 80 mg/kg BB) menyebabkan perubahan kongesti dan degenerasi, namun perubahan ini bersifat reversible (masih bisa pulih kembali dalam keadaan normal bila penyebabnya dihilangkan).

Hasil pengamatan secara mikroskopik melalui lima lapangan pandang yang berbeda pada tiap preparat histopatologi hati mencii menunjukkan $p < 0,05$ sehingga terdapat perbedaan yang signifikan pada gambaran histopatologi sel hati dalam bentuk kongesti pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Demikian pula perubahan mikroskopik dalam bentuk degenerasi antara kelompok kontrol dengan perlakuan yang diberikan secara peroral terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hati merupakan organ tubuh yang paling peka terhadap pengaruh bahan toksik. Hal tersebut disebabkan karena hati mempunyai fungsi detoksifikasi. Zat toksik maupun bahan obat setelah diabsorbi dari usus halus akan masuk ke peredaran darah kemudian didetoksifikasi di dalam hati menjadi bentuk non toksik dan lebih polar agar dapat diekskresikan. Adanya zat toksik dalam jumlah besar dan berlangsung lama dapat menyebabkan kerusakan pada sel hati (Koeman, 1987). Keadaan ini karena saponin mempunyai kemampuan menghemolisis eritrosit. Terjadinya hemolisis eritrosit oleh zat toksik mengakibatkan terlepasnya hemoglobin dari sel darah merah yang mengalami hemolisis sehingga menyebabkan hilangnya fungsi hemoglobin sebagai pembawa atau pengangkut oksigen dari paru-paru menuju ke seluruh jaringan tubuh, termasuk jaringan hati. Keadaan ini mengakibatkan berkurangnya oksigen yang dibebaskan ke jaringan hati maupun ke sel hati (Frandsen, 1992; Lu, 1995).

Kongesti pada hati mencit jantan akibat pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok mulai terjadi pada perlakuan P_1 dengan derajat kerusakan ringan dan kerusakan berat terjadi pada perlakuan P_3 .

Adanya lesi hepatic mulai dari kongesti, degenerasi, dan nekrosis disebabkan adanya zat toksik yang terkandung dalam kulit buah jeruk keprok. Kongesti merupakan gangguan sirkulasi yang secara mikroskopis tampak pada kapiler dalam jaringan yang hiperemi melebar dan penuh darah (Price, 1984).

Pada seluruh kelompok perlakuan tampak adanya kongesti disebabkan oleh adanya saponin yang bersifat toksik yang terkandung dalam fraksi air kulit buah jeruk keprok dan sisa metabolisme dalam jumlah besar yang masuk ke hati sehingga dapat mengakibatkan rusaknya endotel dinding pembuluh darah. Zat toksik masuk ke dalam hati, sehingga dapat mengakibatkan timbulnya jejas pada sel endotel dinding pembuluh darah. Sel endotel normal mempunyai fungsi sebagai anti-trombosit, anti-koagulan, dan pro-koagulan sehingga pada keadaan normal trombosit mengalir dalam aliran darah dengan tidak melekat pada endotel. Namun ketika terjadi jejas sel endotel fungsi anti-trombosit tersebut tidak lagi berfungsi sehingga terjadi jejas sel endotel darah keluar ke dalam jaringan interstitial, sehingga trombosit akan menempel pada tempat terjadinya jejas sel endotel. Adanya trombosit yang menempel pada sel endotel pembuluh darah menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah, sehingga terjadi pembendungan aliran darah. Hal ini mungkin terjadi karena hati merespon akan adanya zat toksik sebagai bentuk reaksi radang akut, yang ditandai dengan perubahan penampang pembuluh darah akibat meningkatnya aliran pembuluh

darah, kemudian dilanjutkan dengan perubahan struktur pada pembuluh darah, terakhir timbul agregasi leukosit sebagai respon muncul zat asing dalam aliran darah (Ressang, 1984; Robbins and Kumar, 1995).

Penghambatan aliran darah karena kongesti menyebabkan zat-zat makanan dan oksigen yang masuk ke jaringan berkurang sehingga mengakibatkan perubahan seluler. Perubahan tersebut mulai dari degenerasi sampai nekrosis.

Degenerasi pada hati mencit jantan akibat pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok mulai terjadi pada perlakuan P₁ dengan derajat kerusakan ringan dan kerusakan berat terjadi pada perlakuan P₃.

Degenerasi sel merupakan kerusakan yang terjadi pada sitoplasma tetapi tidak sampai merusak inti sel sehingga kerusakan tersebut dapat pulih kembali menjadi normal. Degenerasi sel yang berlangsung lama dan terus-menerus, akan menyebabkan sel tidak dapat melangsungkan metabolisme sehingga terjadi kematian sel atau nekrosis sel (Price dan Wilson, 1984).

Degenerasi sel ditimbulkan oleh adanya akumulasi dari bahan toksik dan zat metabolik yang lain. Zat metabolik dan bahan toksik dapat menyebabkan gangguan pada mitokondria yang menghasilkan energy *Adenosin Triphosphat* (ATP). ATP dibutuhkan agar pompa natrium (Na⁺) berjalan lancar. Bila ATP tidak dihasilkan maka Na⁺ tidak terpompa keluar dari sel, Na⁺ bersifat menarik air sehingga jika air terakumulasi kedalam sel akibatnya sel membengkak dan sitoplasma tampak keruh (Rippey, 1994).

Sejalan dengan hasil penelitian ini, Premitha (2010) melaporkan bahwa dosis 40 mg/ kg BB, 60 mg/ kg BB dan 80 mg/ kg BB selama 35 hari pada organ

ginjal juga menunjukkan perubahan gambaran histopatologi yang sama yaitu kongesti dan degenerasi tubuler yang bersifat reversible (masih bisa pulih kembali dalam keadaan normal bila penyebabnya dihilangkan).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok peroral dengan dosis 40 mg/kg BB, 60 mg/kg BB, dan 80 mg/kg BB dapat mengakibatkan perubahan gambaran histopatologi hati mencit jantan berupa kongesti dan degenerasi.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat diajukan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat perubahan gambaran histopatologi pada organ lain.
2. Fraksi air kulit buah jeruk keprok dapat digunakan sebagai bahan antifertilitas pada pejantan namun perlu mempertimbangkan dosis aplikasinya dan jangka waktu penggunaan.

RINGKASAN

RINGKASAN

Penggunaan tanaman sebagai bahan untuk obat alternative saat ini sudah berkembang pesat di Indonesia. Salah satu tanaman obat berkhasiat adalah tanaman jeruk keprok. Hesperidin yang terkandung di dalam kulit buah jeruk keprok adalah bahan aktif yang dimanfaatkan sebagai salah satu alternative bahan antifertilitas pada pria karena diketahui mampu menghambat proses fertilisasi dan dapat menurunkan aktivitas enzim hyaluronidase spermatozoa mencit.

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit jantan yang berumur 6 bulan dengan berat badan rata-rata 30 gram. Mencit tersebut dibagi secara acak menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dimana setiap kelompok terdiri dari enam utangan selama 35 hari. Pada hari ke-36, mencit jantan tersebut dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk mengambil organ hati guna dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan HE, selanjutnya dilakukan pemeriksaan dengan mikroskop perbesaran 400 kali dan dilakukan skoring melalui lima lapangan pandang yang berbeda.

Data yang diperoleh berdasarkan derajat kerusakan diolah dengan penilaian peringkat (rank) kemudian dianalisis dengan Uji Kruskal-Wallis, diperoleh hasil adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney.

Hasil penelitian yang diperoleh dari analisis dengan Uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa perubahan gambaran histopatologi hati mencit jantan berupa kongesti dan degenerasi pada kelompok perlakuan P1 mengalami perubahan

paling ringan, dilanjutkan dengan P2, dan P3 yang paling berat. Antara kelompok P1, P2, dan P3 terdapat perbedaan yang nyata

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian fraksi air kulit buah jeruk keprok sebagai bahan antifertilitas selama 35 hari terjadi perubahan pada gambaran mikroskopis yaitu kongesti dan degenerasi yang masih dalam tahap ringan dan bersifat reversible (masih bisa pulih kembali ke keadaan normal jika penyebabnya dihilangkan).

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Andaya, S. N. T., 1993. Budidaya Jeruk. Bogor: Pusat Perpustakaan Pertanian dan Komunikasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Hal. 3.
- Ariens, E. J., E. Mutschler., and A. M. Simonis. 1986. Pengantar Toksikologi Umum. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Bevelander, G. dan J. A. Ramaley. 1998. Dasar-Dasar Histologi. Edisi ke-8. Terjemahan : Wisnu Gunarso. Penerbit Erlangga. Jakarta. 61-88.
- Craigmyle, M. B. L. 1994. Atlas Berwarna Histologi. Edisi ke-2. Cetakan ke-4. Terjemahan : Jan Tambajong. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 104.
- Darmawan, S. dan S. Himawan. 1998. Kumpulan Kuliah Patologi. Fakultas Kedokteran Bagian Patologi Anatomi Universitas Indonesia. Jakarta. 229-254.
- Dass, M.C. and Manitto, S.B. 1983. Review Tiriterpenoid Journal of Phytochemistry. Vol. 22, No. 5. 1071-1095
- Deelman, H. D. dan Brown E. M. 1992. Histologi Veteriner. Edisi ke-3. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 392-401.
- Donatus, I. A. dan Nurlaila. 1986. Obat Tradisional dan Fitoterapi. Uji Toksikologi. Fakultas Farmasi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Eroschenko, V.P. 2000. Atlas Histologi Di Fiore Dengan Korelasi Fungsional. Edisi 9. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Fawcet, W. D. 2002. Buku Ajar Histologi. Edisi 12. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Frandsen, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Ed. 4. Terjemahan : B. Serigandono dan Koen Perasena. Penerbit Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 569
- Ganong, W. F. 2001. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi Ke-20. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 480-485.
- Guyton, A. C. and J.E. Hall. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Terjemahan : Irawati Setiawan , LMA Ken Ariata Tengadin dan Alex Santoso. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1028, 1030, 1105, 110

- Guyton, A.C., J.H. Hall. 2000. Textbook of medical physiology. 10th ed . W.B. Saunders Company. Pennsylvania.
- Gyorgy and Szent, A, 2000. Hesperidin From citrus spp. [http://www. Symmcorp.com/info/hesperidin/htm](http://www.Symmcorp.com/info/hesperidin/htm)
- Hadi, S. 2002. Gastroenterologi. Penerbit P.T. ALUMNI. 402-804.
- Hafez, E. S. E. 1993. Reproduction in Farm Animals 6th. Ed. Lea and Febiger. PHiladelphHia. 3-8, 165-186.
- Hafez, E.S.E. 2000. Preservation and Cryopreservation of Gamet Embryo. In. E.S.E Hafez (ed). Reproduction in Farm Animal. 7th Edition. Lea and Febringer. PHiladelphHia.
- Harborne, J. B. 1999. Metode Fetokimia Pnuntun Secara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi 2. Penerbait ITB. Bandung. 147-155
- Hendrawan, V., W. Oktavia., K. Bayu, A. Anas, dan E. Agustina. 2008. Deteksi Mutasi Gen Terhadap Penurunan Aktivitas Penetrasi Spermatozoa Akibat Paparan Fraksi Air Citrus nobilis Lour. [PKMB]. Universitas Airlangga Surabaya. Heyne K. 1991. Tumbuhan Berguna Indonesia. Edisi 1. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. 595-601
- Hidayat, Nur. 2008. Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeryginosa*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) Jantan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga..
- Ismudiono., H. Anwar., P. Srianto., S. P. Madyawati., A. Samik dan E. Safitri. 2007. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Surabaya. Hal 79-82
- Junqueira, L.C. and R.O., Kelley. 1998. Histologi Dasar. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 370-378.
- Kam, O.N. 1999. Zat-Zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. Cermin Dunia Kedokteran No 58.
- Koeman, J. H., 1987. Pengantar Umum Toksikologi. UGM Press. Yogyakarta
- Koeman, J. H. 1998. Pengantar Ilmu Toksikologi. Edisi Ke-3. Gajah Mada University Press. Jogjakarta. 17-37.
- Kusrinigrum. 2008. Buku Ajar Perancangan Percobaan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penerbit Dani Abadi. Surabaya.

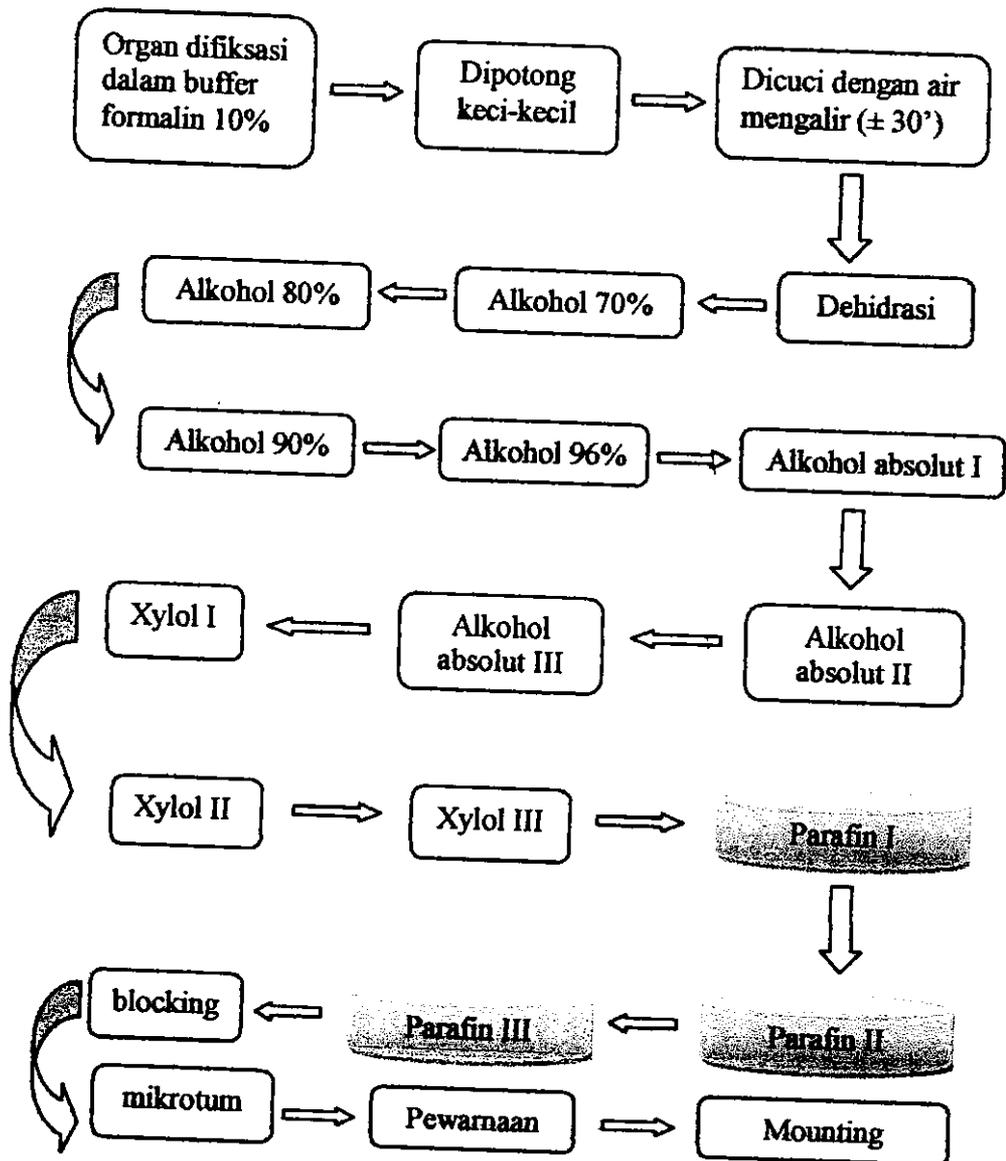
- Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Surabaya
- Leeson, C.R., T. S. Leeson and A. A Paparo. 1995. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 5. Terjemahan : S. Koesparto Siswojo, Jan Tambajong, Sugito
- Lorraine, M. W. and L. B. Lester. 1995. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 4. Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Risiko*. Edisi 2. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Martono, E, Y, 2000. *Uji Aktivitas Enzim Hyaluronidase Spermatozoa Mencit Setelah Pemberian Hesperidin Peroral*. [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Marwanto. 2000. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* (Lour) Burk) Pada Umur Yang Berbeda Terhadap Berat Dan Gambaran Histologi Testis Mencit Jantan*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Morris, R. 2004. *Citrus spp*. <http://www.pfaf.org/database/plants.php?citrus+spp>. 4 Desember 2005.
- Morse, H. C., 1981. *The Laboratory Mouse of Historical Perspective*. In: *The Mouse in Biomedical Research*. Vol. 1. HenryL. Foster, dkk. (Eds), Boston: Academic Press. Inc., p.1
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan. Jurusan Reproduksi. Institut Pertanian Bogor. Mutiara Sumber Widya. Jakarta. Hal 202-223
- Pinoy Gamot. 2009. *Pinoy Health*. //http.www.globalpinoy.com. [8 April 2009]
- Poernomo, B. S., Widjiati, E. M. Luqman, M Mafruchati dan Endang. 2001. *Diktat Embriologi*. Laboratorium Ilmu Mudigah. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 50-61
- Prajogo, B.E.W. 2002. *Pengaruh Fraksi Polifenol Gendarussa vulgaris Nees pada Penurunan Aktivitas Hyaluronidase Spermatozoa Mencit melalui Uji Fertilisasi In vitro*. [Disertasi]. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Prajogo, B.E.W., Widjiati, dan Mulyadi, T., 2002. *Pengaruh Fraksi Polifenol Gendarussa vulgaris Nees pada Penurunan aktivitas Hyaluronidase Spermatozoa Mencit melalui Uji Fertilisasi In vitro*. Dalam: *Laporan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

- Prajogo, B.E.W., Widjiati, dan N. Fauzia, 2003. Pemakaian Metode Fertilisasi *in vitro* pada Hewan Coba untuk Pencarian Bahan Kontrasepsi Pria. Kongres Patri. Universitas Airlangga. Surabaya
- Premitha. 2010. Pengaruh Pemberian Fraksi Air Kulit Buah Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya
- Price, S.A. and Wilson, L.M. 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit (Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes). Edisi 6, volume 1. Alih bahasa Hartanto H., Wulansari P., Mahanani D.A. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 182-219.
- Ressang, DVM, MD.1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi 2. Team Leader IFAD Project: Bali Cattle Disease Investigation Unit. Bali. 45-46
- Rippey, J.J. 1994. General Pathologi. Witwatersrand University Press. Perth Western. Australia
- Rittschell, W. A. 1974. Laboratory Manual of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. Drug Intelligence Publications Inc.
- Robbins Stanley L. and Kumar, Vinay. 1995. Buku Ajar Patologi I (Basic Pathology Part II). Edisi 4. Editor: Dr. Jonatan Oswari. Penerbit Buku kedokteran ECG. Jakarta.
- Robertson, H., 2004. *Citrus* (Orange, Lemon, Lime, Grapefruit, Naartjie genus). <http://www.museums.org.7a/bio/plants/rutaceae/citrus.htm>. [1 September 2009]
- Robinson. 1995. Buku Ajar Patologi I. Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Rush, J. 2008. Journal of Veterinary Medicine, Canadian Medical Association. Ottawa.
- Sadler, T. W. 1997. Embriologi Kedokteran Langman 7th Ed. Chapel Hill, North Carolina 11-19
- Sancheti .G., and Goyal .P. K. 2002. Evaluation of Possible Radioprotective Action of Rosmarinus officinalis L.in Swiss Albino. Mice.//<http://www.rooj.com/Radioprotection.htm>. [8 April 2009]
- Setiawan D.A. 2006. Efek Fraksi Air Kulit Buah Citrus nobilis Lour terhadap Fungsi Penetrasi Spermatozoa Mencit dengan Metode Fertilisasi *in vitro* [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya

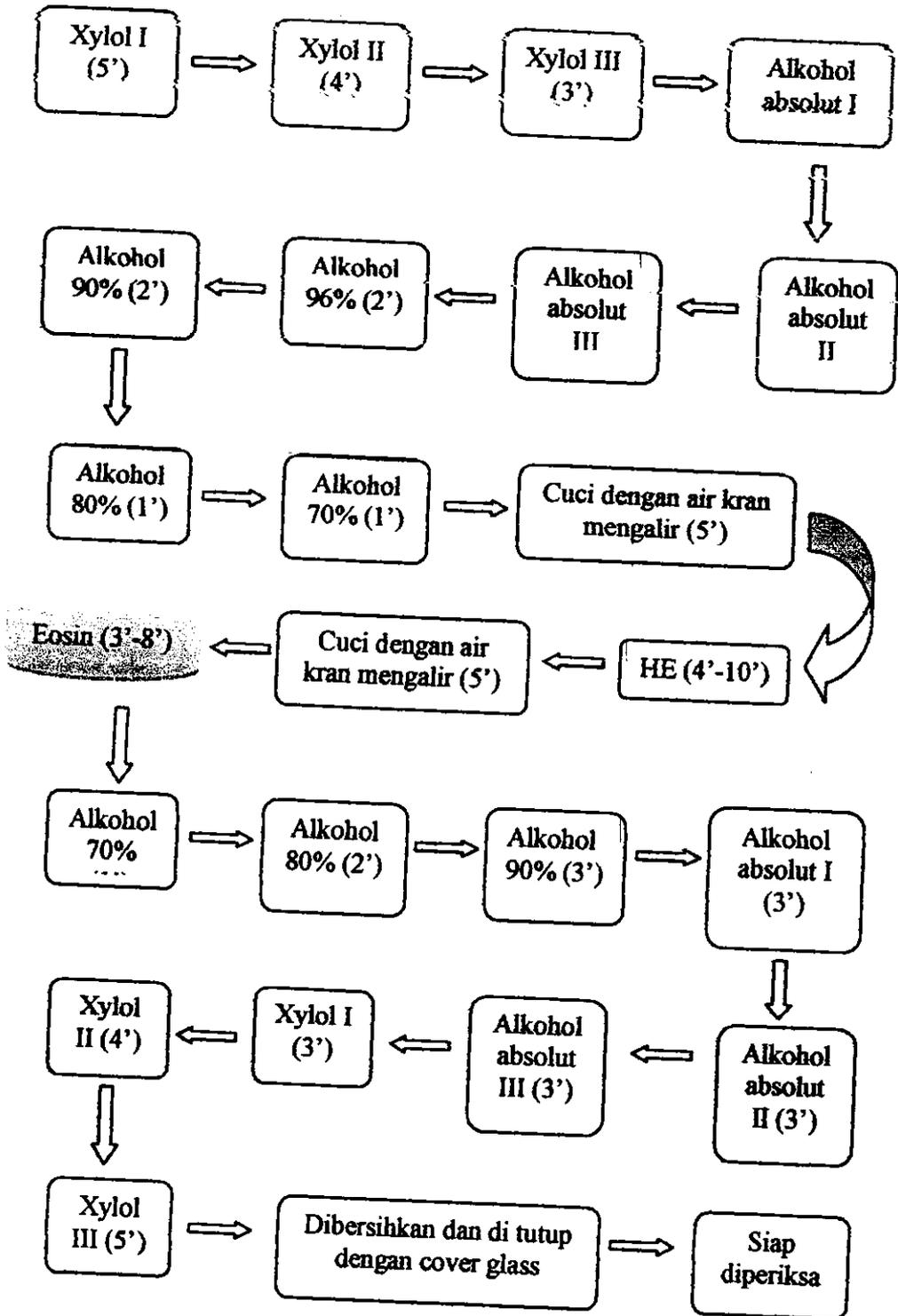
- Sherlock, S. 1995. Penyakit Hati dan Sistem Saluran Empedu. Cetakan ke-2. Terjemahan : Petrus Adrianto. Penerbit Widya Medika. Jakarta. 115-123.
- Smith, J. B dan S. Mangkoewidjoyo. 1998. Pemeliharaan, Pembiakan, Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Edisi 1. Universitas Indonesia. Jakarta
- Stinson dan Calhoun. 1992. Buku Teks Histologi Veteriner. Edisi 3. Terjemahan R. Hartono. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 392-394, 399
- Susanti, E. 1989. Pengaruh Dekokta Buah Api-api (*Avicennia officialis* L.) Terhadap Jumlah Anak Pada Mencit (*Mus musculus*). [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
- Thomson, R. G. 2001. Special Veterinary Pathology. Ed.3. W.B. Saunders Company. Philadelphia USA.
- Vanderolip, S. L. 2001. Mice. Barron's. China
- Voight, Rudolf. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi 5. Cetakan Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Wilson, L. M. and Lula B. Lester. 1995. Patofisiologi, Konsep Klinis, Proses-proses Penyakit. Edisi 4. Cetakan Pertama. Terjemahan : Peter Anugerah. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Winarno .M W. dan D. Sundari. 1997. Informasi tanaman obat untuk kontrasepsi tradisional. Cermin Dunia Kedokteran. No.120. hal 25-28
- Yatim Wildan. 1994. Reproduksi dan Embriologi untuk Mahasiswa Biologi dan Kedokteran. Penerbit Tarsito. Bandung. Hal 31-43

LAMPIRAN

**Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Sediaan Preparat Histopatologi Hati
Mencit (*Mus musculus*) Jantan**



Lampiran 2. Pewarnaan Preparat Histopatologi Hati dengan Menggunakan Pewarnaan HE



**Lampiran 3. Perhitungan Dosis dan Pembuatan Solusio Fraksi Air Kulit
Buah Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.)**

Dari penelitian sebelumnya pemberian fraksi air *Citrus nobilis* Lour dosis terkecil yaitu 100 mg/kg BB mencit dapat memberikan efek hambatan fungsi penetrasi spermatozoa yang mutlak. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi dosis dibawah dosis tersebut untuk mendapatkan dosis optimum yaitu antara 40 mg/kg – 80 mg/kg dan akan dibuat tiga variasi dosis. Penentuan dosis menggunakan rumus penentuan interval dosis yaitu $F = \frac{n}{I}$

Keterangan :

F = Faktor pengali

n = (jumlah dosis dalam deretan) -1

I = $\frac{\text{dosis terbesar}}{\text{dosis terkecil}}$

Maka perhitungan dosisnya sebagai berikut :

$$\begin{aligned} F &= \sqrt[2]{80/40} = \sqrt[2]{2} = \frac{1}{2} \log 2 \\ &= \frac{1}{2} \cdot 0,3 \\ &= 0,15 \rightarrow \text{anti log} = 1,41 \end{aligned}$$

Sehingga dosis yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

Dosis 1 : 40 mg/kg BB

Dosis 2 : 40 mg/kg $\times 1,41 = 56,50 = 60$ mg/kg BB

Dosis 3 : 56,50 mg/kg $\times 1,41 = 79,66 = 80$ mg/kg BB

Pemberian perlakuan pada mencit jantan menggunakan volume sebesar 1 ml agar tidak melebihi kapasitas lambung mencit jantan. Maka jumlah volume larutan

→

fraksi air jeruk keprok (*Citrus nobilis* Lour) 35 hari yang disiapkan untuk 6 ekor adalah :

- **P1**

Fraksi kering ditimbang :

- ✓ $40 \text{ mg/kg BB} = 1,2 \text{ mg/30 g BB mencit}$
- ✓ $1,2 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 35 \text{ hari} = 252 \text{ mg} = 0,252 \text{ g}$

- **P2**

Fraksi kering ditimbang :

- ✓ $60 \text{ mg/kg BB} = 1,8 \text{ mg/30 g BB mencit}$
- ✓ $1,8 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 35 \text{ hari} = 378 \text{ mg} = 0,378 \text{ g}$

- **P3**

Fraksi kering ditimbang :

- ✓ $80 \text{ mg/kg BB} = 2,4 \text{ mg/30 g BB mencit}$
- ✓ $2,4 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 35 \text{ hari} = 504 \text{ mg} = 0,504 \text{ g}$

Fraksi kering ditimbang sesuai kebutuhan di atas, lalu masukkan ke dalam mortir dan digerus dengan stamper sampai halus, selanjutnya masukkan aquades sampai 210 ml, dan aduk sampai homogen dengan spatula. Setelah homogen, pindahkan ke dalam botol dan pemberian perlakuan mencit dengan sonde lambung.

Lampiran 4. Volume Maksimum Larutan Obat yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan.

	IV (ml)	IM (ml)	IP (ml)	SC (ml)	PO (ml)
Mencit 20 - 30 g	0,5	0,05	1,0	0,5 - 1,0	1,0
Tikus 100 g	1,0	0,1	2 - 5,0	2,5 - 5,0	5,0
Hamster 250 g	-	0,1	1 - 2,0	2,5	2,5
Marmot 250 g	-	0,25	2 - 5,0	5,0	10
Merpati 300 g	2,0	0,50	2,0	2,0	10
Kelinci 2,5 kg	5 - 10	0,5	10 - 20	5 - 10	20
Kucing 3 kg	5 - 10	1,0	10 - 20	5 - 10	50
Anjing 5 kg	10 - 20	5,0	20 - 50	10,0	100,0

(Donatus, 1986)

Lampiran 5. Data Statistik Gambaran Histopatologi Hati Berupa Kongesti yang Dianalisis Menggunakan Uji Statistik Non Parametrik Kruskal-Wallis dan Mann Whitney dengan Menggunakan Program SPSS (Statistical Programs for Social Scientific)

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KONGESTI * PERLAKUAN	18	100.0%	0	.0%	18	100.0%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

PERLAKUAN	P1	1	2	3	4	5	6	Total	N	Mean	Std. Deviation	Median	KONGESTI
													2
													3
													2
													1
													1
													1
													6
													1.67
													.816
													1.50
	P2	1	2	3	4	5	6	Total	N	Mean	Std. Deviation	Median	2
													2
													3
													2
													4
													1
													1
													6
													2.17
													1.169
													2.00
	P3	1	2	3	4	5	6	Total	N	Mean	Std. Deviation	Median	5
													3
													4
													4
													2
													5
													6
													3.63
													1.169

Total	N	Median	4.00
	Mean		18
	Std. Deviation		2.56
	Median		1.381
			2.00

a Limited to first 100 cases.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

		N	Mean Rank
KONGESTI	P1	6	6.17
	P2	6	8.17
	P3	6	14.17
	Total	18	

Test Statistics(a,b)

	KONGESTI
Chi-Square	7.687
Df	2
Asymp. Sig.	.021

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Mann-Whitney Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
KONGESTI	P1	6	5.75	34.50
	P2	6	7.25	43.50
	Total	12		

Test Statistics(b)

	KONGESTI
Mann-Whitney U	13.500
Wilcoxon W	34.500
Z	-.763
Asymp. Sig. (2-tailed)	.445
Exact Sig. [Z*(1-tailed Sig.)]	.485(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p > 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
KONGESTI	P1	6	3.92	23.50
	P3	6	9.08	54.50
	Total	12		

Test Statistics(b)

	KONGESTI
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-2.531
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
KONGESTI	P2	6	4.42	26.50
	P3	6	8.58	51.50
	Total	12		

Test Statistics(b)

	KONGESTI
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	26.500
Z	-2.041
Asymp. Sig. (2-tailed)	.041
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.041(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Lampiran 6. Data Statistik Gambaran Histopatologi Hati Berupa Kongesti yang Dianalisis Menggunakan Uji Statistik Non Parametrik Kruskal-Wallis dan Mann Whitney dengan Menggunakan Program SPSS (*Statistical Programs for Social Scientific*)

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
DEGENERASI * PERLAKUAN	18	100.0%	0	.0%	18	100.0%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

PERLAKUAN	DEGENERASI
P1	1
	2
	4
	2
	4
	4
	4
	2
	6
	3.00
	1.095
	3.00
P2	1
	4
	8
	10
	6
	2
	10
	6
	6.67
	3.266
	7.00
P3	1
	10
	10
	10
	10
	10
	10
	10
	6
	10.00
	.000

Total	N	Median	10.00
	Mean		18
	Std. Deviation		6.56
	Median		3.485
			7.00

a Limited to first 100 cases.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

		N	Mean Rank
DEGENERASI	P1	6	4.50
	P2	6	9.50
	P3	6	14.50
	Total	18	

Test Statistics(a,b)

	DEGENERASI
Chi-Square	11.792
Df	2
Asymp. Sig.	.003

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Mann-Whitney Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DEGENERASI	P1	6	4.50	27.00
	P2	6	8.50	51.00
	Total	12		

Test Statistics(b)

	DEGENERASI
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-1.996
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p > 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DEGENERASI	P1	6	3.50	21.00
	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics(b)

	DEGENERASI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.127
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DEGENERASI	P2	6	4.50	27.00
	P3	6	8.50	51.00
	Total	12		

Test Statistics(b)

	DEGENERASI
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-2.288
Asymp. Sig. (2-tailed)	.022
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: PERLAKUAN

$p > 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

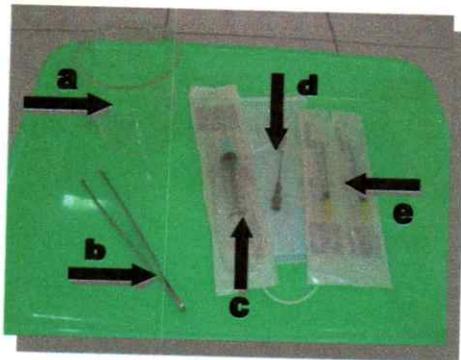
Lampiran 7. Gambar Penelitian



Fraksi Air Kulit Buah Jeruk Keprok

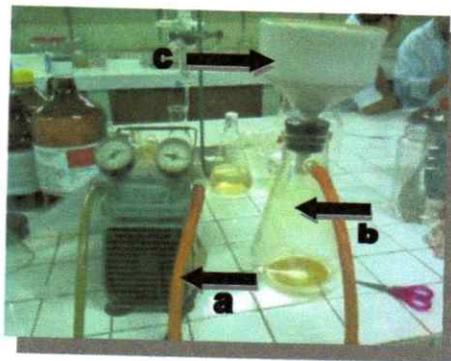


Serbuk Kering + Aquadest



Keterangan:

- a. Bakcer Glass
- b. Pinset
- c. Disposable Siringe 10 cc
- d. Sonde Lambung Mencit
- e. Disposable Siringe 1 cc



Keterangan:

- a. Pompa
- b. Labu Saring
- c. Corong Buchner



Perlakuan Peroral



Pembedahan