

SKRIPSI

**PENGARUH BORAKS ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) TERHADAP
JUMLAH SEL SPERMATOGONIUM DAN SEL SERTOLI
PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI TESTIS
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**



Oleh :

IZZATUL ULFANA

NIM 061011007

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2014**

**PENGARUH BORAKS ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) TERHADAP JUMLAH SEL
SPERMATOGONIUM DAN SEL SERTOLI PADA GAMBARAN
HISTOPATOLOGI TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

IZZATUL ULFANA

NIM. 061011007

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Roesno Darsono, drh., M.Vet)

NIP. 19530602 198902 1 001

Pembimbing Utama



(Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes)

NIP. 19610611 198803 2 001

Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam makalah skripsi yang berjudul :

**Pengaruh Boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) terhadap Jumlah Sel
Spermatogonium dan Sel Sertoli pada Gambaran Histopatologi Testis
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

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, 5 Februari 2014



Izzatul Ulfana
NIM. 061011007

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian
Tanggal : 5 Februari 2014

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua	: Chairul Anwar, drh.,M.S.
Sekretaris	: Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si.
Anggota	: Arimbi, drh., M.Kes.
Pembimbing I	: Roesno Darsono, drh., M.Vet.
Pembimbing II	: Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes.

Telah diuji pada
Tanggal : 11 Februari 2014

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Chairul Anwar, drh.,M.S.
Anggota : Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si.
Arimbi, drh., M.Kes.
Roesno Darsono, drh., M.Vet.
Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes.

Surabaya, 11 Februari 2014
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. ~~Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh.~~
NIP. 19531216 197806 2 001

**THE EFFECT OF BORAX TO NUMBER OF SPERMATOGONIUM CELLS
AND SERTOLI CELLS ON HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN
TESTIS OF RATS (*Rattus norvegicus*)**

Izzatul Ulfana

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the histopathological changes in testis of wistar rats after giving borax using different subchronic toxicity doses. The research has been done on July, 9th 2013- September, 29th 2013 at Department of Pathology Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga. Twenty male rats (*Rattus norvegicus* strain *Wistar*) 45 days old with body weight 200 g were used. These animals were divided into four groups (P0, P1, P2, and P3). P0 were treated with sterile aquadest 0,5 ml/rats/day, P1 were treated with borax 19 mg/rats/day, P2 were treated with borax 26 mg/rats/day, and P3 were treated with borax 37 mg/rats/day. This research has been conducted for 14 days to determine the toxic effects of borax on the testis. The data were compared using *ANOVA* test and *Duncan* test. Statistical comparisons were performed using SPSS versi 20.0 for windows. The result showed that borax significantly caused decrease number of spermatogonium cells and sertoli cells on testical histopathology ($p < 0,05$).

Key words : borax, disodium tetraborate decahydrate, testical histopathology.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, karunia, serta anugerah yang begitu Maha Agung sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Pengaruh Boraks Terhadap Jumlah Sel Spermatogonium dan Jumlah Sel Sertoli pada Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini, antara lain :

Ibu Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh. atas kasih sayangnnya kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Bapak Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes., selaku Wakil Dekan I, Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes., selaku Wakil Dekan II, Dr. Suwarno, drh., M.Si., selaku Wakil Dekan III, serta Ibu Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si., selaku Kepala Akademik atas bimbingannya kepada penulis selama menjalani pengabdian sebagai mahasiswa di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Bapak Roesno Darsono, drh., M.Vet selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes., selaku pembimbing ke-dua atas segala saran, kritik serta kesabaran dalam membimbing penulis dari persiapan sampai akhir penelitian sehingga tujuan skripsi ini terus bermanfaat dapat tercapai dengan baik.

Bapak Chairul Anwar, drh., M.S., selaku ketua komisi penguji, Bapak Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., M.Si, serta Ibu Arimbi, drh., M.Kes., selaku anggota penguji atas segala bimbingan, kritik, serta saran yang sangat bermanfaat dan banyak membantu penulis untuk menyempurnakan skripsi ini.

Bapak Adi Prijo Raharjo, drh., M.Si. selaku dosen wali yang selama ini banyak meluangkan waktu kepada penulis serta memberikan bimbingan dan dukungan untuk terus dapat berprestasi dan bermanfaat baik dalam prestasi akademik, non akademik maupun berorganisasi.

Seluruh bapak dan ibu dosen pengajar atas wawasan keilmuan serta pengalaman belajar selama penulis mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Bapak dan Ibu staf kependidikan, Bagian Kemahasiswaan, Bagian Akademik, Bagian Keuangan, Bagian Tata Usaha dan Kerumahtanggaan serta Bagian Sistem Informasi yang telah banyak membantu selama penulis belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Ayahanda, Abdul Wahab dan Ibunda, Sunarsih yang telah memberikan dukungan, bimbingan, pengorbanan, serta kasih sayang bagi penulis yang tak terhingga dan senantiasa memberikan motivasi bagi penulis untuk terus bisa bermanfaat bagi sesama. Tak lupa juga kepada adinda Mohamad Iqbal Maulana dan Mohamad Syifa'ul Umam, serta saudara dan sanak keluarga yang juga banyak memberikan doa dan dukungan bagi penulis.

Teman-teman seperjuangan, Leila Nur Azizah, Nurul Hidayati, Venti Safitri, Shafia Khairani, Nuril Lisa Ramania, Difa Nur Ariyati dan Dhonna Mardiana yang senantiasa harmonis dalam kebhinnekaan disaat senang maupun susah selama menimba ilmu. Teman-teman angkatan 2008 dan 2009 yang telah banyak memberikan dukungan dan bimbingan, khususnya angkatan 2010, tak lupa teman-teman angkatan 2011, 2012, 2013, serta seluruh civitas akademika yang telah banyak memberikan dukungan kepada penulis. Semua pihak yang tidak disebutkan tetapi sangat membantu dalam proses pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis juga menyadari bahwa masih terdapat kesalahan dan kekurangan pada skripsi ini, untuk itu mohon kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak yang membutuhkan demi kemajuan dan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Kedokteran Hewan.

Surabaya, 5 Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Landasan Teori	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Hipotesis Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan tentang Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	7
2.2 Tinjauan tentang Testis	8
2.2.1 Anatomi Testis	8
2.2.2 Histologi Testis	9
2.2.3 Peran Testis	12
2.3 Tinjauan tentang Boraks	14
2.3.1 Sifat Fisik dan Kimia Boraks	14
2.3.2 Sumber Boraks	15
2.3.3 Pemakaian dan Fungsi Boraks	16
2.3.4 Pengaruh Paparan Boraks	17
2.3.5 Mekanisme Pengaruh Boraks pada Testis	18
BAB 3 MATERI DAN METODE	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2 Bahan dan Materi Penelitian	22
3.2.1 Hewan Percobaan	22
3.2.2 Alat Penelitian	23
3.2.3 Bahan Penelitian	23
3.3 Sampel Penelitian	23
3.4 Metode Penelitian	24
3.4.1 Persiapan Hewan Percobaan	24

3.4.2 Perlakuan	24
3.5 Variabel Penelitian	25
3.5.1 Variabel Bebas	25
3.5.2 Variabel Tergantung.....	25
3.5.3 Variabel Kendali	25
3.6 Definisi Operasional Variabel.....	25
3.7 Pengumpulan dan Teknik Pengambilan Data	26
3.8 Rancangan Penelitian	27
3.9 Bagan Alir Penelitian	28
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	29
4.1 Jumlah Sel Spermatogonium	29
4.2 Jumlah Sel Sertoli	31
BAB 5 PEMBAHASAN	35
5.1 Jumlah Sel Spermatogonium	36
5.2 Jumlah Sel Sertoli	39
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
6.1 Kesimpulan	43
6.2 Saran	43
RINGKASAN	44
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Efek Pemberian Boraks terhadap Gambaran Histopatologi Jumlah Sel Spermatogonium pada setiap Perlakuan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	30
4.2	Efek Pemberian Boraks terhadap Gambaran Histopatologi Jumlah Sel Sertoli pada setiap Perlakuan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	7
2.2 Histologi Testis	11
2.3 Rumus Molekul Boraks	14
2.4 Bentuk Kristal Boraks.....	15
3.1 Bagan Alir Penelitian.....	28
4.1 Diagram Batang Rerata Jumlah Hitung Sel Spermatogonium pada setiap Kelompok Perlakuan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	30
4.2 Gambaran Histopatologi Sel Spermatogonium Kontrol (P0) pada Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	30
4.3 Gambaran Histopatologi Sel Spermatogonium P3 pada Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	31
4.4 Diagram Batang Rerata Jumlah Hitung Sel Sertoli pada setiap Kelompok Perlakuan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	33
4.5 Gambaran Histopatologi Inti Sel Sertoli Kontrol (P0) pada Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	33
4.6 Gambaran Histopatologi Inti Sel Sertoli P3 pada Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Manusia dan Berbagai Jenis Hewan	50
2.	Perhitungan Dosis Larutan Boraks	51
3.	Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel Spermatogonium dan Sel Sertoli	52
4.	Pembuatan Sediaan Histopatologi Organ Testis	55
5.	Dokumentasi Kegiatan Penelitian	58

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ATP	= <i>Adenosin triphosphate</i>
ADP	= <i>Adenosin diphosphate</i>
BB	= Berat badan
C	= <i>Celcius</i>
Ca ²⁺	= <i>Calcium</i>
Cl ⁻	= <i>Chlorida</i>
cm	= Centimeter
DNA	= <i>Deoxyribonucleic acid</i>
Fe	= <i>Ferum</i>
g	= Gram
H ⁺	= <i>Hidrogen</i>
H ₂ O	= <i>Dihidrogen monoksida</i> atau Air
HCl	= <i>Hydrochloric acid</i> atau Asam klorida
HE	= <i>Hematoxylin eosin</i>
H ₃ BO ₃	= <i>Orthoboric acid</i> atau asam borat
IgA	= <i>Immunoglobulin A</i>
K ⁺	= <i>Kalium</i> atau potassium
Kg	= Kilogram
Menkes	= Menteri Kesehatan
Mg ²⁺	= <i>Magnesium</i>
mg	= milligram
ml	= milliliter
Na ⁺	= <i>Natrium</i> atau sodium
Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O	= <i>Disodium tetraborate decahydrate</i> atau Boraks
NaCl	= <i>Natrium chloride</i>
NAD ⁺	= <i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
pH	= <i>potential of Hydrogen</i>
POM	= Pengawas Obat dan Makanan
P0	= Perlakuan kontrol
P1	= Perlakuan pertama
P2	= Perlakuan kedua
P3	= Perlakuan ketiga
PDAM	= Perusahaan Daerah Air Minum
RI	= Republik Indonesia
S	= <i>Sulfur</i>
SPSS	= Statistical Product for Solution Service
VLDL	= <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
°	= Derajat
µm	= mikro meter
%	= Persen

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 bahan makanan tambahan atau bahan pengawet adalah zat yang digunakan dan dicampurkan sewaktu pengolahan makanan untuk meningkatkan kualitas makanan tersebut. Ada beberapa jenis bahan pengawet yang diizinkan dan diatur dalam penggunaannya antara lain: asam benzoat, kalium benzoat, asam sorbat, kalium sorbat, natrium benzoat, dan natrium nitrit. Fakta yang terjadi di lapangan menunjukkan telah ditemukan beberapa jenis bahan pengawet makanan berbahaya di pasaran diantaranya natrium tetraborat (boraks), formalin, asam salisilat, kalium klorat, dan potassium bromat (Departemen Kesehatan RI, 1999).

Boraks sering digunakan sebagai bahan tambahan pembuatan makanan termasuk makanan tradisional, misalnya bakso, mi basah, siomay, dan masih banyak lagi ditemukan sebagai bahan pengawet (Novrianto, 1994). Boraks selain bertujuan untuk mengawetkan makanan juga menjadikan makanan lebih kenyal teksturnya dan memperbaiki penampilannya. Dibandingkan dengan bahan pengawet lain, boraks mampu mempertahankan tekstur makanan sehingga dapat lebih lama disimpan dengan tidak merubah sedikitpun tingkat kekenyalan dan penampilan makanan. Boraks yang dicampur ke dalam makanan juga dapat mempertahankan derajat keasaman sehingga tidak cepat tengik (Sugiyatmi, 2006).

Penggunaan boraks sebagai pengawet makanan dalam skala besar tentu dapat menguntungkan dari segi produksi, karena boraks dapat dibeli dengan harga yang relatif murah daripada bahan pengawet lainnya yang tidak berbahaya. Bahan

pengawet tidak berbahaya sekalipun harus diatur dosis penggunaannya, apalagi boraks yang dalam penggunaannya tidak bisa diperkirakan berapa kali dosis yang digunakan sebagai pengawet makanan (Cahyadi, 2006). Boraks termasuk bahan makanan tambahan yang berbahaya dan bersifat racun bagi tubuh, sehingga boraks termasuk bahan makanan yang dilarang (Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/1988). Fakta yang terjadi menunjukkan telah ditemukan beberapa jenis makanan yang mengandung boraks (Departemen Kesehatan RI, 1999). Hal ini terjadi akibat ketidaktahuan produsen maupun konsumen tentang bahaya penggunaan pengawet non makanan sebagai pengawet makanan sehingga sering terjadi kasus penyalahgunaan boraks (Cahyadi, 2006).

Bahaya yang ditimbulkan akibat pengaruh boraks secara langsung maupun residu yang ditinggalkannya dapat berdampak sistemik pada tubuh. Pengaruh boraks yang tampak dari luar dapat berupa pengerasan kulit maupun kematian epidermis kulit. Efek boraks yang lebih berbahaya mengakibatkan kerusakan hati, lambung, usus halus, usus besar, organ reproduksi dan memacu pertumbuhan sel kanker. Dampak boraks sangat kompleks karena dapat menyerang saraf, paru, trakea, limpa, ginjal, dan panca indera. Boraks yang menyerang sel terutama pada mitokondria dan terakumulasi di dalam sitoplasma akan mengganggu fungsi metabolisme sel tersebut (Dourson *et al.*, 2003).

Uji teratologik pada tikus membuktikan bahwa boraks dapat menyebabkan cacat fetus. Boraks juga dapat menyebabkan atresia folikel ovarium dan pada dosis tinggi menyebabkan gagal hamil, karena embrio yang sampai ke uterus belum siap melakukan implantasi, sebagai akibat terhambatnya proses segmentasi

dan perkembangan awal embrio (Munir dkk, 1999). Pada hewan jantan, boraks menyebabkan lesi pada testis ditandai dengan penghambatan spermatogenesis yang diikuti oleh atropi pada dosis tinggi (Chapin *and* Ku, 1994)

Testis merupakan organ yang sangat krusial bagi hewan jantan. Fungsi alamiah esensial seekor hewan jantan adalah menghasilkan sel-sel kelamin jantan atau spermatozoa yang hidup, aktif, dan potensial fertil dan secara sempurna meletakkannya ke dalam sel kelamin betina. Semua proses-proses fisiologik dalam tubuh hewan jantan baik langsung maupun tidak langsung menunjang produksi dan kelangsungan hidup spermatozoa. Akan tetapi pusat kegiatan kedua proses kegiatan ini terletak pada organ reproduksi hewan jantan itu sendiri khususnya testis (Ismudiono, 2010). Berdasarkan pernyataan Chapin *and* Ku (1994) pada jurnal yang berjudul "*Mechanism of the Testicular Toxicity of Boric Acid in Rats*" bahwa testis merupakan salah satu organ yang rentan terhadap adanya asam borat, namun pada penelitian ini belum ada laporan mengenai perubahan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli secara histopatologi dengan menggunakan dosis subkronis. Menurut Wagner *and* Wolff (1977), pada penelitian pengaruh boraks untuk mengetahui efek toksiknya dianjurkan menggunakan uji toksisitas dosis subkronis.

Boraks dapat masuk ke dalam tubuh hewan melalui banyak cara baik melalui cecaran air minum, makanan, maupun pernafasan. Luasnya kemungkinan paparan boraks dalam tubuh, serta belum adanya penelitian tentang pengaruh boraks pada jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli secara histopatologis pada dosis subkronis mengindikasikan pentingnya dilakukan penelitian pengaruh

boraks pada jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli. Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas, maka dilakukan penelitian pengaruh pemberian boraks terhadap jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli pada gambaran Histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang dapat dibuat adalah apakah terjadi penurunan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian boraks?

1.3 Landasan Teori

Boraks mengandung bahan aktif yakni asam borat atau asam ortoborat (H_3BO_3). Asam borat merupakan senyawa hidrat atau garam natrium tetraborat yang digunakan sebagai bahan campuran pestisida (Caroline, 2004). Bahaya makanan yang mengandung asam borat dapat merusak proses biokimia dan bioenergetika di dalam sel (Devirian *and* Volpe, 2003).

Tubuh terdiri dari berbagai macam organ yang secara normal melakukan proses biokimia dan proses bioenergetika. Testis merupakan organ tempat terjadinya proses spermatogenesis yang menghasilkan spermatozoa. Proses spermatogenesis dipengaruhi oleh faktor endogen maupun faktor eksogen. Faktor endogen meliputi hormonal, psikologis, dan genetik. Faktor eksogen berupa bahan kimia dan obat-obatan, suhu, radiasi sinar X, getaran ultrasonik, gizi, trauma dan peradangan. Boraks termasuk bahan toksik bagi testis. Pengaruh boraks akan berdampak sistemik terutama pada sel tubuh yang akan terjadi akumulasi dan mempengaruhi fungsi mitokondria. Fungsi mitokondria secara normal

veteriner bahwa boraks dapat menyebabkan perubahan gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) berupa perubahan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli. Di bidang kesehatan penelitian ini juga dapat dijadikan acuan untuk mensosialisasikan makanan yang mengandung bahan pengawet boraks serta bahaya yang ditimbulkannya agar dapat dicegah dan dihindari sedini mungkin.

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka hipotesis penelitian yang dapat dibuat adalah boraks menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli pada gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

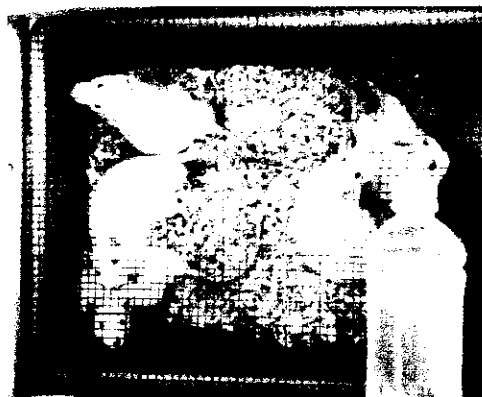
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Linnaeus (1758) adalah :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Sub class	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Super famili	: Muroidea
Famili	: Muridae
Sub family	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Sumber: Dokumen Pribadi, 2013

Testis tikus putih terletak pada daerah pre pubis, merupakan kelenjar tubuler berbentuk bulat lonjong, terdapat sepasang. Testis terbungkus dalam kantong skrotum, dimana dalam skrotum berisi dua lobi testis yang masing-masing lobi berisi satu testis.

Menurut Kusumawati (2004), pada umur dua bulan berat badan tikus putih dapat mencapai 200 – 300 g. Tikus tergolong hewan yang mudah dipegang dan dikendalikan saat perlakuan tentunya dengan proses *handling and restrain* yang benar. Lama hidup tikus putih antara 2,5 - 3 tahun. Umur dewasa tikus putih jantan 39 - 47 hari sedangkan betina 34 - 38 hari, siklus estrus 9 - 20 jam, lama kebuntingan 21 - 22 hari. Berat tikus putih jantan 300 - 800 g dan 250 – 400 g untuk betina. Tikus putih merupakan hewan yang cukup efisien dan ekonomis dan memiliki masa hidup yang lebih lama daripada mencit. Sama halnya seperti mencit, tikus putih juga mempunyai ciri-ciri khas baik secara morfologi maupun fisiologisnya. Tikus putih terkenal agak buas, namun mudah ditangani, takut cahaya, dan aktif pada malam hari (*nocturnal*). Tikus putih kadang-kadang mempunyai sifat kanibalisme. Tikus sangat mudah beradaptasi dengan perubahan yang dibuat manusia, bahkan jumlahnya cepat bertambah karena tingkat perkembangbiakannya yang tinggi. Berdasarkan sifat-sifat tikus itu pula yang menjadi dasar tikus putih sering digunakan sebagai hewan percobaan.

2.2 Tinjauan tentang Testis

2.2.1 Anatomi Testis

Menurut Ismudiono dkk., (2010) testis merupakan alat kelamin utama hewan jantan. Testis dari beberapa spesies hewan agak berbeda dalam hal ukuran,

bentuk, dan lokasinya, walaupun penyusun utamanya sama. Pada kebanyakan mamalia, terletak pada daerah pre pubis, merupakan kelenjar tubuler berbentuk bulat lonjong, terdapat sepasang. Testis terbungkus dalam kantong skrotum, dimana dalam skrotum berisi dua lobi testis yang masing-masing lobi berisi satu testis. Testis dapat menggantung di dalam skrotum secara bebas dengan bantuan korda spermatika yang di dalamnya mengandung duktus deferens, pembuluh darah, syaraf, serta pembuluh limfe. Pada keadaan normal testis berbentuk bulat panjang dengan sumbu memanjang ke arah vertikal. Setelah kulit dan lapisan korium, tunika dartos, tunika vaginalis komunis dibuka testis dibungkus oleh kapsul berwarna putih mengkilat yang disebut tunika albugenia. Tunika albugenia mengandung syaraf dan pembuluh darah yang berkelok-kelok.

2.2.2 Histologi Testis

Testis terdiri dari kelenjar-kelenjar yang berbentuk tubulus, dibungkus selaput tebal yang disebut tunika albugenia. Pada sudut posterior testis terbungkus oleh selaput atau kapsula yang disebut mediastinum testis. Septula testis merupakan selaput tipis yang meluas mengelilingi mediastinum sampai ke tunika albugenia dan membagi testis menjadi 259-270 bagian yang berbentuk piramid dan disebut lobuli testis. Isi dari lobus adalah tubulus seminiferus yang merupakan tabung kecil panjang dan berkelok-kelok memenuhi seluruh kerucut lobulus. Muara tubulus seminiferus terdapat pada ujung medial dari kerucut (Constantinescu, 2007). Ujung setiap lobulus, lumennya menyempit dan berlanjut ke ruas yang pendek yang dikenal dengan tubulus rektus. Tubulus rektus menghubungkan tubulus seminiferus dengan labirin saluran berlapis epitel yang

berkesinambungan, yaitu rete testis. Rete testis terdapat dalam jaringan ikat mediastinum, dihubungkan dengan bagian kepala epididimis oleh 10-20 duktus eferens (Junquera *et al.*, 1997).

Tubulus seminiferus terdiri dari suatu lapisan jaringan ikat fibrosa, lamina basalis dan suatu epitel germinal kompleks atau seminiferus. Tunika fibrosa yang membungkus tubulus seminiferus terdiri dari beberapa lapis fibroblas. Lapisan yang paling dalam melekat pada lamina basalis terdiri atas sel-sel mioid gepeng, yang memperlihatkan ciri otot polos. Epitel tubulus terdiri atas dua jenis sel yaitu sel sertoli dan sel-sel yang merupakan garis keturunan spermatogenik (Janqueira *et al.*, 2005). Sel sertoli berbentuk panjang, berdasar luas, melekat pada membrana basalis. Sel sertoli berfungsi merawat sel spermatogonium yang baru saja terbentuk, menghasilkan hormon inhibin, menghasilkan protein pembawa hormon jantan *Androgen Binding Protein* dan menghasilkan cairan testis. Di antara lobuli pada testis didapatkan tunika vaskulosa yang merupakan jaringan yang bentuknya mirip jaringan ikat. Tunika vasculosa terdiri dari sel-sel berbentuk poligonal disebut sebagai sel intersitial atau sel leydig yang merupakan sistem endokrin testis (Constantinescu, 2007).

Sel-sel spermatogenik tersebar dalam 4 sampai 8 lapisan yang menempati ruang antara lamina basalis dan lumen tubulus. Sel benih yang pertama kali terbentuk dalam tubulus adalah sel spermatogonium yang terletak di lamina basalis dari tubulus seminiferus. Sel-sel ini membelah beberapa kali dan akhirnya berdeferensiasi menjadi spermatozoa. Sel benih jantan terdapat dalam berbagai tahap perkembangan yang merupakan proses berkesinambungan yang disebut

spermatogenesis.

Spermatogenesis dibagi menjadi 3 fase yaitu spermatositogenesis, disana sel spermatogonium membelah, menghasilkan generasi sel baru yang nantinya akan membentuk spermatosit primer. Sel spermatosit primer merupakan sel benih yang terbesar, terletak di daerah tengah epitelium tubulus seminiferus dengan inti pada tingkat karyokinesis. Sel spermatosit primer selanjutnya mengalami proses meiosis, spermatosit mengalami dua kali pembelahan secara berurutan dengan mereduksi sampai setengah jumlah kromosom dan DNA per sel. Meiosis yang pertama sel spermatosit primer menjadi sel spermatosit sekunder. Sel spermatosit sekunder jarang ditemukan pada gambaran histologi tubulus seminiferus karena cepat sekali mengalami meiosis kedua menghasilkan spermatid. Besar spermatid kurang lebih setengah dari spermatosit primer dengan inti bulat dan terletak mendekati lumen. Fase terakhir dari proses spermatogenesis adalah spermiogenesis, dimana spermatid mengalami proses sitodeferensiasi rumit menghasilkan spermatozoa (Janqueira *et al.*, 2005).



Gambar 2.2 Histologi testis

Sumber: Dokumen Pribadi

2.2.3 Peran Testis

Testis sebagai organ kelamin jantan utama mempunyai fungsi reproduktif dengan menghasilkan sel spermatozoa (Constantinescu, 2007). Proses pembentukan sel spermatozoa disebut spermatogenesis. Proses spermatogenesis terdiri dari tiga periode, yaitu periode mitosis, meiosis dan metamorfosa. Periode mitosis terdiri dari multiplikasi sel spermatogonium yang membelah menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer akan mengalami periode meiosis dengan jumlah kromosom setengah dari spermatosit primer (haploid) menjadi spermatosit sekunder yang selanjutnya akan berkembang menjadi spermatid. Proses perkembangan spermatid menjadi spermatozoa disebut dengan periode metamorfosa (Bacha, 2000).

Menurut Lamb dan Foster (1988), proses spermatogenesis dimulai dengan sel benih primitif, yaitu spermatogonium yang letaknya paling dekat dengan lamina basalis. Sel lamina basalis pada keadaan kematangan kelamin mengalami mitosis yang menghasilkan sel induk atau sel spermatogonium tipe A dan spermatogonium tipe B. Spermatogonium tipe A adalah sel induk untuk garis keturunan spermatogenik yang mempunyai inti lonjong dan gelap pada gambaran histologi. Spermatogonium tipe B merupakan sel progenitor yang berdeferensiasi menjadi dua spermatosit primer, pada gambaran histologi spermatogonium tipe B mempunyai inti bulat dengan kromatin memadat di sekitar selaput inti. Tahap selanjutnya yaitu meiosis I. Tahap meiosis terdiri dari beberapa fase, fase pertama yaitu profase yang merupakan fase dimana membran inti dari spermatosit primer hilang, bintik-bintik kromatin berubah menjadi benang-benang kromosom

(Janqueira *et al.*, 2005). Spermatisit primer, kemudian memasuki tahap metafase yang ditandai dengan kromosom terputus-putus menjadi berpasangan yang meletakkan diri di bidang equator di tengah-tengah sel. Tahap terakhir adalah anafase kromosom yang tadinya berpasangan memisahkan diri ke dua arah yang berlawanan bergerak ke arah kutub sel (Bacha, 2000). Tahap meiosis I menghasilkan sel spermatisit sekunder dengan pengurangan kromosom diploid menjadi haploid. Spermatisit sekunder sulit diamati dalam sediaan testis karena merupakan sel berumur pendek yang berada pada fase interfase yang sangat singkat dan cepat memasuki tahap meiosis II. Pembelahan spermatisit sekunder menghasilkan spermatid dengan kromosom haploid (Janqueira *et al.*, 2005).

Spermatid dapat dikenali melalui ukurannya yang kecil, dengan daerah kromatin yang padat dan lokasinya mendekati poros lumen tubulus seminiferus. Spermatid mengalami proses spermiogenesis yang mencakup pembentukan akrosom, pepadatan dan pemanjangan inti, pembentukan flagelum dan kehilangan sebagian besar sitoplasmanya. Hasil akhir dari spermiogenesis adalah spermatozoa yang kemudian berkumpul di bagian tengah lumen tubulus seminiferus (Donalds's, 2003)

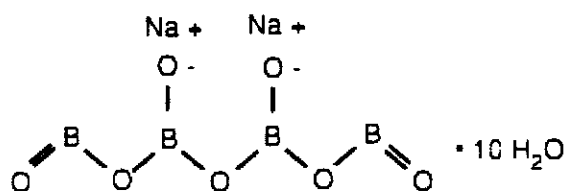
Fungsi testis sebagai endokrin menurut Guyton dan Hall (1997) yaitu menghasilkan hormon yang menunjang terjadinya spermatogenesis. Bagian utama pengaturan fungsi seksual baik pada jantan maupun betina dimulai dengan sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) oleh hipotalamus. GnRH merangsang kelenjar hipofisis anterior untuk mengeskresikan hormon gonadotropin yaitu *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating Hormone* (FSH). LH akan

merangsang sel leydig pada testis untuk menghasilkan hormon testosteron. Sel intersitial leydig adalah sel yang terdapat di antara lobuli, berbentuk poligonal teranyam bersama tenunan pengikat. FSH berfungsi merangsang terjadinya spermatogenesis pada tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus memiliki sel pengasuh spermatozoa yang disebut sel sertoli. sel sertoli berbentuk panjang, berdasar luas dan melekat pada membrana basalis tubulus seminiferus. Sel sertoli memproduksi hormon inhibin dan menghasilkan *Androgen Binding Protein* (ABP) yang berupa protein pengikat hormon jantan, ABP berfungsi dalam transport hormon di dalam darah (Donald's, 2003).

2.3 Tinjauan tentang Boraks

2.3.1 Sifat Fisik dan Kimia Boraks

Boraks merupakan unsur non logam yang dapat ditemukan secara bebas karena distribusinya yang melimpah. Boraks berbentuk seperti kristal putih dan tidak berbau. Boraks mempunyai Rumus Molekul $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ dengan Berat Molekul 381,37 yang terdiri dari Natrium 12,0%, Boron 11,34%, Hidrogen 5,29%, Oksigen 71,32%. Boraks meleleh pada suhu relatif rendah yaitu 120°C . Nama lain boraks yakni *sodium tetraborate decahydrate*, *disodium tetraborate decahydrate*, *borax decahydrate* (Whorton *et al.*, 2003).



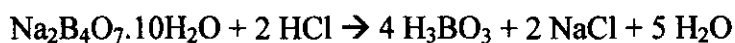
Gambar 2.3 Rumus Molekul Boraks
Sumber : Caroline, 2004

Berat jenis boraks mencapai 1,71 dengan tingkat kelarutan dalam air sebanyak 4,71% pada suhu 20°C dan 65,64% dengan suhu 100°C. Titik lebur 62°C, dan pH pada suhu 20°C adalah 9,2-9,3. Bisa diperkirakan jika boraks dicampur dengan air akan sulit teridentifikasi karena sifat-sifat boraks yang mampu dengan mudah larut dalam air. Boraks juga dapat tahan lama meski disimpan selama bertahun-tahun. Bentuk kristal boraks pun sering dipalsukan sebagai bahan bumbu masak seperti garam. Padahal jika diteliti dengan jeli garam dapur dengan boraks memiliki perbedaan yang jelas baik dari segi rasa maupun kelarutan dalam air (Litovitz *et al.*, 2000).



Gambar 2.4 Bentuk Kristal Boraks
Sumber: Dokumen Pribadi, 2012

Menurut Sugiyatmi (2006), boraks mengandung bahan aktif yakni senyawa asam borat atau asam ortoborat (H_3BO_3). Asam borat adalah asam lemah. Asam borat merupakan senyawa hidrat dari boraks atau garam natrium tetraborat. Jika boraks bereaksi dengan asam klorida (HCl) dalam lambung, asam borat akan semakin cepat tersintesis sesuai gambaran reaksi kimia berikut :



2.3.2 Sumber Boraks

Boraks yang melimpah di alam dapat ditemukan secara luas di sungai, lembah, samudera, dasar laut dan tanah. Boraks yang dijual secara bebas di pasar

modern maupun tradisional meski sudah ada larangan keras dari pemerintah, tetap saja mudah ditemukan dalam skala besar. Bahkan, agen perlindungan lingkungan (*Environmental Protection Agency*) menyebut boraks ditemukan di seluruh lingkungan (Cox and Kamprath, 2004).

Semakin banyak makanan yang telah menggunakan boraks sebagai pengawet, membuat rawan konsumsi boraks karena belum tentu manusia sadar bahwa makanan yang dibelinya benar-benar bebas dari boraks. Memang dalam kadar sedikit nampak tidak ada boraks sekalipun makanan tampak masih bagus kualitasnya. Namun, telah ditemukan dalam tubuh manusia terkandung boraks antara 10-25 mg per hari. Sudah bisa diperkirakan bahwa asal dari kandungan boraks dalam tubuh adalah residu boraks dalam makanan yang telah dikonsumsi dalam tempo yang lama (Basoglu *et al.*, 2010).

Basoglu *et al.*, (2010), menyebutkan pula bahwa boraks mampu mengubah profil lipid dengan bentuk VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) dalam tubuh anjing khususnya trigliserida dalam hati. Proses perubahan profil lipid terjadi selama interval 96 jam sejak pemberian boraks dalam tubuh. Temuan ini semakin membuktikan bahwa makanan yang masuk ke dalam tubuh belum seratus persen bebas dari boraks. Sampai kapanpun jika konsumen tidak jeli dalam memilih bahan pangan bebas boraks, maka dimungkinkan sedikit konsentrasi boraks akan masuk ke dalam tubuh.

2.3.3 Pemakaian dan Fungsi Boraks

Menurut LeBoeuf-Little (2010), boraks pada umumnya dijual hanya kepada pembeli yang diberi ijin untuk melakukan tindakan pembasmian hewan.

Fungsi boraks sendiri adalah sebagai pestisida, herbisida, insektisida, antifungi serta desinfektan kuat untuk membunuh hama pengganggu. Di samping itu, penggunaan boraks juga sering dipakai untuk mengawetkan mayat dalam bidang kedokteran sebagai pengganti formalin.

Dalam bidang industri bahkan boraks dimanfaatkan untuk bahan campuran pewarna pakaian, detergen pencuci, pemutih, kosmetik, produk perawatan kulit dan rambut, krim cukur serta digunakan untuk berbagai produk olahan bahan baku meubel (Cox *and* Kamprath, 2004).

2.3.4 Pengaruh Paparan Boraks

Menurut Chapin *et al.*, (1994), boraks dapat merusak sistem reproduksi pada tikus putih. Paparan boraks pada organ reproduksi jantan tikus dapat mengakibatkan adanya lesi pada testis yang disebabkan oleh hambatan spermatogenesis dan diikuti oleh atrofi testis. Hambatan tersebut berpengaruh pada kualitas spermatozoa karena sebagaimana diketahui bahwa daya sensitifitas spermatozoa terhadap zat toksik sangat tinggi.

Berdasarkan uji teratogen juga membuktikan adanya cacat fetus pada tikus putih. Boraks dapat mengakibatkan atresia folikel ovarium dan berujung pada kegagalan masa hamil karena embrio yang sampai pada uterus belum siap melakukan proses implantasi sebagai efek dari terhambatnya proses segmentasi dan perkembangan awal embrio (Pangestiningih, 1994).

Daya karsinogen pada boraks mampu menginduksi tumbuhnya sel-sel kanker terutama melalui proses inhalasi yang paling berpotensi menimbulkan adanya kanker paru-paru. Jika dikonsumsi, boraks akan menimbulkan efek yang

sangat mengganggu proses metabolisme tubuh. Beberapa gejala yang tampak seperti mual, muntah, diare gastrointestinal, sulit menelan, gangguan absorpsi usus serta akumulasi pada hepar, ginjal maupun organ reproduksi akan termanifestasi untuk jangka waktu yang lama (Litovitz *et al.*, 2000).

2.3.5 Mekanisme Boraks pada Testis

Boraks yang masuk dalam tubuh peroral akan diabsorpsi oleh sistem gastrointestinal dan mengikuti aliran darah. Kurang lebih 90% yang terabsorpsi akan dieskresikan melalui urin hanya 60-75% dalam waktu 24 jam sejak pemberian dan sisanya masih berada pada tubuh selama lebih dari 7 hari. Proses ekskresi yang lambat inilah yang akan menyebabkan akumulasi boraks dalam tubuh (Whorton *and* Trent, 2003).

Menurut Devirian *and* Volpe (2003), bahaya makanan yang mengandung asam borat dapat merusak proses biokimia dan bioenergetika dalam sel yang mengakibatkan kerusakan sel dan melanjut pada kerusakan jaringan dan organ.

Menurut Chapin *and* Ku (1994) boraks yang terakumulasi dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan melalui hambatan pada sintesis DNA sel benih. Spermatogenesis adalah proses proliferasi dan diferensiasi yang terus-menerus dari epitel duktus seminiferus. Proses spermatogenesis merupakan proses pembelahan sel spermatogonium menjadi spermatozoa. Pembelahan pada proses spermatogenesis meliputi mitosis maupun meiosis yang melibatkan kromosom yang berisi *deoxyribo nucleic acid* (DNA) di dalam inti sel. Pada tahap persiapan (interfase) proses spermatogenesis terjadi fase aktif dari sintesa DNA (Janqueira *et al.*, 2005). Boraks mengganggu sintesa DNA pada sel spermatogonium karena

boraks secara spesifik merusak nukleosida *deoxythymidin* yang merupakan prekursor dari pembentukan DNA. Jika DNA yang terbentuk strukturnya mengalami kecacatan maka DNA tidak akan berfungsi normal (Chapin, 1994), akibatnya proses mitosis dan meiosis pada proses spermatogenesis selanjutnya akan terganggu. Gangguan pada proses mitosis dan meiosis akan mengurangi jumlah spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid bahkan spermatozoa yang dihasilkan, dampak yang lebih berat akan terjadi pengecilan tubulus seminiferus (Janqueira *et al.*, 2005).

Mekanisme kerusakan testis menurut Chapin and Ku (1994) selanjutnya yaitu boraks yang terakumulasi dalam tubuh akan menyebabkan hambatan mekanisme pembentukan energi. Energi diperlukan untuk aktifitas berbagai macam sel dalam tubuh termasuk sel penyusun testis. Sel sertoli merupakan penghasil energi terbesar dalam testis. Sel sertoli harus mempunyai piruvat dan laktat sebagai substrat enzim dalam pembentukan ATP.

Pembentukan energi terjadi melalui berbagai cara diantaranya glikolisis. Glikolisis adalah pemecahan glukosa menjadi asam piruvat atau asam laktat. Energi yang dihasilkan pada proses glikolisis berupa *adenosine triphosphate* (ATP). Glikolisis terjadi secara aerob maupun anaerob (Murray *et al.*, 2006). Pada proses glikolisis aerob, piruvat berperan sebagai substrat *enzim piruvat kinase* yang berfungsi memecah *fosfoenolpiruvat* menjadi *enolpiruvat*. Proses pemecahan *fosfoenolpiruvat* terjadi perubahan *adenosine diphosphate* (ADP) menjadi *adenosine triphosphate* (ATP). Jalur glikolisis anaerob diperlukan enzim *laktat dehydrogenase* dimana enzim ini akan mengubah asam piruvat menjadi

asam laktat. Reaksi glikolisis anaerob memerlukan adanya laktat sebagai substrat dari enzim *laktat dehydrogenase*. Proses glikolisis anaerob menghasilkan 2 mol ATP (Murray *et al.*, 2006).

Menurut Chapin *and* Ku (1994) bahan aktif boraks yakni asam borat menghambat proses glikolisis anaerob dengan menjadi inhibitor kompetitif enzim *laktat dehydrogenase*. Enzim laktat dehydrogenase merupakan enzim yang mengubah asam piruvat menjadi asam laktat dengan cara reoksidasi NADH menjadi NAD^+ . Manifestasi hambatan oleh asam borat akan berdampak pada kerusakan sel karena gagalnya sintesis energi dan perlahan akan mengganggu proses spermatogenesis. ATP diperlukan untuk kelancaran pompa sodium (Na^+) dan potasium (K^+) pada sel sertoli maupun sel bakal spermatozoa. Bila ATP tidak dihasilkan maka Na^+ bersifat menarik air sehingga air terakumulasi di dalam sel sertoli maupun sel benih, akibatnya sel membengkak (Rippey, 1994).

Akumulasi air pada sel yang diikuti pembengkakan sel disebut degenerasi hidropik. Degenerasi sel merupakan kerusakan yang bersifat *reversible*, artinya jika penyebab degenerasi dihilangkan maka sel akan kembali normal (Arimbi, 2011). Degenerasi hidropik hanya terjadi pada sitoplasma tetapi tidak sampai merusak inti sel sehingga kerusakan tersebut dapat pulih kembali. Degenerasi yang berlangsung lama dan terus-menerus akan mengakibatkan sel tidak dapat melangsungkan metabolisme sehingga terjadi kematian sel atau nekrosis (Price *and* Wilson, 2006). Nekrosis dapat berdampak pada rusaknya jaringan atau jejas sel yang diikuti dengan reaksi peradangan sehingga kapiler akan tersumbat sel radang. Manifestasi tersumbatnya kapiler akan menimbulkan dilatasi pembuluh

darah yang disertai peningkatan jumlah darah sehingga akan tampak eritrosit terkumpul di kapiler berupa kongesti. Jika kapiler pecah akan diikuti tersebarnya eritrosit disekitar sel sehingga tampak hiperemia jaringan (Bezabeh *et al.*, 2004).

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada bulan Juli 2013 sampai dengan bulan September 2013. Pembuatan sediaan histopatologi testis dilakukan di Laboratorium Departemen Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2 Bahan dan Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan. Penghitungan jumlah ulangan pada penelitian ini dihitung berdasarkan rumus Rancangan Acak Lengkap (Kusriningrum, 2006) yaitu:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

keterangan: t = jumlah perlakuan
 n = jumlah ulangan dalam perlakuan

Tikus putih yang digunakan berumur 2 bulan dengan berat badan kurang lebih 200 gram dan sehat. Tikus putih diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

3.2.2 Alat penelitian

Kandang percobaan untuk tempat pemeliharaan hewan coba yang terbuat dari bahan plastik dengan ukuran 40 cm x 25 cm x 12 cm. Kawat jala sebagai penutup kandang individual, tempat makan, tempat minum, timbangan digital, dan jarum sonde. Peralatan yang digunakan untuk insisi dan pembuatan sediaan histopatologi meliputi: gunting bedah, scalpel steril, pinset steril, object glass, cover glass, hot plate, nampan sebagai wadah tikus putih, pot kecil dan tutupnya sebagai tempat penyimpanan organ, pembakar bunsen, oven, aluminium foil, mikrotom, staining jar, refrigerator, kamera, dan mikroskop Olympus® CX-41.

3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) yang didapatkan dari toko bahan kimia Jalan Kandangan Blitar, aquadest steril sebagai pelarut boraks, pakan yang diberikan berupa pakan ayam 511 berbentuk pellet (PT.Charoen Pokphand Surabaya), air minum, sekam sebagai alas kandang individual, kapas steril, chloroform, dan formalin 10%.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah testis yang diambil dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 20 ekor. Pada penelitian ini diambil 1 buah testis secara acak untuk masing-masing ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*). Testis didapatkan dengan melakukan pembedahan tikus putih pada hari ke- 15. Sebelum dibedah, tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibius secara *inhalasi* dengan menggunakan chloroform. Testis terletak pada daerah pre pubis dan terbungkus dalam kantong skrotum, dimana dalam satu skrotum berisi dua lobi testis yang masing-masing

lobi berisi satu testis. Selanjutnya, testis dipisahkan dengan skrotum dan difiksasi di dalam pot yang berisi formalin 10% untuk dibuat sediaan histopatologi.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Persiapan Hewan Percobaan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan 20 ekor yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dengan lima ulangan pada masing-masing perlakuan. Sebelum mendapat perlakuan, tikus putih tersebut dibagi dan dimasukkan secara acak ke dalam empat buah kandang dengan masing-masing kandang berisi lima ekor tikus putih. Tikus putih diadaptasikan selama tujuh hari dan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*.

3.4.2 Perlakuan

Dasar pemberian dosis boraks adalah kandungan boraks yang terdapat dalam mie basah siap konsumsi sebesar 2,901 gram/100 gram makanan (Happy, 1994). Menurut Wagner and Wolff (1977), pada penelitian pengaruh boraks untuk mengetahui efek toksiknya dianjurkan menggunakan uji toksisitas dosis subkronis selama 14 hari perlakuan. Dosis berulang menggunakan acuan dosis pada manusia, yaitu 2,901 g. Setelah dikonversikan pada dosis tikus putih (*Rattus norvegicus*) selanjutnya didapatkan dosis atas dan dosis bawah untuk uji toksisitas subkronis, yaitu 19 mg, 26 mg, dan 37 mg per ekor (cara perhitungan dosis terdapat pada Lampiran 2).

Pembuatan larutan boraks dengan cara mencampur masing-masing dosis boraks pada masing-masing kelompok perlakuan dengan aquades steril sebanyak 0,5 ml/ekor/hari kemudian dikocok sampai larut sempurna. Setelah itu, larutan

boraks akan diberikan per oral dengan sonde selama 14 hari untuk mengetahui efek toksiknya. Setiap perlakuan diulang lima kali sehingga diperoleh $4 \times 5 = 20$ unit perlakuan. Rincian perlakuan sebagai berikut :

- 1) P0 : Tikus putih mendapat aquadest steril 0,5 ml/ekor/hari
- 2) P1 : Tikus putih mendapat larutan boraks 19 mg/ekor/hari
- 3) P2 : Tikus putih mendapat larutan boraks 26 mg/ekor/hari
- 4) P3 : Tikus putih mendapat larutan boraks 37 mg/ekor/hari

Pada hari ke-15, tikus putih diambil dari kandang dan dilakukan anestesi secara inhalasi dengan menggunakan chloroform. Tikus putih kemudian difiksasi dan diseksi untuk memisahkan organ testis, selanjutnya dilakukan pengamatan patologi anatomi dan pembuatan sediaan histopatologi testis.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas : Dosis larutan boraks.

3.5.2 Variabel Tergantung : Perubahan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli pada gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*)

3.5.3 Variabel Kendali : Berat badan, umur, pakan, air minum dan kandang tikus putih (*Rattus norvegicus*)

3.6 Definisi Operasional Variabel

Larutan boraks yang di maksud dalam penelitian ini merupakan campuran masing-masing dosis boraks yang dilarutkan dengan aquadest steril 0,5 ml/ekor/hari lalu dikocok sampai larut sempurna. Boraks yang dilarutkan untuk setiap perlakuan dengan dosis 19 mg, 26 mg, dan 37 mg.

3.7 Pengumpulan dan Teknik Pengambilan Data

Data histopatologi ditentukan dengan cara mengamati dan menghitung jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli dengan mikroskop. Penghitungan dilakukan pada sel spermatogonium karena merupakan sel benih yang pertama kali terbentuk dalam tubulus seminiferus dan mengandung banyak materi genetik. Sel spermatogonium akan melakukan pembelahan hingga menjadi spermatozoa. Asam borat bersifat toksik yang dapat mempengaruhi pembentukan DNA pada proses pembelahan (Chapin *and* Ku, 1994). Berdasarkan peranan sel spermatogonium yang sangat besar, sehingga diasumsikan bahwa apabila sel spermatogonium rusak, maka proses pembelahan tidak terjadi sehingga sel benih berikutnya tidak akan terbentuk. Sel spermatogonium terletak pada lamina basalis tubulus seminiferus sehingga mudah diamati, oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan penghitungan pada sel spermatogonium.

Penghitungan selanjutnya dilakukan pada sel sertoli karena sel sertoli merupakan sel pengasuh dari sel benih yang berfungsi sebagai produsen energi untuk sel benih. Asam boraks dapat berpengaruh pada proses pembentukan energi oleh sel sertoli (Chapin *and* Ku, 1994). Adanya pernyataan tersebut diasumsikan bahwa asam borat berpengaruh terhadap jumlah sel sertoli selain itu bentuk sel sertoli yang spesifik dapat dengan mudah dibedakan dengan sel benih dalam tubulus seminiferus, sehingga pada penelitian ini dilakukan penghitungan pada sel sertoli.

Setiap preparat diamati lima lapang pandang pada 5 tubulus seminiferus, dengan asumsi bahwa 5 tubulus seminiferus tersebut sudah mewakili keseluruhan

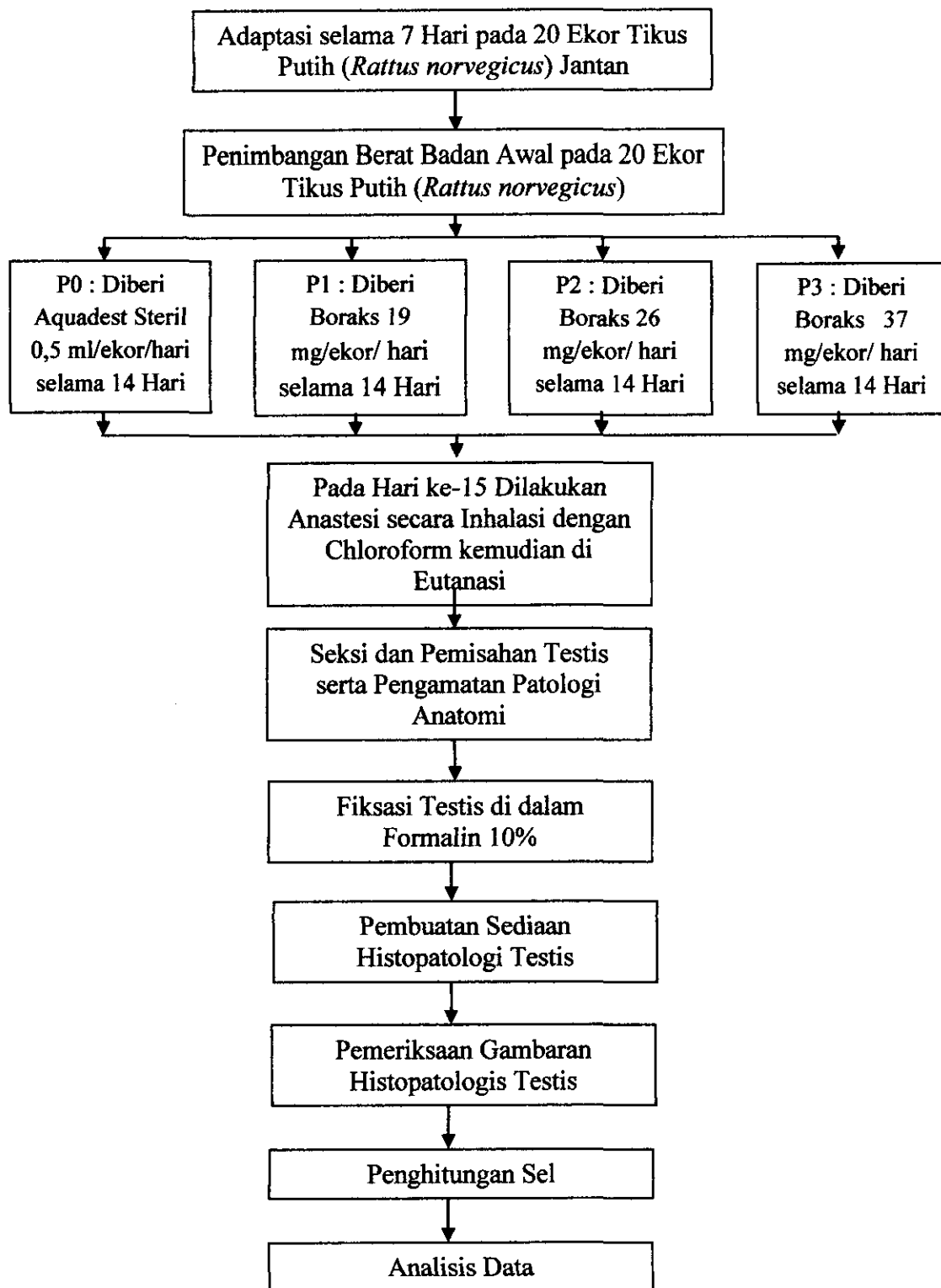
tubulus dalam satu testis yang diperiksa. Hasil penghitungan tiap lapang pandang dalam satu preparat dijumlahkan kemudian dihitung rata-ratanya.

3.8 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan dilakukan pengacakan terhadap 20 ekor tikus putih yang terbagi dalam empat perlakuan ($t=4$), dan tiap perlakuan terdapat lima ulangan ($n=5$). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap karena hanya ada satu sumber keragaman yakni perlakuan yang dibeda-bedakan di samping pengaruh acak (Kusriningrum, 2006).

Data yang diperoleh berupa data kuantitatif jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli testis tikus putih. Data disusun dalam bentuk tabel untuk kemudian dianalisis statistik dengan menggunakan uji *ANOVA*. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Seluruh proses analisis dikerjakan dengan program *SPSS 20 for Windows* (Mehotcheva, 2008).

3.9 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Jumlah Sel Spermatogonium

Penghitungan jumlah sel spermatogonium dilakukan pada seluruh preparat secara mikroskopis. Masing-masing preparat diamati 5 lapang pandang pada 5 tubulus seminiferus secara acak.

Hasil penghitungan sel spermatogonium yang didapat berupa data kuantitatif disajikan seperti pada Tabel 4.1.

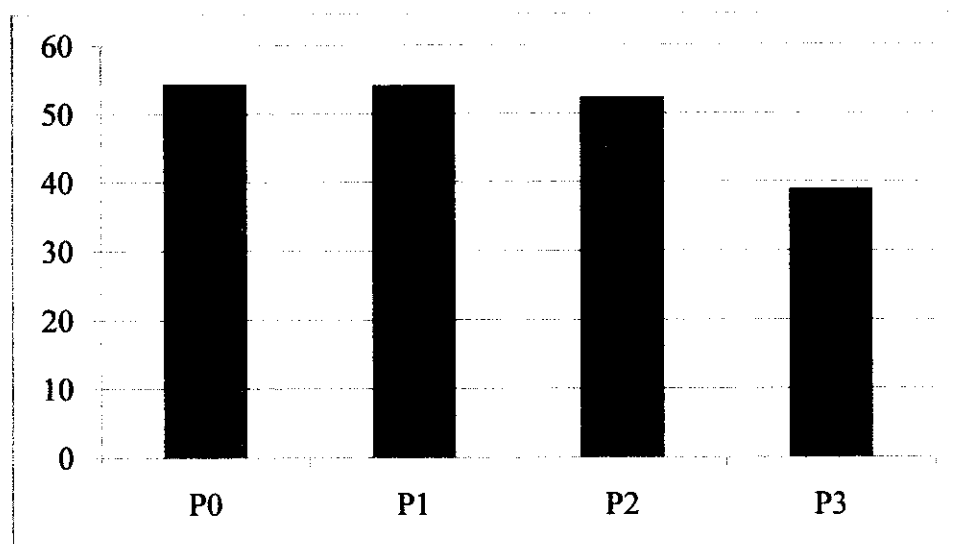
Tabel 4.1. Efek Pemberian Boraks terhadap Jumlah Sel Spermatogonium pada setiap Perlakuan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Jumlah hitung sel Spermatogonium (mean±SD)
P0	54,40 ^a ± 0,894
P1	54,20 ^a ± 0,837
P2	52,40 ^a ± 3,362
P3	39,00 ^b ± 0,707

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

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Duncan* menunjukkan bahwa jumlah hitung sel spermatogonium kelompok kontrol (P0) tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,005$) dengan kelompok P1, dan tidak berbeda nyata ($p > 0,005$) pada kelompok P2, tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P3.

Perbedaan rerata jumlah hitung sel spermatogonium pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada diagram batang 4.1.



Gambar 4.1 Diagram batang rerata jumlah hitung sel spermatogonium pada kelompok perlakuan P0, P1, P2, P3.

Gambaran histopatologi sel spermatogonium kontrol (P0) dapat dilihat pada gambar 4.2



Gambar 4.2 Gambaran Histopatologi Sel Spermatogonium (P0)Kontrol (Pewarnaan H.E; Perbesaran 1000x; Mikroskop Olympus® CX41)

Gambaran histopatologi sel spermatogonium kelompok perlakuan 3 (P3) dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Gambaran Histopatologi Sel Spermatogonium P3 Dosis Boraks 37 mg (Pewarnaan H.E; Perbesaran 1000x; Mikroskop Olympus®CX41).

4.2 Jumlah Sel Sertoli

Penghitungan jumlah sel sertoli dilakukan pada seluruh preparat secara mikroskopis. Masing- masing preparat diamati 5 lapang pandang secara acak dan pada masing-masing lapang pandang dilakukan penghitungan sel sertoli pada 5 tubulus seminiferus.

Hasil penghitungan sel sertoli yang didapat berupa data kuantitatif yang disajikan seperti pada Tabel 4.2.

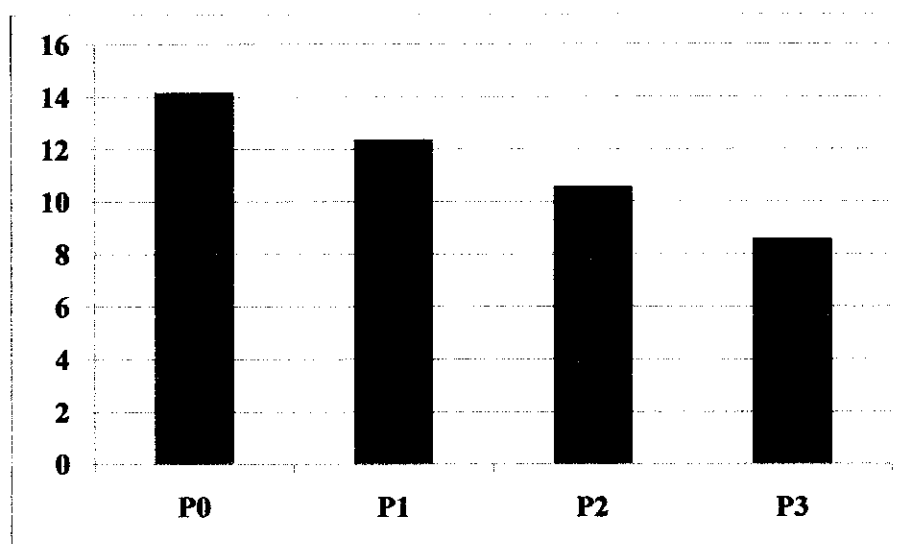
Tabel 4.2. Efek Pemberian Boraks terhadap Jumlah Sel Sertoli pada setiap Perlakuan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Jumlah hitung sel Sertoli (mean \pm SD)
P0	14,20 ^a \pm 3,271
P1	12,40 ^{ab} \pm 0,894
P2	10,60 ^{bc} \pm 0,894
P3	8,60 ^c \pm 1,517

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

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Duncan* menunjukkan bahwa jumlah hitung sel sertoli kelompok kontrol (P0) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok perlakuan P1. Tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P2, dan kelompok P3. Kelompok perlakuan P1 menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok perlakuan P3, tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan P2.

Perbedaan rerata jumlah hitung sel sertoli pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada diagram batang 4.4.



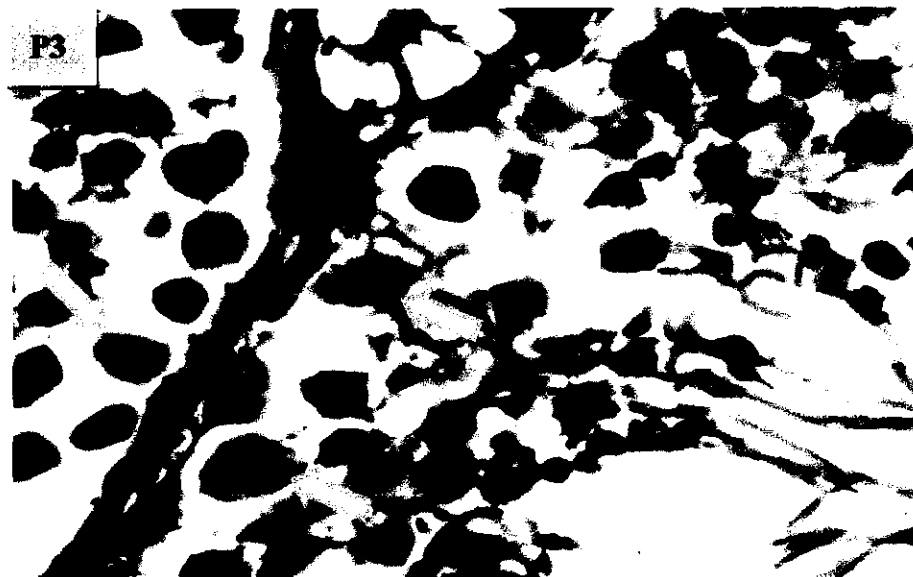
Gambar 4.4 Diagram batang rerata jumlah hitung sel sertoli pada kelompok perlakuan P0, P1, P2, P3.

Gambaran histopatologi inti sel sertoli kontrol (P0) dapat dilihat pada gambar 4.5



Gambar 4.5 Gambaran Histopatologi Inti Sel Sertoli kontrol (P0) (Pewarnaan H.E; Perbesaran 1000x; Mikroskop Olympus® CX41).

Gambaran histopatologi inti sel sertoli kelompok perlakuan 3 (P3) dapat dilihat pada gambar 4.6.



Gambar 4.6 Gambaran Histopatologi Inti Sel Sertoli (P3)
Dosis Boraks 37 mg (Pewarnaan H.E; Perbesaran
1000x Mikroskop Olympus® CX-41).

BAB 5

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

Boraks masuk kedalam testis dalam bentuk asam borat mampu menembus *blood testis barrier* (Chapin and Ku, 1994). *Blood testis barrier* merupakan suatu kompleks multisel yang terdiri dari sel mioid dan membran yang mengelilingi tubulus seminiferus dan sel sertoli yang keduanya terjalin rapat mengelilingi tubulus seminiferus. *Blood testis barrier* berfungsi sebagai salah satu sistem pertahanan tubulus seminiferus dan bersifat selektif terhadap bahan asing. Tidak semua bahan kimia dapat masuk ke dalam tubulus seminiferus. Laju penetrasi zat kimia ke dalam tubulus seminiferus ditentukan oleh berat molekul, koefisien partikelnya dan ciri-ciri ion (Janqueira, 2005).

Fungsi *blood testis barrier* tidak seefektif *blood brain barrier* pada otak. Boraks dalam asam borat mampu melewati *blood testis barrier*, karena asam borat mempunyai laju penetrasi ke dalam tubulus seminiferus yang tinggi. Asam borat yang masuk ke dalam tubulus seminiferus menyebar ke seluruh bagian melalui sistem sirkulasi. Asam borat yang menyebar dapat mempengaruhi sel spermatogonium dan sel sertoli, serta dapat mengganggu proses metabolisme di dalamnya.

Proses spermatogonium di dalam tubulus seminiferus melibatkan berbagai sel benih maupun non benih, termasuk spermatogonium dan sel sertoli. Setiap sel di dalam tubulus seminiferus sangat berkaitan antara satu dengan lainnya. Apabila terjadi kerusakan pada sel spermatogonium maka sel benih selanjutnya tidak akan terbentuk karena sel spermatogonium sebagai pusat dari semua sel benih di dalam tubulus seminiferus. Sel spermatogonium merupakan sel yang pertama kali

terbentuk di dalam tubulus seminiferus. Asam borat merusak sel spermatogonium pada materi genetik (DNA) yang akan mengalami pembelahan membentuk spermatosit primer.

Sel benih pada proses spermatogenesis diasuh oleh sel sertoli. Sel sertoli merupakan sel non benih, dalam mengasuh sel spermatozoa fungsi sel sertoli dapat terganggu oleh adanya asam borat. Asam borat mempengaruhi proses pembentukan nutrisi pada sel sertoli, sehingga lama- kelamaan sel sertoli mengalami kerusakan akibat nutrisi yang tidak memadai. Apabila sel sertoli mengalami kerusakan maka sel sertoli tidak dapat mengasuh sel benih termasuk sel spermatozoa. Kegagalan fungsi sel sertoli dalam mengasuh sel benih akan memperparah kerusakan sel yang diasuhnya termasuk sel spermatogonium yang terpapar oleh asam borat.

5.1 Jumlah Sel Spermatogonium

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara P0 dengan P3 yang artinya bahwa dosis boraks 37 mg/ekor/hari dapat mengakibatkan penurunan jumlah sel spermatogonium pada gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang signifikan. Hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) tampak antara P0 dengan P1 dan P2 yang artinya bahwa dosis boraks 19 mg/ekor/hari dan 26 mg/ekor/hari mengakibatkan penurunan jumlah sel spermatogonium yang tidak signifikan pada gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sedangkan dosis minimal boraks yang dapat menurunkan jumlah sel spermatogonium yaitu pada P2.

Menurut Chapin *and* Ku (1994) boraks dapat mengakibatkan kerusakan testis dengan dosis yang besar. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat tersebut karena pada pemberian boraks dengan dosis besar P3 secara peroral pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) mengakibatkan penurunan jumlah sel spermatogonium. Pada kelompok P3 (dosis boraks 37mg/ekor/hari) menunjukkan penurunan jumlah sel spermatogonium yang signifikan akibat kerusakan yang ditimbulkan oleh boraks dalam testis. Pemberian boraks pada kelompok P1 (dosis boraks 19 mg/ekor/hari) dan P2 (dosis boraks 26 mg/ekor/hari) belum menunjukkan kerusakan yang signifikan pada sel spermatogonium testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) hal ini disebabkan karena dosis boraks yang di transportasikan darah ke testis masih dapat di adaptasi oleh sel spermatogonium. Boraks dapat mengakibatkan kerusakan organ apabila organ terpapar akumulasi boraks dalam jumlah yang besar yang diberikan secara terus-menerus (Naghii *and* Samman, 1996).

Boraks yang masuk dalam tubuh tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara peroral akan diabsorpsi oleh sistem gastrointestinal dan di transportasikan ke seluruh tubuh melalui aliran darah dalam bentuk asam borat, sehingga mengakibatkan kadar asam borat dalam darah meningkat (Whorton *and* Trent, 2003). Asam borat di transportasikan oleh darah ke seluruh tubuh tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk organ, jaringan, tulang, plasma. Asam borat yang berada dalam tubuh tidak mengalami proses degradasi, karena energi yang ada digunakan untuk memecah ikatan antara asam borat dengan oksigen. Kurang lebih 90% borat terabsorpsi oleh gastrointestinal tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan

akan dieskresikan hanya kurang lebih 60-75% dari tubuh. Proses ekskresi lebih banyak melalui urin dalam waktu 24 jam dari pertama kali pemberian dan sisanya masih berada pada tubuh tikus selama lebih dari 7 hari (Schou *et al*, 1984). Terganggunya fungsi ekskresi asam borat melalui urin dapat meningkatkan jumlah asam borat dalam darah, sehingga memperberat kerja sistem ekskresi asam borat dari dalam tubuh akibatnya proses ekskresinya menjadi lebih lambat. Proses ekskresi yang lambat inilah yang akan menyebabkan akumulasi boraks dalam tubuh (Murray *et al*, 2006).

Berdasarkan WHO tahun 1998, asam borat dapat berikatan dan membentuk kompleks dengan biomolekul. Asam borat pada testis dapat terdeposit dalam sel spermatogonium dan sel sertoli sehingga dapat berikatan dengan komposisi molekul dalam sel (Chapin *and* Ku, 1994)

Sel spermatogonium merupakan sel benih yang pertama kali terbentuk dari epitel tubulus seminiferus. Sel spermatogonium mengandung inti yang berisi kromatin yang di dalamnya terdapat DNA. Sel ini mengalami proses mitosis atau pembelahan, sel selalu tumbuh dan aktif membelah membentuk dua sel spermatogonium dormant yang menjaga kontinuitas sel spermatogonium dan satu spermatogonium aktif yang membentuk spermatosit primer (Ismudiono, 2010). Pembelahan mitosis sel spermatogonium melibatkan kromosom yang berisi *dioxyrobo nukleat acid* (DNA). Pada waktu sel akan mulai mitosis DNA mengalami replikasi terlebih dahulu. Replikasi merupakan suatu proses pembelahan sel dimana kedua rantai DNA akan lepas dan akan terbentuk pasangannya masing-masing dengan susunan yang sama seperti rantai

pasangannya semula (Robert *et al.*, 2003).

Asam borat secara spesifik merusak nukleosida *deoxythymidin* yang merupakan prekursor pembentukan DNA baru pada proses replikasi. Struktur DNA yang baru pada sel spermatogonium dormant dan sel spermatogonium aktif mengalami kecacatan, akibatnya sel tidak dapat mempertahankan kontinuitas produksi sel spermatogonium, sehingga jumlah sel spermatogonium mengalami penurunan (Chapin *and* Ku, 1994). Sel spermatogonium aktif yang mengalami kecacatan tidak dapat membelah sempurna membentuk sel spermatosit primer akibatnya sel spermatogonium aktif mengalami penurunan jumlah, kecacatan ini berlangsung regeneratif hingga proses meiosis juga terganggu, akibatnya jumlah sel dalam tubulus seminiferus mengalami penurunan (Janqueira *et al.*, 2005).

5.2 Jumlah Sel Sertoli

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jumlah hitung sel sertoli kelompok kontrol (P0) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok P1. Tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P2, dan kelompok P3. Kelompok perlakuan P1 menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok perlakuan P3, tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan P2.

Boraks yang masuk dalam tubuh tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara peroral akan diabsorpsi oleh sistem gastrointestinal dan di transportasikan ke seluruh tubuh melalui aliran darah dalam bentuk asam borat (Naghii *and* Samman, 1996). Asam borat di transportasikan oleh darah ke seluruh tubuh termasuk organ testis. Pada testis boraks akan mempengaruhi sel benih yang ada didalam tubulus

seminiferus termasuk sel sertoli. Berdasarkan hasil penghitungan sel sertoli pada gambaran histopatologi testis tikus putih menunjukkan bahwa kelompok perlakuan P1 (dosis boraks 19 mg/ekor/hari) menunjukkan bahwa boraks menurunkan jumlah sel sertoli namun tidak signifikan ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Chapin *and* Ku (1994) bahwa boraks dapat menimbulkan kerusakan pada testis. Dalam penelitian ini kerusakan testis ditinjau dari rusaknya sel sertoli yang berakibat terjadinya kematian sel sehingga jumlah sel sertoli berkurang jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol P0 (tanpa di beri boraks).

Pemberian boraks pada kelompok P2 (dosis boraks 26 mg/ekor/hari) dan P3 (dosis boraks 37 mg/ekor/hari) mengakibatkan penurunan jumlah sel sertoli yang signifikan ($p < 0,05$) bila dibandingkan kelompok kontrol (P0). Hasil penghitungan ini sesuai dengan pendapat Naghii *and* Samman (1996) yang menyebutkan bahwa boraks dalam bentuk asam borat dapat menimbulkan kerusakan pada tubuh jika diberikan dalam dosis yang besar. Asam borat yang berada dalam tubuh tidak mengalami proses degradasi, karena energi yang ada digunakan untuk memecah ikatan antara asam borat dengan oksigen. Kurang lebih 90% yang terabsorpsi oleh gastrointestinal tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan akan dieskresikan hanya kurang lebih 60-75% dari tubuh. Proses ekskresi lebih banyak melalui urin dalam waktu 24 jam dari pertama kali pemberian dan sisanya masih berada pada tubuh tikus selama lebih dari 7 hari (Schou *et al*, 1984). Terganggunya fungsi ekskresi asam borat melalui urin dapat meningkatkan asam borat dalam darah, sehingga memperlambat proses ekskresi asam borat dari dalam

tubuh. Proses ekskresi yang lambat inilah yang akan menyebabkan akumulasi boraks dalam tubuh (Whorton *and* Trent, 2003).

Penurunan jumlah sel sertoli terjadi akibat menghilangnya sel sertoli yang sudah mati dari tubulus seminiferus. Proses kematian sel diawali dari proses degenerasi yang melanjut menjadi nekrosis atau kematian sel. Sel yang sudah mati lama kelamaan akan menghilang dari jaringan.

Bahan aktif boraks yakni asam borat menghambat proses glikolisis aerob dengan menjadi inhibitor kompetitif dengan enzim *gliseraldehid 3-phosphate dehydrogenase*. Enzim ini merupakan enzim yang mengkatalisis *gliseraldehid 3-phosphate* pada proses reaksi oksidasi yang mutlak memerlukan adanya NAD^+ untuk menghasilkan ATP (Chapin *and* Ku, 1994). Jika proses ini terhambat maka piruvat sebagai bahan dasar pembentukan ATP tidak tersedia. Jalur lain untuk menghasilkan energi sel sertoli harus membentuk asam laktat sebagai sumber energi dengan cara peningkatan laju glikolisis anaerob, namun pada proses ini energi yang dihasilkan sangat sedikit bila dibandingkan dengan proses glikolisis aerob. Efek dari peningkatan laju glikolisis anaerob akan terjadi akumulasi asam laktat, yang mengakibatkan penurunan pH intraseluler. Penurunan pH menyebabkan pepadatan kromatin inti sel (piknotis) secara cepat namun masih bersifat reversibel. Pepadatan inti sel akan berpengaruh terhadap sintesis RNA jika terus menerus proses ini akan mengakibatkan kematian sel.

Penurunan jumlah ATP karena kegagalan pembentukan ATP sebagai implikasi fungsi mitokondria yang terganggu sintesis energinya. sehingga menghambat *sodium potassium pump* untuk menjaga kestabilan intrasel (Nielsen,

1994). Sel yang seharusnya mengeluarkan energi metabolik untuk memompa ion natrium keluar dari sel dan kalium masuk kedalam sel tidak dapat berfungsi dengan baik (Rippey, 1994).

Pergeseran ion mengakibatkan dilatasi retikulum endoplasmik sehingga fungsinya sebagai pembentuk energi tidak dapat berjalan normal. Pada waktu yang bersamaan pelepasan polisome dari membran endoplasmik retikulum akan menghambur (karyorhexis). Sintesis protein sangat terhambat, mitokondria mulai tampak membengkak dengan pepadatan matriks. Pada stadium ini terjadi pelepasan ribosom sehingga kromatin mengalami pencairan secara enzimatik.

Kerusakan pada berbagai membran sel, mitokondria, dan retikulum endoplasmik, akan meningkatkan Ca^{+} dalam sitoplasma. Ca^{+} merangsang terjadinya digesti organela dalam sel, sel mengalami degradasi dan pencernaan enzimatik komponen sel oleh enzim lisosom. Akibatnya sel sertoli yang telah mati akan menghilang dari tubulus seminiferus sehingga jumlahnya akan berkurang (Arimbi, 2011).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa boraks dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*).

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat dianjurkan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan sosialisasi tentang bahaya boraks kepada masyarakat khususnya para pedagang makanan yang menggunakan boraks.
2. Perlu dilakukan sosialisasi kepada konsumen agar lebih jeli dalam memilih makanan melalui publikasi skripsi ini.

RINGKASAN

RINGKASAN

IZZATUL ULFANA, Pengaruh Boraks Terhadap Jumlah Sel Spermatogonium dan Sel Sertoli pada Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilaksanakan di bawah bimbingan Bapak Roesno Darsono, drh., M.Vet, selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dr. Hj. Sri Mulyati, drh., M.Kes., selaku dosen pembimbing serta.

Bahan makanan tambahan atau bahan pengawet adalah zat yang digunakan dan dicampurkan sewaktu pengolahan makanan untuk meningkatkan kualitas makanan tersebut. Beberapa bahan pengawet berbahaya telah ditemukan di pasaran seperti boraks yang digunakan untuk memperbaiki tekstur makanan sehingga tampak lebih kenyal serta mampu mempertahankan derajat keasaman sehingga makanan tidak cepat tengik. Tubuh yang terpapar boraks berdampak pada terganggunya sistem reproduksi, sistem pencernaan, sistem pernafasan, sistem sirkulasi, dan memacu sel kanker. Bahan aktif boraks yakni asam borat yang terabsorpsi oleh sistem pencernaan akan menuju ke testis melalui sirkulasi darah, karena testis merupakan organ yang sangat peka terhadap boraks. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan penurunan jumlah sel spermatogonium dan sel sertoli pada gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pengaruh boraks.

Hewan coba penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar umur 2 bulan yang kemudian dibagi menjadi empat perlakuan yaitu P0 (aquadest steril 0,5 ml/ekor/hari), P1 (diberi boraks 19 mg/ekor/hari), P2 (diberi boraks 26 mg/ekor/hari), dan P3 (diberi

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Arimbi., Azmijah, A., Darsono, R., Plumeriastuti, H., Widyatno, V.T., Legowo, D. 2011. Buku Ajar Patologi Umum Veteriner : Respon Sel dan Jaringan Terhadap Jejas serta Gangguan Hemodinamik. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 7-80
- Bacha WJ, Bacha LM. 2000. *Color Atlas of Veterinary Histology*. Balado D, editor. 2ndEd. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins.
- Basoglu, A., N. Baspinar, S.A. Ozturk and P.P. Akalin. 2010. Effect of Boron Administration on Hepatic Steatosis, Hematological and Biochemical Profiles in Obese Rabbits. *Trace Element Electrolytes*, 27 : 225 - 231
- Bezabeh, M., A. Tesfaye, B. Ergicho, M. Erke, S. Mengistu, A. Bedane, A. Desta. 2004. *General Pathology : Lecture Notes For Health Science Students*. Jimma University, Gondar University, Haramaya University, Dedub University. Ethiopia. 68-69
- Cahyadi, W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara. Jakarta. Halaman 38 – 40
- Caroline, C. 2004. *Journal of Pesticide Reform : Boric Acid and Borat*. Northwest Coalition for Alternatives to Pesticide (NCAP). Oregon. Vol.24(2): 1-6
- Chapin RE, Ku WW, Wine. RN, Glade BC. 1994. Testicular Toxicity of Boric Acid Relationship of Dose to Lesion Development And Recovery in the F 344 Rat. *Repro. Toxicol.* 7 (4) : 305–319.
- Constantinescu GM. 2007. Anatomy of reproductive organs. Di dalam: Schatten H, Constantinescu GM, editor. *Comparative Reproductive Biology*. Ames: Blackwell Publishing. hlm 13-59.
- Cox, R.R., and Kamprath, E. J. 2004 Essential Micronutrient Soil Tests. In *Micronutrients in Agriculture*. Eds. J J Mortvedt, P M Giordano and W L Lindsay. pp 289–317. Soil Science Soc. Amer., Madison,
- Departemen Kesehatan RI. 1988. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/Menkes/Per/IX/1988 Tentang Bahan Makanan Tambahan Direktorat Pengawasan Makanan dan Minuman. Dirjen POM Departemen Kesehatan RI.
- Departement of pharmaceutical Science. 1982. *Martindale the Extra Pharmacoeia* 28th edition. London: The Pharmaceutical Press

- Devirian TA, Volpe SL. 2003. The Physiological Effects of Dietary Boron *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 43(2):219-231. Di dalam : [USEPA-IRIS]. United State Environmental Protection Agency – Intergrated Risk Information System. 2004. *Toxicological Review of Boron and Compounds* (CAS No. 7440-42-8). Washington DC. EPA 635/04/052. <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0410-tr.pdf> [19-06-2013].
- Donald's, Mc. 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Ed ke-4
- Dourson, M., A. Maier, B. Meek, F., Bareille, R., Baquey. 2003. Boron Tolerable Intake Re-evaluation of Toxicokinetics for Data Derived Uncertainty Factors. *Biol. Trace Elem. Res.* 66(1-3):453-463 (as cited in U.S. EPA, 2004a).
- Guyton AC, Hall EJ. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-9. Setiawan I, Tengadi KA, Santoso A, Penerjemah; Setiawan I, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Textbook of Medical Physiology*.
- Happy, L. 1994. Perhitungan Kadar Boraks Dengan Metode Spektrofotometri Terhadap Mie Basah yang Beredar di Surabaya [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Hal : 15-30.
- Ismudiono., Srianto, P., Anwar, H., Madyawati P.S., Samik, A., Safitri, E. 2010. *Buku Ajar Fisiologi Reproduksi pada Ternak : Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan dan Betina*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 11-38
- Janquera L C, Carneiro J. 2005. *The Male Reproduction*. *Dalam: Histologi Dasar: Teks dan Atlas*. Jakarta: EGC
- Jusuf, A.A. 2009. *Histoteknik Dasar : Rangkaian Proses Histoteknik Pembuatan Sediaan Histologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Depok.
- Kusriningrum, R. 2006. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. 38.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Laurence, D.R. and Bacharach, A.L. 1993. *Evaluation of Drug Activities and Pharmacometrics*, Academic Press London and New York 1:pp. 160-161.
- LeBouef-Little. 2010. Borax Health effects. Elsevier Ltd. *Human Eco. Risk Assess.* 7(1):125-138 (as cited in U.S. EPA, 2004a).
- Linnaeus, C. 1758. Carolus Linnaeus dan Sistem Binomial Nomenclature. *Encyclopedia Britannica*. Edisi 1911.

- Litovitz, T.L., W. Klein-Schwartz, G.M. Oderda, Matthews, J.B., Stone. 2000. Clinical Manifestations of Toxicity in a Series of 784 Boric Acid Ingestions. *Am. J. Emerg. Med.* 6:209-213 (as cited in U.S. EPA, 2004a).
- Mehotcheva, T.H. 2008. The *Kruskall-Wallis* Test. Seminar In Methodology And Statistics. Wednesday, 23rd April 2008.
- Murray, Robert K. 2006. Bioenergetics and Metabolism of Carbohydrates and Lipids: Harper's Illustrated Biochemistry. edisi 27. Boston: McGraw: 80-102
- Naghi, M.R. and Samman. 1997. The Effect of Boron Supplementation on its Urinary Excretion and Selected Cardiovascular Risk Factor in Healthy Male Subject. *Biol Trace Element Res* 56. 273-286
- Nielsen, FH. 1994. Biochemical and physiologic consequences of boron deprivation in humans. *Environ Health Perspect* 102(Suppl. 7):59-63.
- Novrianto, 1994. *Ancaman Boraks Lewat Bakso*. Tempo. XXI/1. PT Grafiti Press. Jakarta. P. 37.
- Pangestiningih TW. 1994. Pengaruh Dosis Sodium Borat pada Tikus (*Rattus nervigicus albinus*) Induk terhadap Fetus. Tesis Pascasarjana UGM, Yogyakarta.
- Price, S. A. And Wilson, L. M. 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit (Patophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes). Edisi 6, volume 1. Alih Bahasa Hartanto H, Wulansari P., Maharani D.A. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 42-53.
- Rippey, J. J. 1994. General Pathologi. Witwatersrand University Press. Perth Western. Australia. 22-40
- Schou J.S., Jansen J.A., Aggerbeck B. 1984. Human pharmacokinetics. Hamburg: Skyline. p. 232-235
- Sugiyatmi, S. 2006. Analisis Faktor-Faktor Risiko Pencemaran Bahan Toksik Boraks dan Pewarna pada Makanan Jajanan Tradisional yang Dijual Di Pasar-Pasar Kota Semarang Tahun 2006 [Tesis]. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro. Semarang. Hal : 3-21.
- Wagner, H., And P. Wolff. 1977. New Natural Products And Plants Drugs With Pharmacological Biological or Therapeutical Activity. Springer-Verlag. Berlin. Heiderberg. New York. 37-38
- Whorton, D., J. Haas, and L. Trent. 2003. Reproductive effects of inorganic borates on male employees: birth rate assessment report. Prepared for United States Borax and Chemical Corporation; Document No. 6966001 (as cited in U.S. EPA, 2004a)

William, J.B., and Linda, M.B. 2000. Color Atlas of Veterinary Histology 2nd Edition. Department of Biology Rutgers University Camden College of Arts and Science. New Jersey. Lippincott Williams and Wilkins. Jusuf

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Manusia dan Berbagai Jenis Hewan.

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 Kg	Kucing 2 Kg	Kera 4 Kg	Anjing 12 Kg	Manusia 70 Kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,225	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,47	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 Kg	0,008	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 Kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 Kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 Kg	0,16	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 Kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 Kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Sumber : Laurence *and* Bacharach, 1993)

Lampiran 2. Perhitungan Dosis Larutan Boraks.Diketahui :

Berat tikus putih dalam tabel (B)	:	200 gram
Berat tikus putih rata-rata (A)	:	200 gram
Nilai Konversi manusia → tikus putih dalam tabel (C)	:	0,018
Dosis pada manusia 70 Kg (D)	:	2901 mg

Ditanyakan :

Dosis tikus putih... ?

Penyelesaian :

$$\begin{aligned} \text{Rumus dosis} &= A/B \quad \times \quad C \quad \times \quad D \\ \text{Dosis tikus putih} &= 200/200 \quad \times \quad 0,018 \quad \times \quad 2901 \\ &= 26,109 \\ &= 26 \text{ mg} \end{aligned}$$

Menghitung dosis berulang untuk uji toksisitas subkronis.

$$\begin{aligned} \text{Dosis P1} &= (\log 10/\log 26) \times 26 \\ &= 18,571 \\ &= 19 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis P2} &= (\log 26/\log 26) \times 26 \\ &= 26 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis P3} &= (\log 100/\log 26) \times 26 \\ &= 37,143 \\ &= 37 \text{ mg} \end{aligned}$$

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik Jumlah Sel Spermatogonium dan Sel Sertoli

Case Summaries^a			JumlahSelSertoli	JumlahSpermato gonium
PO-kontrol	1		10	55
	2		18	55
	3		17	53
	4		13	54
	5		13	55
		N	5	5
		Mean	14,20	54,40
		Median	13,00	55,00
	Total	Sum	71	272
		Std. Deviation	3,271	,894
		Std. Error of Mean	1,463	,400
		Variance	10,700	,800
	Perlakuan	1		11
2			13	54
3			13	53
4			13	54
5			12	55
		N	5	5
		Mean	12,40	54,20
		Median	13,00	54,00
Total		Sum	62	271
		Std. Deviation	,894	,837
		Std. Error of Mean	,400	,374
		Variance	,800	,700
Perlakuan 2		1		10
	2		11	51
	3		12	50
	4		10	53
	5		10	58
		N	5	5
	Total	Mean	10,60	52,40
	Median	10,00	51,00	

	Sum	53	262
	Std. Deviation	,894	3,362
	Std. Error of Mean	,400	1,503
	Variance	,800	11,300
1		10	39
2		9	39
3		6	39
4		9	40
5		9	38
Perlakuan 3	N	5	5
	Mean	8,60	39,00
	Median	9,00	39,00
Total	Sum	43	195
	Std. Deviation	1,517	,707
	Std. Error of Mean	,678	,316
	Variance	2,300	,500
	N	20	20
	Mean	11,45	50,00
	Median	11,00	53,00
Total	Sum	229	1000
	Std. Deviation	2,762	6,775
	Std. Error of Mean	,618	1,515
	Variance	7,629	45,895

a. Limited to first 100 cases.

ANOVA Test

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
JumlahSpermatogonium	Between Groups	818,800	3	272,933	82,085	,000
	Within Groups	53,200	16	3,325		
	Total	872,000	19			
JumlahSelSertoli	Between Groups	86,550	3	28,850	7,904	,002
	Within Groups	58,400	16	3,650		
	Total	144,950	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

JumlahSpermatogonium

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Perlakuan 3	5	39,00	
Perlakuan 2	5		52,40
Perlakuan 1	5		54,20
PO-kontrol	5		54,40
Sig.		1,000	,119

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

JumlahSelSertoli

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Perlakuan 3	5	8,60		
Perlakuan 2	5	10,60	10,60	
Perlakuan 1	5		12,40	12,40
PO-kontrol	5			14,20
Sig.		,117	,156	,156

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Lampiran 4. Pembuatan Sediaan Histopatologi Organ Testis

Proses pembuatan preparat histologi testis dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Fiksasi dan Pencucian

Tujuan : mencegah terjadinya degenerasi post mortem, mematikan bakteri, meningkatkan afinitas jaringan terhadap berbagai zat warna, membuat jaringan lebih keras sehingga mengawetkan bentuk semula dan mudah dipotong, meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan.

Reagen : formalin 10%.

Cara kerja : setelah hewan percobaan mati, segera dilakukan nekropsi, lalu organ testis diambil dan dimasukkan dalam formalin 10% selama 24 jam.

Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air kran.

2. Dehidrasi dan Clearing

Tujuan : untuk menarik air dari dalam jaringan dan membersihkan dan menjernihkan jaringan.

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

Cara kerja : organ testis yang telah dicuci dengan air kran selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke reagen dengan urutan alkohol 70%. 80%, 96%, alkohol absolut I, II, dan III, xylol I dan II, masing-masing selama 30 menit.

3. Infiltrasi

Tujuan : untuk menginfiltrasi dengan parafin. Parafin akan menembus ruang antar sel dan dalam sel sehingga jaringan lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : parafin I dan II.

Cara kerja : jaringan dimasukkan ke dalam parafin I dan II yang mencair kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam parafin I dan II dan dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit pada suhu 80°C.

4. Pembuatan Blok Parafin

Tujuan : untuk memudahkan pemotongan jaringan.

Reagen : parafin cair.

Cara kerja : beberapa cetakan besi yang telah diolesi gliserin dengan tujuan untuk mencegah lengketnya parafin dan cetakan, kemudian testis yang telah dipotong dimasukkan dengan pinset dan ditunggu hingga parafin membeku.

5. Pengirisan dan Mikrotom

Tujuan : agar jaringan mudah dipotong.

Cara kerja : blok parafin yang berisi potongan jaringan dilekatkan pada holder mikrotom lalu holder tersebut dieratkan pada mikrotom kemudian dilakukan pemotongan dengan ketebalan 4-6 mikron setelah itu dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 60°C sampai jaringan mengembang dengan baik. Hasil potongan diletakkan pada gelas object yang sebelumnya diolesi dengan albumin selanjutnya dikeringkan di atas *hot plate* dengan suhu 60°C.

6. Pewarnaan

Tujuan : untuk memudahkan melihat perubahan pada jaringan. Pada tahap ini digunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

Cara kerja : pewarnaan HE dilakukan dengan menggunakan metode Harris, yaitu jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam xylol I selama 3 menit dalam tempat khusus, xylol II, alkohol absolute I dan II, alkohol 96%,

80%, 70%, air kran masing-masing selama 1 menit, zat warna selama 5-10 menit, air kran selama 2-5 menit, acid alkohol sebanyak 3-10 celupan, air kran sebanyak 4-7 celupan, amoniak sebanyak 6 celupan, aquades secukupnya, zat warna eosin selama 15 menit, aquades selama 1-2 menit, alkohol 70% dan 80% selama 1-2 menit, kemudian diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa-sisa pewarnaan.

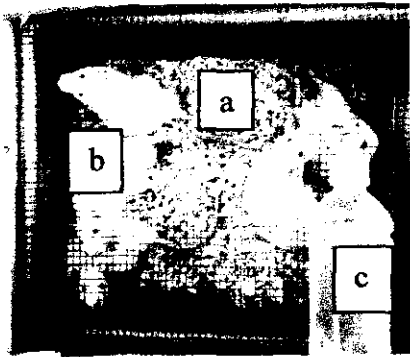
7. Penutupan dengan Cover Glass

Tujuan : mengawetkan sediaan secara permanen.

Cara kerja : jaringan yang telah diwarnai pada object glass dan ditutup dengan cover glass, yang sebelumnya ditetesi dengan Canada Balsam yang merupakan perekat transparan.

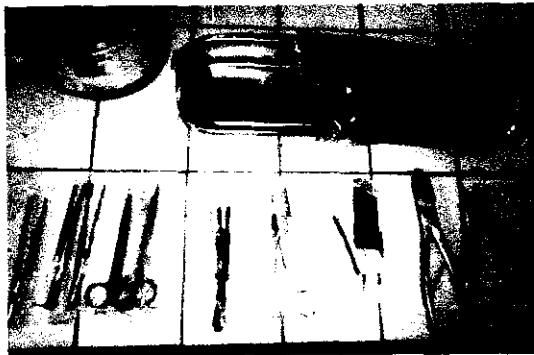
(Sumber : Jusuf, 2009)

Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.



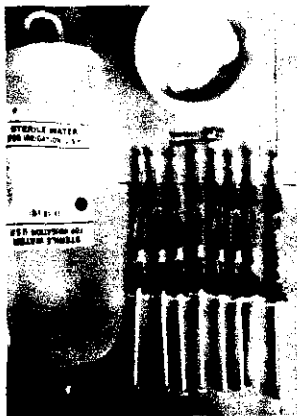
Keterangan:

- a. Serabut gergaji
- b. Hewan coba
- c. Tempat minum



Keterangan:

Peralatan bedah

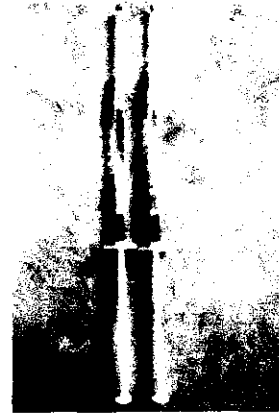


Keterangan:

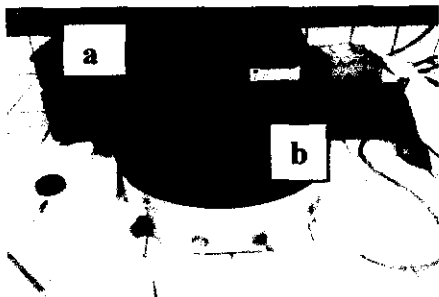
- a. Aquades steril
- b. Boraks
- c. *Syringe Injection*



Timbangan digital

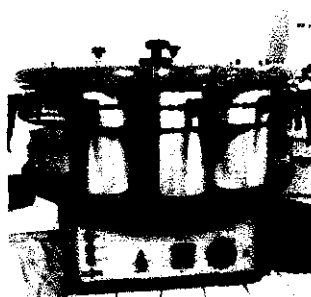


Syringe Sonde Lambung



Keterangan :

- a. Water plate (*Heraeus*)
- b. Water bath (*Medax*)



Auto stainer (*Bavimed*)



Mikrotom



Alat pemanas parafin



Inkubator (*memmert*)