

SKRIPSI

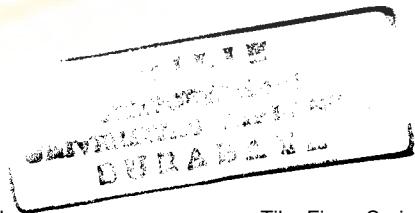
PENGARUH PEMBERIAN PERASAN BIJI LABU MERAH (*Cucurbita moschata*) TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS DAN KEUTUHAN MEMBRAN SPERMATOZOA SECARA *IN VITRO*



Oleh :

TIKA FIONA SARI
SURABAYA – JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005



**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN BIJI LABU MERAH
(*Cucurbita moschata*) TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS
DAN KEUTUHAN MEMBRAN SPERMATOZOA
SECARA *IN VITRO***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

TIKA FIONA SARI

NIM 069712378

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Dr. Wurlina, Drh, M.S.

Pembimbing pertama



Hj. Hasutji Endah N, Drh, M.P.

Pembimbing kedua

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

Menyetujui
Panitia Penguji,

Lilik Maslachah, Drh, M.Kes.

Ketua

Tri Wahyu Suprayogi, Drh, M.Si.

Sekretaris

Dr. Wurlina, Drh, M.S.

Anggota

Maslichah Mafruchati, Drh, M.Si.

Anggota

Hj. Hasutji Endah N, Drh, M.P.

Anggota

Surabaya, 10 Juni 2005

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh

NIP 130687297

PENGARUH PEMBERIAN PERASAN BIJI LABU MERAH *(Cucurbita moschata)* TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS DAN KEUTUHAN MEMBRAN SPERMATOZOA SECARA *IN VITRO*

Tika Fiona Sari

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian perasan biji labu merah terhadap kualitas spermatozoa dengan parameter motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa secara *in vitro*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Embriologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Bahan penelitian ini adalah semen segar domba ekor gemuk berumur ± 2 tahun, perasan biji labu merah, larutan Hank's, larutan HOS (*Hypo Osmotic Swelling*), NaCl fisiologis dan larutan eosin negrosin. Semen domba diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Penelitian ini menggunakan lima perlakuan, yaitu larutan Hank's sebagai kontrol (P1), perasan biji labu merah 1% (P2), perasan biji labu merah 3% (P3), perasan biji labu merah 10% (P4) dan perasan biji labu merah 30% (P5). Kemudian semen diberi perlakuan dan diperiksa motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa pada menit ke 30, 60, 90 dan 120. Data hasil penelitian dianalisis dengan uji F dengan menggunakan ANOVA interaksi dua faktor dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan apabila terdapat perbedaan nyata antara perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran spermatozoa mulai menurun pada perlakuan dengan menggunakan perasan biji labu merah 1%. Penurunan kualitas spermatozoa paling tinggi tampak pada perasan biji labu merah 30% dan berbeda nyata pada semua perlakuan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan tulisan ini yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga,

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

- ❖ Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya
Bapak Prof. Dr. Ismudiono, Drh, M.S.
- ❖ Ibu Dr Wurlina., Drh., M.S. selaku Dosen Pembimbing Pertama dan Ibu Hj. Hasutji Endang N, Drh, M.P. selaku Dosen Pembimbing Kedua atas bantuan, bimbingan, saran dan nasihat yang sangat berguna dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
- ❖ Ibu Maslichah Mafruchati, Drh., M.Si. atas bantuan, bimbingan dan konsultasinya yang sangat berguna dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
- ❖ Ayah, Ibu dan adikku Indra yang sudah memberi dukungan moral dan material kepada penulis.
- ❖ Mbak Elli, Mbak Anik dan khususnya Mbak Atik yang sudah bersedia untuk menganalisis data hasil penelitian.
- ❖ Tante Tutik, Mama Nanik dan Bu Sum yang sudah memberi dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.
- ❖ Bismo Ari Sulistyo atas dukungan tengah malamnya kepada penulis.

- ❖ Bapak Slamet, Bapak Bambang dan Bapak Leman yang membantu terlaksananya penelitian ini.
- ❖ Semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini baik langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis berharap adanya saran dan kritik yang bersifat membangun daripada pembaca guna perbaikan tulisan ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan pihak-pihak yang memerlukan.

Surabaya, Juni 2005

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Landasan Teori.....	3
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Hipotesis Penelitian.....	4
1.6. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tinjauan Tanaman Labu Merah (<i>Cucurbita moschata</i>).....	6
2.1.1. Klasifikasi Tanaman.....	6
2.1.2. Nama Daerah.....	6
2.1.3. Morfologi Tanaman	7
2.1.4. Kandungan Tanaman	7
2.1.5. Manfaat Tanaman.....	8
2.2. Tinjauan tentang Cucurbitasin	8
2.3. Spermatozoa.....	9
2.4. Plasma Semen	11

2.5. Metabolisme Spermatozoa.....	12
2.6. Membran Spermatozoa	14
BAB III MATERI DAN METODE.....	19
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2. Materi Penelitian	19
3.2.1. Bahan Penelitian.....	19
3.2.2. Alat Penelitian.....	20
3.3. Metode Penelitian.....	20
3.3.1. Persiapan Alat dan Bahan	20
3.3.2. Pembuatan Perasan Biji Labu Merah.....	21
3.3.3. Penampungan Semen	21
3.3.4. Perlakuan terhadap Semen Domba	22
3.4. Peubah yang diamati setelah perlakuan	24
3.4.1. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa.....	24
3.4.2. Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa.....	24
3.4.3. Pemeriksaan Keutuhan Membran Spermatozoa	24
3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	25
BAB IV HASIL PENELITIAN	26
4.1. Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan.....	26
4.2. Pemeriksaan Mikroskopis Semen Domba Setelah Perlakuan.....	27
4.2.1. Motilitas Spermatozoa	27
4.2.2. Viabilitas Spermatozoa	30
4.2.3. Keutuhan Membran Spermatozoa.....	33
BAB V PEMBAHASAN	37
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	42
6.1. Kesimpulan	42
6.2. Saran.....	42

RINGKASAN	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi Plasma Semen Domba	12
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Makroskopis Dan Mikroskopis Semen Domba Sebelum Perlakuan.....	26
Tabel 3. Rata-rata motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah pada selang waktu tertentu (%).....	27
Tabel 4. Rata-rata motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dengan konsentrasi yang berbeda (%).....	28
Tabel 5. Rata-rata motilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji labu merah (%).....	29
Tabel 6. Rata-rata viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah selama selang waktu tertentu (%)	30
Tabel 7. Rata-rata viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dengan konsentrasi yang berbeda (%).....	31
Tabel 8. Rata-rata viabilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji labu merah (%).....	32
Tabel 9. Rata-rata keutuhan membran spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dan HOS pada selang waktu tertentu (%)	33
Tabel 10. Rata-rata keutuhan membran spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dan HOS dengan konsentrasi yang berbeda (%).....	34
Tabel 11. Rata-rata keutuhan membran spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji labu merah dan HOS (%)	35
Tabel 12. Pemeriksaan motilitas spermatozoa (%)	48
Tabel 13. Pemeriksaan motilitas spermatozoa sesudah transformasi (%)	49
Tabel 14. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa (%)	54
Tabel 15. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa sesudah transformasi (%).....	55

Tabel 16. Pemeriksaan keutuhan membran spermatozoa (%)60

Tabel 17. Pemeriksaan keutuhan membran spermatozoa sesudah transformasi (%)..61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Spermatozoa	10
Gambar 2. Skema Rancangan Penelitian	23
Gambar 3. Labu Merah (<i>Cucurbita moschata</i>)	68
Gambar 4. Biji Labu Merah (<i>Cucurbita moschata</i>)	68
Gambar 5. Spermatozoa hidup dan mati	69
Gambar 6. Spermatozoa yang mengalami swelling	69
Gambar 7. Spermatozoa yang mengalami swelling	70
Gambar 8. Spermatozoa yang mengalami swelling	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa	48
Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa Sesudah Transformasi	49
Lampiran 3. Descriptive Statistics Motilitas Spermatozoa	50
Lampiran 4. Pengolahan Data Motilitas Spermatozoa Dengan SPSS	51
Lampiran 5. Rata-rata Motilitas Spermatozoa Perlakuan Kombinasi.....	53
Lampiran 6. Hasil Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa.....	54
Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa Sesudah Transformasi	55
Lampiran 8. Descriptive Statistics Viabilitas Spermatozoa.....	56
Lampiran 9. Pengolahan Data Viabilitas Spermatozoa Dengan SPSS	57
Lampiran 10. Rata-rata Viabilitas Spermatozoa Perlakuan Kombinasi.....	59
Lampiran 11. Hasil Pemeriksaan Keutuhan Membran Spermatozoa	60
Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan Keutuhan Membran Spermatozoa Sesudah Transformasi	61
Lampiran 13. Descriptive Statistics Keutuhan Membran Spermatozoa	62
Lampiran 14. Pengolahan Data Keutuhan Membran Spermatozoa Dengan SPSS.....	63
Lampiran 15. Rata-rata Keutuhan Membran Spermatozoa Perlakuan Kombinasi	65
Lampiran 16. Komposisi larutan Hank's (Hank's Balanced Salt Solution)	66
Lampiran 17. Komposisi larutan HOS (<i>Hypo Osmotic Swelling</i>)	67

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Peningkatan populasi penduduk secara global terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia merupakan masalah serius yang harus segera ditangani, karena laju pertambahan penduduk yang semakin cepat seringkali menimbulkan masalah-masalah yang serius dalam berbagai bidang, seperti bidang pendidikan, perumahan, pencemaran lingkungan, lapangan pekerjaan dan lain sebagainya. Oleh karena itu, metode kontrasepsi dan sterilisasi baru yang aman, efektif dan lebih ekonomis telah banyak dikembangkan untuk menekan peningkatan jumlah penduduk (Suri, 2004).

Pada dasarnya, pengendalian kesuburan pada pria jauh lebih sulit dibandingkan dengan wanita. Hal ini disebabkan jutaan sperma yang diproduksi harus dikendalikan agar tidak bisa membuahi ovum. Selain itu, dalam mencari bahan kontrasepsi yang ideal bagi pria selain harus mencegah terjadinya pembuahan juga harus bersifat tidak berbahaya bagi kesehatan pemakainya terutama potensi seks dan libido (Donaldson, 1984; Arsyad, 1986).

Menurut Sutarji (1983), tanaman banyak mengandung komponen yang dapat memberikan pengaruh baik pada hewan dan manusia. Indonesia terkenal kaya akan

sumber daya tanaman obat, mempunyai peluang untuk memperoleh bahan kontrasepsi untuk pria yang berasal dari tanaman.

Menurut Farnsworth dan Waller (1982), bahan aktif yang berkerja sebagai spermisida, salah satunya adalah glikosida flavonoid dan triterpen. Beberapa penelitian tentang tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat kontrasepsi untuk pria adalah *Gendarussa vulgaris ness* (Moesa dan Agus, 1985) serta *Luffa acutangula* (Purwaningsih, 1998). Kedua tanaman ini mempunyai kesamaan sifat yaitu sebagai spermisida.

Penelitian tentang tanaman oyong atau *Luffa acutangula* yang mengandung cucurbitacin diketahui dapat menghambat proses spermatogenesis pada anjing (Dixit, 1978) dan dapat menurunkan mobilitas dan viabilitas spermatozoa manusia secara *in vitro* (Purwaningsih, 1998). Salah satu kandungan biji labu merah adalah tanin dan cucurbitasin yang diketahui salah satu aktivitasnya sebagai spermatisida. Hal inilah yang mendasari peneliti untuk mengetahui pengaruhnya secara langsung terhadap spermatozoa secara *in vitro*. Oleh karena itu penelitian ini dirancang untuk membuktikan apakah biji labu merah (*Cucurbita moschata*) dapat bersifat spermicidal terhadap spermatozoa domba secara *in vitro* dengan parameter motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa, mengingat kandungan biji labu merah adalah cucurbitasin yang merupakan golongan triterpenoid.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan diatas, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan

1. Apakah perasan biji labu merah (*Cucurbita moschata*) berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa domba secara *in vitro*?
2. Apakah perasan biji labu merah (*Cucurbita moschata*) berpengaruh terhadap keutuhan membran spermatozoa domba secara *in vitro*?

1.3. Landasan Teori

Biji labu merah mengandung tanin yang bersifat sebagai astrigen sehingga dapat berpengaruh terhadap permeabilitas membran, karena dapat menyebabkan pengkerutan membran sel. Dengan adanya sifat astrigen maka tanin dapat menyebabkan transport nutrisi zat makanan melalui membran terganggu. Jeyendran dkk., (1984) menyatakan permeabilitas membran erat kaitanya dengan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Biji labu merah juga mengandung saponin dan tritepenoid yang dapat mempengaruhi membran sel, sehingga menyebabkan pengkerutan membran sel yang berakibat pada menurunnya integritas membran sel (Mitaine dkk., 2001).

Menurut Fransworth dan Waller (1982) tanaman yang berkhasiat sebagai spermatisida kebanyakan bekerja di permukaan spermatozoa, yaitu merusak lipid

yang ada di membran plasma, biasanya terjadi dalam akrosom dan bagian tengah ekor spermatozoa, sehingga mengakibatkan turunnya motilitas spermatozoa.

Menurut Borris dan Schaefer (1992) biji labu merah memiliki kandungan bahan aktif cucurbitin dan cucurbitasin yang berkhasiat sebagai obat cacing. Cucurbitasin merupakan senyawa glikosida triterpenoid yang mempunyai rasa terpahit yang terdapat terbatas pada biji berbagai Cucurbitaceae, namun dapat juga dideteksi pada suku lainnya termasuk Crucifera (Harborne, 1973).

1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh perasan biji labu merah (*Cucurbita moschata*) terhadap motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa domba secara *in vitro*.

1.5. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dilakukan dalam penelitian ini adalah

1. Perasan biji labu merah (*Cucurbita moschata*) dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa domba *in vitro*.
2. Perasan biji labu merah (*Cucurbita moschata*) dapat menurunkan keutuhan membran spermatozoa domba *in vitro*

1.6. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat memberi informasi ilmiah tentang pengembangan eksplorasi obat asal tanaman Indonesia yang berkhasiat sebagai antifertilitas pada pria.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tanaman Labu Merah (*Cucurbita moschata*)

2.1.1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi Labu merah menurut Gembong Tjitrosoepomo (1996) adalah sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta.
- Sub divisi : Angiospermae.
- Kelas : Dicotyledonae.
- Sub kelas : Sympetalae.
- Bangsa : Cucurbitales.
- Suku : Cucurbitaceae.
- Marga : Cucurbita.
- Jenis : *Cucurbita moschata*.

2.1.2. Nama Daerah

Di Indonesia tanaman labu merah dikenal dengan nama daerah diantaranya: labu parang di Sumatra, waluh di Sunda dan Jawa Tengah, labu kastela di Melayu, labu ambon di Maluku (Heyne, 1987; Sugati dan Hutapea, 1991).

2.1.3. Morfologi Tanaman

Habitus tanaman labu merah adalah tanaman herba satu tahun, menjalar dan mengeluarkan akar dari buku-buku batangnya, berambut kaku, kasar dan sangat rapat serta berbintik-bintik yang merupakan kelenjar. Alat pembelit belah dua.

Daunnya tunggal, bulat, bertangkai, tangkai berlubang, ujung runcing, tepi berombak, pangkal membulat, berbulu, panjang 7 – 36 cm, lebar 6 – 30 cm, beralur, pertulangan menyirip, berwarna hijau, dan sisi bawahnya mengandung kelenjar.

Buahnya besar berbentuk bola, beralur atau tanpa alur, warnanya kuning, keras dan berwarna kuning coklat. Daging buahnya tebal dan rasanya manis-manis hambar.

Biji labu merah gepeng panjang. Sebagian bulat di bagian lain memanjang, berbentuk botol atau peer, panjang 12 – 18 mm, tebal 2 mm. Warnanya kuning hampir putih. Kutikulum jika kering mengkerut, dalam air menjadi lebar dan mudah diambil (Sugati dan Hutapea, 1991; Heyne, 1987).

2.1.4. Kandungan Tanaman

Kandungan bahan penting di dalam biji labu merah antara lain cucurbitin, cucurbitasin, resin, stearin dan fitosterin (Heyne, 1987). Disamping itu biji labu merah juga mengandung saponin, flavonoid dan tanin (Sugati dan Hutapea, 1991).

Cucurbitasin bersifat sitotoksin, dapat mengganggu aktivitas enzim ATP-ase. Tanin bersifat astrigen sehingga dapat menyebabkan pengkerutan membran sel.

Saponin dan triterpenoid dapat mempengaruhi membran sel sehingga dapat menyebabkan pengkerutan membran sel.

2.1.5. Manfaat Tanaman

Menurut Sugati dan Hutapea (1991), biji labu merah dapat digunakan sebagai obat cacing (anthelmintik). Hal yang sama juga dikemukakan oleh Heyne (1987). Menurut Boris dan Schaeffer (1992) khasiatnya sebagai obat cacing diperankan oleh bahan aktif cucurbitin dan cucurbitasin.

2.2. Tinjauan tentang Cucurbitasin

Cucurbitasin bersifat sitotoksin sehingga dapat mengganggu aktivitas enzim ATP-ase yang berada dalam membran sel spermatozoa. Enzim ATP-ase di bagian tengah ekor (*middle piece*) spermatozoa dan berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan ion kalium. Zat tersebut dapat menyebabkan potensial membran spermatozoa berubah dan dapat menurunkan motilitas maupun viabilitas spermatozoa (Mitaine dkk., 2001)

Cucurbitasin mempunyai rasa pahit dan merupakan senyawa golongan triterpena. Cucurbitasin adalah glikosida triterpenoid (saponin) dengan kerangka karbon lanosterol. Cucurbitasin dapat larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter, serta bersifat sitotoksin (Robinson, 1995).

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu

skualena. Aktivitas fisiologik triterpenoid adalah berpijak pada kemampuannya berinteraksi terutama dengan sterol yang tedapat dalam membran sel (Anisimov dkk., 1978). Glikosida triterpena mempunyai kemampuan untuk membentuk kompleks dengan kolesterol yang mengakibatkan perubahan pada permeabilitas membran sel (Korolkovas dan Burckhalter, 1976)

2.3. Spermatozoa

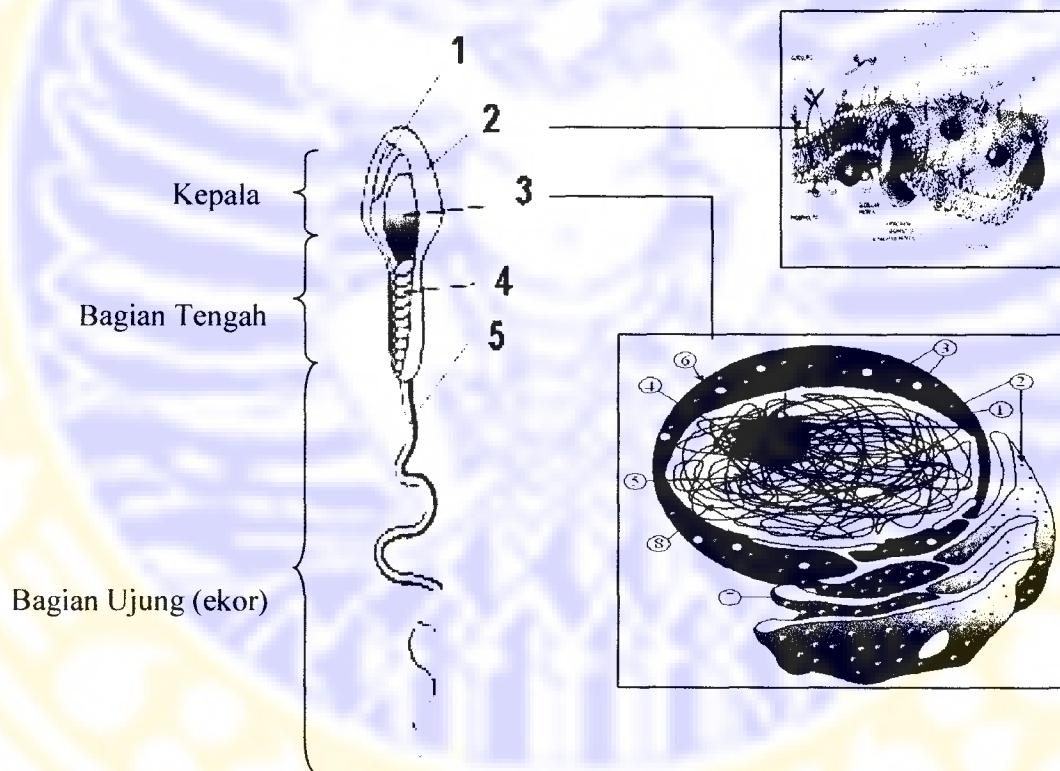
Semen terdiri dari dua bagian, sel spermatozoa atau disingkat sperma dan plasma semen. Sel spermatozoa dihasilkan oleh tubulus seminiferus di dalam testes, sedangkan plasma semen adalah campuran sekresi yang berasal dari epididimis (Ismudiono, 1999).

Menurut Bearden dan Fuquay (1992) spermatozoa terdiri dari kepala, leher dan ekor. Kepala spermatozoa mengandung nukleus yang berisi DNA, akrosome (sebagai pengikat protein dan karbohidrat) dan enzym hyaluronidase. Pada leher spermatozoa terdapat lipid (lipoprotein), cytocrome (untuk reaksi respirasi) dan plasmalogen. Sedangkan pada ekor spermatozoa mengandung plasmalogen dan protein keratin yang bersifat kontraktil.

Bagian tengah spermatozoa terdapat mitokondria sebagai tempat berlangsungnya proses-proses metabolisme spermatozoa dalam menghasilkan energi bagi kehidupan dan pergerakan spermatozoa (Dieleman dkk., 1992). Mitokondria mengandung sistem enzim yang menggerakkan siklus Krebs dan transport elektron

serta fosforilasi oksidatif yang menghasilkan energi dalam bentuk *Adenosin Triphosphate* (ATP) untuk menggerakkan spermatozoa (Hinting dan Marlinata, 1981).

Menurut Toelihere (1981) sekurang-kurangnya empat bahan organik di dalam air mani yang dapat direaksikan langsung atau tidak langsung sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa. Bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, *glicerylphosphorylcholine* (GPC) dan plasmalogen. Berikut ini adalah gambar anatomi dari spermatozoa:



Keterangan: (1) *acrosome*, (2) membran sel, (3) 1. *Nuclear envelope*; 2. *Ribosomes*; 3. *Nuclear pore complexes*; 4. *Nucleolus*; 5. *Chromatin*; 6. *Nucleus*; 7. *Endoplasmic reticulum*; 8. *Nucleoplasm*; seluruh struktur diselubungi oleh sitoplasma, (4) *mitochondria*, dan(5) *flagellum*(ekor)

Gambar 1. Spermatozoa

2.4. Plasma Semen

Sebagian besar volume semen terdiri dari plasma semen. Fungsi utama plasma semen adalah sebagai suatu media pembawa spermatozoa dari saluran reproduksi jantan ke dalam saluran reproduksi betina. Fungsi ini dapat dijalankan karena plasma semen mengandung bahan penyangga dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Ismudiono, 1999).

Menurut Hafez (1993) plasma semen mengandung nutrisi dan buffer untuk kapasitasi spermatozoa. Plasma semen mengandung bahan pengencer yang berfungsi untuk merangsang motilitas dan metabolisme spermatozoa dalam epididimis.

Plasma semen mengandung bermacam-macam zat organik, anorganik, dan air. Zat organik yang terdapat dalam plasma semen adalah phosphoril kholine, *glycerylphosphorylcholine*, asam sitrat, fruktosa, inositol, sorbitol, ergothionine, dan spermine. Zat-zat anorganik adalah K, Ca, dan bikarbonat (Partodihardjo, 1982).

Fruktosa merupakan gula yang ditemukan di dalam semen sapi, domba dan babi yang berasal dari glukosa darah. Konsentrasi fruktosa dalam semen sapi dan domba sangat tinggi dan merupakan makanan utama bagi spermatozoa. Sorbitol juga terdapat dalam semen dan dapat dioksidasi menjadi fruktosa oleh sel-sel spermatozoa untuk dikonsumsi kemudian. Asam sitrat tidak dipakai sebagai sumber energi oleh spermatozoa. Inositol dan asam sitrat tidak dimetabolisis oleh spermatozoa (Ismudiono, 1999).

Komposisi plasma semen domba secara lengkap dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Komposisi Plasma Semen Domba

Bahan	Konsentrasi (mg/100ml)
Air	85
Fruktosa	250
Sorbitol	72
Glycerylphosphorylcholine	1650
Inositol	12
Asam sitrat	140
Ergothionin	0
Plasmalogen	380
Natrium	190
Kalium	90
Klorida	86
Kalsium	11
Magnesium	8

Sumber: Bearden dan Fuquay (1992).

2.5. Metabolisme Spermatozoa

Energi untuk motilitas dan daya hidup spermatozoa berasal dari fruktosa, sorbitol dan *glycerylphosphorylcholine* (GPC). Fruktosa dan sorbitol dihasilkan oleh kelenjar vesicula seminalis sedangkan GPC diproduksi di dalam epididimis (Bearden dan Fuquay, 1992).

Energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan ATP di dalam selubung mitokondria melalui reaksi penguraiannya menjadi *Adenosin Diphosphat* (ADP) dan *Adenosin Monophosphat* (AMP). Kelangsungan pergerakan spermatozoa ini mengharuskan dibangunnya kembali ADP dari ATP (reaksi berlangsung bolak-balik). Usaha yang dilakukan untuk membangun kembali ATP

dari ADP maupun ADP dari ATP adalah dengan penambahan gugus phosphoril yang dapat diperoleh dari karbohidrat dan lemak (Toelihere, 1981).

Kehidupan sel spermatozoa di dalam semen sangat bergantung pada besarnya kadar fruktosa sebagai sumber energi yang utama. Dalam keadaan anaerobik, sel spermatozoa memakai karbohidrat sebagai sumber energi. Bila sel spermatozoa disimpan dalam keadaan anaerobik, maka kadar fruktosa dalam semen akan berkurang sedang kadar asam laktat akan bertambah. Sel spermatozoa pada mamalia sanggup mencerna beberapa zat yang ada di dalam cairan asesoris atau cairan yang ada di dalam alat kelamin betina dan cairan yang ada di dalam media bahan pengencer. Dalam keadaan aerobik sumber energi sel spermatozoa dapat juga diperoleh dengan jalan mengadakan oksidasi asam laktat menjadi CO_2 dan H_2O (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994),

Pemecahan ATP berguna sebagai sumber energi untuk kontraksi fibril-fibril sel spermatozoa. ATP dalam spermatozoa berhubungan dengan motilitas sel spermatozoa. Jika sel spermatozoa disimpan di dalam keadaan anaerobik dan tidak ada persediaan gula maka pergerakan sel spermatozoa menjadi lambat. Pergerakan tersebut kembali normal dengan penambahan fruktosa atau beberapa gula lain dalam semen. Pergerakan sel spermatozoa yang maksimal dicapai bila tersedia fruktosa dan oksigen bersama-sama dalam semen (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Ada korelasi positif antara motilitas sel spermatozoa dan kecepatan fruktolisis. Fruktosa dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa baik

dalam keadaan anaerobik maupun keadaan aerobik. Dalam keadaan anaerobik hasil proses fruktolisis berupa asam laktat tidak dioksidasi lebih lanjut. Sebaliknya dengan tersedianya cukup oksigen maka asam laktat dapat dioksidasi menjadi energi yang dapat digunakan sel spermatozoa (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

2.6. Membran Spermatozoa

Membran spermatozoa masing-masing daerah mempunyai fungsi yang khusus. Membran pada kepala spermatozoa berperan pada proses kapasitasi, reaksi akrosom dan penembusan zona pelusida ovum pada proses fertilisasi. Membran pada bagian belakang akrosom spermatozoa (*post acrosomal region*) berfungsi mengadakan kontak pertama dan menjadi satu dengan *oolema ovum* pada proses fertilisasi (*sperm egg recognition*). Membran pada bagian ekor spermatozoa berfungsi untuk mendapatkan substrat untuk energi serta pengantar gerakan gelombang bagi spermatozoa (Zanevelt, 1985; Darnell dkk., 1990; Subrata, 1998).

Membran kepala spermatozoa terdiri dari 2 lapisan fosfolipid yang susunannya sebagai berikut: lapisan fosfolipid hidrofobik membentuk permukaan membran bagian dalam dan lapisan fosfolipid hidrofilik ada di permukaan luar membran. Diantara dua lapisan fosfolipid hidrofilik dan hidrofobik terdapat protein globuler dan protein fibrous dengan distribusi yang bervariasi, ada yang terletak di permukaan luar dan ada yang sebagian masuk kedalam dua lapisan fosfolipid yang disebut sebagai protein integral. Protein-protein ini bersifat dinamis dan bergerak bebas diantara kedua lapisan fosfolipid tersebut. Sebagian besar karbohidrat yang

terdapat pada membran spermatozoa terletak diluar dua lapisan fosfolipid yang disebut glikokaliks, merupakan oligosakarida yang berikatan dengan protein dan membran lipid (Darnell dkk., 1990).

Fosfolipid pada spermatozoa merupakan suatu komponen membran yang berfungsi sebagai stabilisator. Penyerapan dan penyempurnaan fosfolipid terjadi selama proses maturasi di epididimis bersamaan dengan penyempurnaan struktur membran dan penyempurnaan sifat permeabilitas membran spermatozoa (Hafez dan Prasad, 1976).

Pengenalan antara spermatozoa dengan ovum (*sperm-egg-recognition*) melibatkan perlekatan membran spermatozoa dengan permukaan luar zona pelusida ovum. Hal ini merupakan fungsi kunci spermatozoa normal, selanjutnya diikuti dengan terjadinya perubahan sifat membran spermatozoa yang memegang peranan sangat penting pada reaksi akrosom, untuk terjadinya fusi spermatozoa dengan ovum. Apabila terjadi kerusakan dari membran spermatozoa maka akan terjadi kegagalan kemampuan spermatozoa untuk mengikat zona pelusida ovum, sehingga berakibat kegagalan proses fertilisasi (Subrata, 1998).

Kerusakan membran spermatozoa dapat disebabkan adanya peroksida asam lemak tak jenuh atau PUFA (*poly unsaturated fatty acid*) oleh oksigen reaktif dan radikal bebas yang terdapat pada plasma spermatozoa, sehingga fluiditas membran akan berkurang.

Adanya senyawa oksigen reaktif dalam plasma spermatozoa yaitu anion superoksida ($\bullet\text{O}_2$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksi ($\bullet\text{OH}$) hasil dari metabolisme sebagai produk antara dan proses fagositosis oleh sel-sel fagosit (neutrofil, monosit, makrofag) akan menyebabkan reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yaitu asam lemak tidak jenuh (PUFA = *poly unsaturated fatty acid*).

Senyawa oksigen rektif (SOR) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktifitas yang berbeda-beda. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktifitasnya, sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel. Setiap SOR yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang akan terus berlanjut sampai SOR itu dihilangkan oleh SOR yang lain atau sistem antioksidannya (Wijaya, 1996).

Siregar (1992) menjelaskan bahwa oksigen merupakan suatu unsur yang esensial, tetapi kelebihan oksigen dapat menyebabkan kerusakan peroksidatif. Oksigen yang masuk kedalam tubuh sebagian besar menuju ke mitokondria. Pada saat proses respirasi pada mitokondria, oksigen terlibat dalam pembentukan ATP. Dalam proses respirasi, oksigen mengalami reduksi dalam rangkaian transport elektron di dalam mitokondria. Proses reduksi oksigen tersebut dapat menghasilkan anion superoksida dan hidrogen peroksida sebagai zat antara.

Lass *et al.*, (1997) menyatakan bahwa produksi anion superoksida di dalam mitokondria diketahui mempunyai hubungan negatif (terbalik) dengan kemampuan

hidup sel secara maksimum pada mammalia. Reaksi anion superoksida dengan oksidan yang lain di lingkungan membran menghasilkan kerusakan membran yang tidak dapat dipulihkan seperti semula (*irreversible*).

Hidrogen peroksida dapat terbentuk dari berbagai proses, seperti proses dismutasi dari anion superoksida dan aktivitas enzim di organel peroksisom. Hidrogen peroksida dapat membentuk radikal hidroksil bila bertemu dengan logam transisi Fe^{2+} dan Cu^+ (reaksi Fenton). Hidrogen peroksida menjadi sangat berbahaya bila terdapat bersama dengan ion superoksida, karena akan membentuk senyawa radikal hidroksil melalui reaksi Haber Weiss dengan katalisator Fe^{3+} dan Cu^{2+} . Hidrogen peroksida dapat menembus membran sehingga dampak pengaruhnya tersebar luas (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Lipid adalah asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen utama dari membran sel. Peroksidasi lipid adalah reaksi autokatalitik yang mengakibatkan dekomposisi lipid membran (Hruszkewycz, 1992). SOR bersifat sangat reaktif, jika bereaksi dengan asam lemak tak jenuh akan menghasilkan peroksida lipid. Peroksidasi lipid yang berkepanjangan merusak struktur matrik lipid yang menyebabkan instabilitas membran, karena terputusnya rantai asam lemak tak jenuh menjadi senyawa yang toksik terhadap sel (Siregar, 1992).

Membran plasma spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh dan oleh karena itu rentan terhadap kerusakan peroksidasi (Jones *et al.*, 1993; Maxwell and Watson, 1996). Peroksidasi lipid secara menyeluruh sulit dihambat karena proses

metabolismenya sama-sama berhubungan dengan jalur metabolismik yang esensial. Membran plasma dan akrosom lebih sensitif dalam menghadapi peroksidasi lipid daripada inti dan bagian tengah spermatozoa (Hammerstedt, 1993).

Peroksidasi lipid dapat menghasilkan berbagai senyawa seperti hidroksi nonenal hidrokarbon (etana, pentana), isoprostan dan *malondialdehida* (MDA). MDA merupakan senyawa aldehid yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan molekul lain seperti protein maupun DNA, sehingga dapat mempengaruhi struktur dan fungsi dari molekul tersebut (Halliwell *and* Gutteridge, 1999). Peroksidasi lipid dapat menurunkan fungsi spermatozoa, MDA sebagai hasil akhir peroksidasi lipid mempunyai korelasi negatif dengan motilitas spermatozoa (Aitken *et al.*, 1994).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dimulai tanggal 11 April sampai dengan 31 April 2005.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Semen segar domba.
2. Perasan biji labu merah.
3. Larutan Hank's.
4. Pewarna eosin-negrosin.
5. Alkohol 70 %.
6. Vaseline.
7. Air hangat.
8. Larutan NaCl fisiologis.

3.2.2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Satu set vagina buatan untuk menampung semen.
2. Mikroskop.
3. Objek glass dan cover glass.
4. Pipet.
5. Tabung reaksi.
6. Tabung erlemeyer.
7. Gelas ukur.
8. Blender dan penyaring.
9. Timbangan.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Persiapan Alat dan Bahan

Sebelum penampungan semen, satu set vagina buatan yang terdiri dari selongsong karet tebal (*heavy rubber cylinder*) yang didalamnya terdapat karet tipis (*inner liner*), corong karet (*rubber funnel*) dan tabung penampungan air mani berskala dibersihkan dengan air bersih. Bagian-bagian vagina buatan setelah dibersihkan, kemudian dipasang dan diisi dengan air hangat hingga mencapai suhu $\pm 45^\circ\text{ C}$. Selanjutnya bagian dalam dari vagina buatan diolesi vaseline sebagai pelicin sejauh ± 5 cm dari ujung depan vagina buatan.

Pembuatan larutan hank's dan HOS (*Hypo Osmotic Swelling*) dilakukan sebelum pengambilan semen. Larutan ini kemudian disimpan dalam suhu 4° sampai 5° C agar tidak rusak. Komposisi larutan hank's dan HOS dapat dilihat pada lampiran 16 dan 17.

3.3.2. Pembuatan Perasan Biji Labu Merah

Biji labu merah dicuci kemudian diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering biji tersebut ditimbang sebanyak 1 gram, 3 gram, 10 gram dan 30 gram. Masing-masing hasil timbangan dihaluskan dan ditambah larutan NaCl fisiologis sampai volume 100 ml. Setiap hasil gerusan disaring dan diperas. Masing-masing hasil perasan ini merupakan biji labu merah dengan konsentrasi 1 %, 3 %, 10 % dan 30 %.

3.3.3. Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan pada pagi hari antara pukul 08.00 – 09.00 WIB. Frekuensi pengambilan semen dilakukan dua kali seminggu agar diperoleh semen yang baik (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Penampungan air mani menggunakan vagina buatan. Sebelum ditampung semennya, pejantan dipersiapkan dulu dengan mencukur bulu dan mencuci daerah sekitar prepatium agar semen terhindar dari kontaminasi kuman. Setelah itu pejantan dirangsang dengan berjalan-jalan mengelilingi hewan betina pemancing beberapa kali, agar menambah libidonya. Pejantan akan menaiki betina pemancing dan akan

berejakulasi pada saat penis dimasukkan ke dalam vagina buatan untuk ditampung semennya. Semen yang ditampung pada tabung berskala dihindarkan dari sinar matahari langsung untuk menjaga kualitas supaya tetap baik (Salisbury dan Vandemark, 1985).

3.3.4. Perlakuan terhadap Semen Domba

Semen hasil penampungan diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, konsistensi, bau dan warna semen. Pemeriksaan mikroskopis terdiri dari pemeriksaan gerakan massa, motilitas dan viabilitas spematozoa.

Setelah semen diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis, semen lalu diencerkan. Sampel semen kemudian dibagi ke dalam lima tabung reaksi yang berbeda. Dari kelima tabung reaksi tersebut, satu tabung digunakan untuk kontrol dan empat tabung lainnya digunakan untuk perlakuan. Perlakuan yang diberikan kepada masing-masing sampel ialah sebagai berikut:

P1 : 1 ml Semen + 1 ml larutan hank's (kontrol)

P2 : 1 ml Semen + 1 ml perasan biji labu merah 1 % (PBLM 1%)

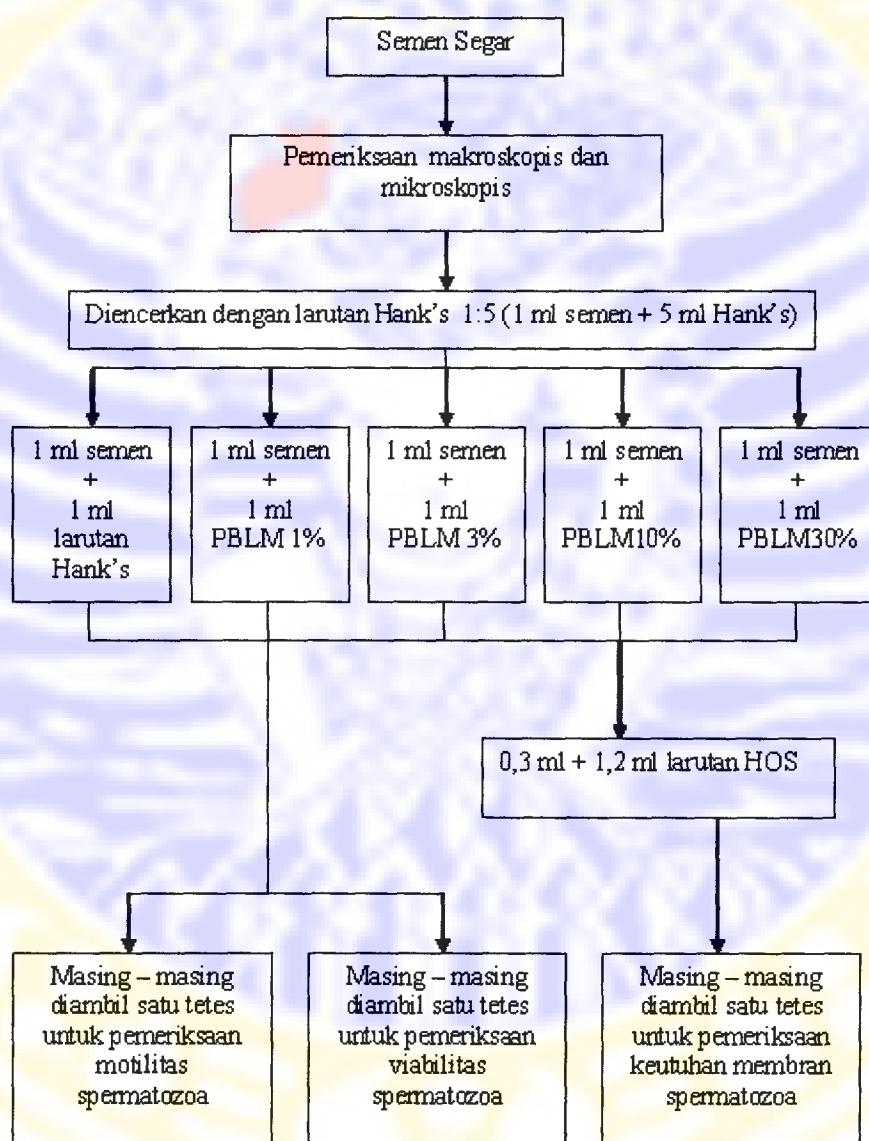
P3 : 1 ml Semen + 1 ml perasan biji labu merah 3 % (PBLM 3%)

P4 : 1 ml Semen + 1 ml perasan biji labu merah 10 % (PBLM 10%)

P5 : 1 ml Semen + 1 ml perasan biji labu merah 30 % (PBLM 30%)

Semua perlakuan diulang sebanyak lima kali.

Pemeriksaan motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa dilakukan pada menit ke 30, 60, 90 dan 120.



Gambar 2. Skema Rancangan Penelitian

3.4. Peubah yang diamati setelah perlakuan

3.4.1. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa

Cara pemeriksaan motilitas adalah dengan meneteskan semen domba di atas gelas objek kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Penilaian dilakukan berdasarkan persentase gerakan spermatozoa aktif (bergerak progresif) dibanding dengan seluruh spermatozoa yang tampak dalam lapangan pandang (Djanuar dkk., 1990).

3.4.2. Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa

Cara pemeriksaan jumlah spermatozoa yang hidup dan yang mati adalah dengan meneteskan satu tetes zat warna eosin negrosin dan satu tetes semen domba di atas gelas objek yang bersih. Secepatnya kedua larutan dicampurkan hingga homogen kemudian dibuat preparat ulas setipis mungkin dan dipanaskan di atas nyala api. Kemudian dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Cara penilaian adalah membandingkan spermatozoa yang hidup (tidak berwarna) dan spermatozoa yang mati (berwarna merah) terutama bagian kepalanya (Djanuar dkk., 1990).

3.4.3. Pemeriksaan Keutuhan Membran Spermatozoa

Integritas membran spermatozoa adalah keadaan membran plasma spermatozoa yang dievaluasi dengan *Hypo Osmotic Swelling Test* (HOST). Keutuhan membran spermatozoa dihitung dengan cara meneteskan satu tetes semen domba

yang sudah diinkubasi dengan HOS dari masing-masing perlakuan pada gelas objek yang bersih, kemudian ditambahkan zat warna eosin-negrosin dan dibuat preparat ulas. Langkah selanjutnya adalah melakukan pemeriksaan dan penghitungan minimal 100 sel spermatozoa dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang memiliki membran plasma yang utuh ditandai dengan ekor melingkar, sedangkan spermatozoa yang membran plasmanya rusak ditandai dengan ekor lurus (Hafez, 1993).

3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan SPSS two way ANOVA dan jika F_{hitung} lebih besar dari F_{table} maka H_0 ditolak dan H_a diterima, yaitu ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan dan waktu pengamatan. Jika ada beda yang bermakna, kemudian diteruskan dengan uji jarak berganda Duncan (Santoso, 2004).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Pemeriksaan Semen Domba Sebelum Perlakuan

Sebelum diberi perlakuan, semen domba diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan tersebut meliputi volume, warna, bau, konsistensi, gerakan massa, motilitas dan viabilitas spermatozoa. Hasil pemeriksaan semen domba sebelum perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Makroskopis Dan Mikroskopis Semen Domba Sebelum Perlakuan

Data Pemeriksaan	Ulangan				
	1	2	3	4	5
Volume	1 ml	1,1 ml	1,2 ml	1 ml	1 ml
Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
Bau	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik	Spesifik
Konsistensi	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat
Gerakan massa	+++	+++	+++	+++	+++
Motilitas	80	85	80	80	85
Viabilitas	90	95	95	95	95

Pemeriksaan gerakan massa spermatozoa domba dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Penilaian positif tiga pada kolom gerakan massa artinya spermatozoa yang digunakan sangat baik, merupakan gambaran

gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat (Hardijanto dkk., 1999).

Semen domba yang digunakan dalam penlitian ini telah memenuhi kriteria normal, yaitu volume antara 1 ml sampai dengan 1,2 ml, bau spesifik, konsistensi pekat, warna putih, motilitas antara 80% sampai dengan 85% dan kematian spermatozoa tidak melebihi 20%.

4.2. Pemeriksaan Mikroskopis Semen Domba Setelah Perlakuan

4.2.1. Motilitas Spermatozoa

Setelah semen domba diencerkan dan diberi perlakuan, maka dilakukan pemeriksaan terhadap motilitas spermatozoa. Hasil pemeriksaan motilitas spermatozoa dapat dilihat pada tabel 3, tabel 4 dan tabel 5.

Tabel 3. Rata-rata motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah pada selang waktu tertentu (%)

Waktu pengamatan	N	Motilitas spermatozoa Rataan ± SD
T1 (menit ke 30)	25	52,9052 ^a ± 5,5340
T2 (menit ke 60)	25	43,8684 ^b ± 8,58336
T3 (menit ke 90)	25	37,3368 ^c ± 8,47357
T4 (menit ke 120)	25	30,5248 ^d ± 6,43106

Berdasarkan hasil uji F didapatkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara keempat waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa.

Penurunan motilitas spermatozoa pada menit ke 30 berbeda sangat nyata dengan menit ke 60, 90 dan 120. Penurunan motilitas spermatozoa paling rendah terjadi pada menit ke 120, sehingga makin lama waktu pengamatan maka motilitas spermatozoa makin menurun.

Tabel 4. Rata-rata motilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dengan konsentrasi yang berbeda (%)

Perlakuan	N	Motilitas spermatozoa Rataan ± SD
P1 (Hank's)	20	50,6015 ^a ± 8,19373
P2 (PBLM 1%)	20	46,6130 ^b ± 8,26940
P3 (PBLM 3%)	20	41,7160 ^c ± 9,09201
P4 (PBLM 10%)	20	37,0285 ^d ± 8,51598
P5 (PBLM 30%)	20	30,3750 ^e ± 9,38267

Berdasarkan hasil uji F didapatkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kelima perlakuan terhadap motilitas spermatozoa.

Penurunan motilitas spermatozoa pada P2 berbeda sangat nyata dengan P1, P3, P4, dan P5. Pada tabel 4 dapat dilihat, bahwa makin besar konsentrasi perasan biji labu merah yang diberikan, maka motilitas spermatozoa semakin menurun. Penurunan motilitas spermatozoa terendah terjadi pada P5.

Tabel 5. Rata-rata motilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji labu merah (%)

Perlakuan Kombinasi	N	Motilitas spermatozoa Rataan ± SD
T1-P1	5	59,358 ^a ± 1,43556
T1-P2	5	56,790 ^b ± 0,0000
T2-P1	5	54,954 ^{bc} ± 1,36847
T1-P3	5	54,342 ^c ± 1,36847
T2-P2	5	50,190 ^d ± 1,29692
T1-P4	5	49,610 ^d ± 1,58840
T3-P1	5	47,296 ^e ± 1,28350
T3-P2	5	44,426 ^f ± 1,28350
T2-P3	5	44,426 ^f ± 1,28350
T1-P5	5	44,426 ^f ± 1,28350
T4-P1	5	38,638 ^g ± 1,32375
T2-P4	5	38,046 ^g ± 1,62126
T3-P3	5	37,454 ^g ± 1,62126
T4-P2	5	35,046 ^h ± 1,67603
T3-P4	5	33,210 ^{hi} ± 0,0000
T2-P5	5	31,726 ^{ij} ± 1,62765
T4-P3	5	30,642 ^j ± 1,43556
T4-P4	5	27,248 ^k ± 1,53841
T3-P5	5	24,298 ^l ± 2,06491
T4-P5	5	21,050 ^m ± 2,38259

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung interaksi > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara waktu pengamatan dengan perlakuan.

Penurunan motilitas spermatozoa pada T1-P1 berbeda sangat nyata dengan T1-P2, T2-P1, T1-P3, T2-P2 dan T1-P4. Pada T1-P2 tidak berbeda nyata dengan T2-P1 tetapi berbeda sangat nyata dengan T1-P3, T2-P2, T1-P4, T3-P1 dan T3-P4. Pada T2-P1 tidak berbeda nyata dengan T1-P3. Penurunan motilitas spermatozoa pada T4-P5 berbeda sangat nyata dengan T3-P4, T4-P4, T3-P5, T4-P3, T2-P5 dan T3-P4. Penurunan motilitas spermatozoa terendah terjadi pada T4-P5 seperti yang tertera pada tabel 5.

4.2.2. Viabilitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada tabel 6, tabel 7 dan tabel 8.

Tabel 6. Rata-rata viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah selama selang waktu tertentu (%)

Waktu pengamatan	N	Viabilitas spermatozoa Rataan ± SD
T1 (menit ke 30)	25	58,3024 ^a ± 5,60174
T2 (menit ke 60)	25	53,4704 ^b ± 5,10019
T3 (menit ke 90)	25	46,5420 ^c ± 6,76616
T4 (menit ke 120)	25	42,6596 ^d ± 7,48105

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara keempat waktu pengamatan terhadap viabilitas spermatozoa.

Penurunan viabilitas spermatozoa pada menit ke 30 berbeda sangat nyata dengan penurunan viabilitas spermatozoa pada menit ke 60, 90 dan 120. Penurunan viabilitas spermatozoa paling tinggi terjadi pada menit ke 120, sehingga makin lama waktu pengamatan , maka makin banyak pula spermatozoa yang mati.

Tabel 7. Rata-rata viabilitas spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dengan konsentrasi yang berbeda (%)

Perlakuan	N	Viabilitas spermatozoa Rataan ± SD
P1 (Hank's)	20	58,6070 ^a ± 5,51531
P2 (PBLM 1%)	20	54,5865 ^b ± 5,64036
P3 (PBLM 3%)	20	49,6365 ^c ± 6,40503
P4 (PBLM 10%)	20	46,5890 ^d ± 6,89855
P5 (PBLM 30%)	20	41,7990 ^e ± 7,74853

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kelima perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa.

Penurunan viabilitas spermatozoa pada P2 berbeda sangat nyata dengan P1, P3, P4 dan P5. Seperti halnya motilitas, ternyata viabilitas spermatozoa juga menurun akibat pemberian perasan biji labu merah (PBLM). Makin tinggi konsentrasi PBLM yang diberikan, maka makin banyak pula spermatozoa yang mati. Penurunan viabilitas spermatozoa terendah terjadi pada P5, yaitu perasan biji labu merah konsentrasi 30%.

Tabel 8. Rata-rata viabilitas spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji labu merah (%)

Perlakuan Kombinasi	N	Viabilitas spermatozoa Rataan ± SD
T1-P1	5	66,034 ^a ± 2,46305
T1-P2	5	62,040 ^b ± 0,97944
T2-P1	5	60,278 ^b ± 1,21444
T1-P3	5	58,064 ^c ± 1,35889
T2-P2	5	56,544 ^{cd} ± 0,70999
T1-P4	5	56,050 ^{cd} ± 1,10127
T3-P1	5	54,334 ^{de} ± 0,60500
T3-P2	5	52,778 ^{ef} ± 1,22781
T2-P3	5	52,066 ^f ± 1,28050
T1-P5	5	51,356 ^f ± 1,17125
T4-P1	5	51,040 ^f ± 1,08162
T2-P4	5	51,030 ^f ± 4,16944
T3-P3	5	48,406 ^g ± 3,64050
T4-P2	5	46,722 ^{gh} ± 0,70219
T3-P4	5	45,228 ^h ± 1,04234
T2-P5	5	42,704 ⁱ ± 1,34743
T4-P3	5	42,476 ^j ± 0,96246
T4-P4	5	38,288 ^j ± 1,36113
T3-P5	5	37,372 ^j ± 1,24323
T4-P5	5	32,062 ^k ± 1,38938

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung interaksi > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan dengan waktu pengamatan.

Penurunan viabilitas spermatozoa pada T1-P1 berbeda sangat nyata dengan T1-P2, T2-P1, T1-P3, T2-P2, T3-P1 dan T1-P4. Pada T1-P2 penurunan viabilitas spermatozoa tidak berbeda nyata dengan T2-P1 tetapi berbeda sangat nyata dengan T1-P3, T2-P2, T3-P1, T1-P4, T2-P3 dan T4-P1. Pada T1-P3 tidak berbeda nyata dengan T2-P2, T3-P1, tetapi berbeda sangat nyata dengan T1-P4 dan T2-P3. Pada T4-P1 penurunan viabilitas spermatozoa tidak berbeda nyata dengan T3-P2, T1-P5 dan T1-P4 tetapi berbeda sangat nyata dengan T4-P2, T2-P5, T3-P3.

Penurunan viabilitas spermatozoa paling rendah terjadi pada T4-P5 dan berbeda sangat nyata dengan T3-P5, T4-P4, T4-P3, T3-P4 dan T3-P3. Makin lama spermatozoa terpapar dengan bahan spermatisid, maka kualitas spermatozoa akan menurun.

4.2.3. Keutuhan Membran Spermatozoa

Hasil pemeriksaan keutuhan membran spermatozoa dengan *hypo osmotic swelling* (HOS) dapat dilihat pada tabel 9, tabel 10 dan tabel 11.

Tabel 9. Rata-rata keutuhan membran spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dan HOS pada selang waktu tertentu (%)

Waktu pengamatan	N	Keutuhan membran spermatozoa Rataan ± SD
T1 (menit ke 30)	25	46,6520 ^a ± 12,30726
T2 (menit ke 60)	25	42,2908 ^b ± 11,51534
T3 (menit ke 90)	25	37,2648 ^c ± 11,28739
T4 (menit ke 120)	25	29,7688 ^d ± 7,65773

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara keempat waktu pengamatan terhadap keutuhan membran spermatozoa.

Penurunan keutuhan membran spermatozoa pada menit ke 30 berbeda sangat nyata dengan menit ke 60, 90 dan 120. Penurunan keutuhan membran spermatozoa paling rendah terjadi pada menit ke 120, sehingga makin lama spermatozoa terpapar dengan perasan biji labu merah maka keutuhan membran spermatozoa makin menurun.

Tabel 10. Rata-rata keutuhan membran spermatozoa setelah diberi perasan biji labu merah dan HOS dengan konsentrasi yang berbeda (%)

Perlakuan	N	Keutuhan membran spermatozoa Rataan ± SD
P1 (Hank's)	20	55,7355 ^a ± 10,08270
P2 (PBLM 1%)	20	42,5835 ^b ± 6,26717
P3 (PBLM 3%)	20	38,1070 ^c ± 6,28817
P4 (PBLM 10%)	20	33,4770 ^d ± 6,93902
P5 (PBLM 30%)	20	25,0720 ^e ± 5,20423

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kelima perlakuan terhadap keutuhan membran spermatozoa.

Penurunan keutuhan membran spermatozoa pada P2 berbeda sangat nyata dengan P1,P3,P4 dan P5. Seperti halnya motilitas dan viabilitas, ternyata keutuhan membran spermatozoa juga menurun akibat pemberian perasan biji labu merah

(PBLM). Makin tinggi konsentrasi PBLM yang diberikan, maka ketuhan membran spermatozoa makin menurun.

Tabel 11. Rata-rata ketuhan membran spermatozoa perlakuan kombinasi setelah diberi perasan biji labu merah dan HOS (%)

Perlakuan Kombinasi	N	Keutuhan membran spermatozoa Rataan ± SD
T1-P1	5	67,104 ^a ± 0,62328
T2-P1	5	59,632 ^b ± 1,87326
T3-P1	5	55,812 ^c ± 1,65318
T1-P2	5	50,302 ^d ± 1,12398
T1-P3	5	46,032 ^e ± 1,02468
T2-P2	5	45,230 ^e ± 0,65341
T3-P2	5	40,740 ^f ± 1,81441
T2-P3	5	40,628 ^f ± 1,05336
T4-P1	5	40,394 ^f ± 1,23156
T2-P4	5	39,316 ^f ± 9,10981
T1-P4	5	37,700 ^{fg} ± 1,07485
T3-P3	5	35,928 ^{gh} ± 2,04918
T4-P2	5	34,062 ^{hi} ± 1,82847
T1-P5	5	32,122 ^{ij} ± 0,94449
T3-P4	5	30,784 ^j ± 0,84866
T4-P3	5	29,840 ^j ± 1,90949
T2-P5	5	26,648 ^k ± 0,70677
T4-P4	5	26,108 ^{kl} ± 1,41265
T3-P5	5	23,078 ^l ± 1,44058
T4-P5	5	18,440 ^m ± 0,00000

Berdasarkan hasil uji F didapatkan Fhitung interaksi > Ftabel (0,01), sehingga terdapat perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan dan waktu pengamatan.

Penurunan keutuhan membran spermatozoa pada T1-P1 berbeda sangat nyata dengan T2-P1, T3-P1, T1-P2, T1-P3, T2-P2 dan T3-P4. Pada T1-P3 tidak berbeda nyata dengan T2-P2 tetapi berbeda sangat nyata dengan T3-P2, T2-P3, T4-P1, T2-P4, T1-P4 dan T3-P3. Pada T3-P2 tidak berbeda nyata dengan T2-P3, T4-P1, T2-P4 dan T1-P4.

Penurunan keutuhan membran spermatozoa terendah terjadi pada T4-P5 dan berbeda nyata dengan T3-P5, T4-P4, T2-P5, T4-P3, T3-P4, T1-P5 dan T4-P2, sehingga makin tinggi konsentrasi perasan biji labu merah dan makin lama waktu pengamatan akan menurunkan kualitas spermatozoa.

BAB V PEMBAHASAN

Kualitas dan kuantitas air mani dipengaruhi oleh pakan (protein, mineral, vitamin), temperature dan musim, frekuensi pengambilan air mani, perlakuan terhadap pejantan, penyakit, transportasi, umur, herediter dan latihan (Hardijanto dan Harjoprajoto, 1994).

Menurut Hafez (1993) volume air mani per ejakulat berbeda-beda tergantung umur, kondisi hewan, frekuensi pengambilan, musim dan jumlah cairan yang diminum. Pada hewan muda atau terlalu tua, gemuk dan yang sudah lama tidak diambil air maninya akan menghasilkan volume yang rendah.

Hasil pemeriksaan mikroskopis spermatozoa domba sebelum pengenceran menunjukkan bahwa semen domba yang digunakan dalam penelitian ini memberikan hasil yang baik, yaitu motilitas sebesar $83 \pm 2,74\%$ dan viabilitas sebesar $94 \pm 2,24\%$. Pada pemeriksaan makroskopis semen domba didapatkan hasil sebagai berikut, volume semen antara 1 ml sampai dengan 1,2 ml, warna putih, bau khas untuk semen domba dan konsistensi pekat.

Penurunan motilitas spermatozoa mulai tampak pada P2 (dosis perasan biji labu merah 1%) dan berbeda sangat nyata dengan semua perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4. Pengamatan penurunan motilitas spermatozoa pada menit ke 30 berbeda sangat nyata dengan menit ke 60, 90 dan 120 (tabel 3).

Viabilitas spermatozoa mulai menurun pada menit ke 30 dan terdapat perbedaan yang sangat nyata dengan menit ke 60, 90 dan 120 (tabel 6). Penurunan viabilitas spermatozoa mulai terjadi pada P2 dan berbeda sangat nyata dengan tiap-tiap perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 7. Demikian juga halnya dengan keutuhan membran spermatozoa, sebagaimana yang terlihat dalam tabel 9 dan tabel 10. Ini berarti, bahwa zat yang bersifat anti fertilitas dalam perasan biji labu merah (PBLM) dengan dosis 1% tersebut sudah mampu menurunkan kualitas spermatozoa.

Penurunan motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran spermatozoa paling besar terjadi pada P5 menit ke 120. Hal ini menunjukkan, bahwa semakin besar dosis perasan biji labu merah yang diberikan maka persentase motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa makin menurun. Kualitas spermatozoa juga semakin menurun seiring dengan makin lamanya spermatozoa terpapar dengan bahan spermatisida.

Fransworth dan Waller (1982) menyatakan bahwa tanaman yang mempunyai efek sebagai spermisida adalah tanaman yang mengandung triterpene saponin, flavonoid dan phenol. Adanya penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa akibat pemberian perasan biji labu merah (PBLM) tersebut disebabkan oleh zat yang dikandung dalam perasan biji labu merah, khususnya yang bersifat sebagai anti fertilitas (terutama cucurbitasin) dapat bersifat toksin, sehingga dapat menurunkan motilitas atau bahkan dapat mematikan spermatozoa.

Cucurbitasin bersifat sitotoksin, sehingga dapat mengganggu aktivitas enzim ATP-ase yang berada dalam membran sel spermatozoa. Enzim ATP-ase ada di bagian tengah ekor (*middle piece*) spermatozoa dan berfungsi mempertahankan homeostatis internal untuk ion natrium dan ion kalium. Cucurbitasin dapat menyebabkan potensial membran spermatozoa berubah dan dapat menurunkan motilitas maupun viabilitas spermatozoa. Saponin dan tritepernoid dapat mempengaruhi membran sel sehingga dapat menyebabkan pengkerutan membran sel yang berakibat pada terjadinya penurunan integritas membran sel (Mitaine dkk., 2001).

Kemungkinan lain terjadinya penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa tersebut disebabkan oleh terganggunya permeabilitas spermatozoa sehingga transportasi zat makanan (nutrisi) bagi spermatozoa akan terganggu. Seperti diketahui permeabilitas membran erat kaitannya dengan transportasi nutrisi yang penting peranannya dalam metabolisme sel. Dengan terganggunya permeabilitas membran spermatozoa, maka kebutuhan nutrisi akan terganggu pula dan selanjutnya berakibat sel spermatozoa mati (Purwaningsih, 1998). Hal ini sesuai pendapat Jeyendran dkk., (1984) yang menyatakan, bahwa permeabilitas membran spermatozoa erat kaitannya dengan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Konsentrasi perasan biji labu merah berbanding lurus dengan efek spermatisida. Semakin besar konsentrasi perasan biji labu merah maka efek spermatisida semakin besar pula, sehingga dapat menurunkan kualitas spermatozoa yaitu dengan menurunkan motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa.

Beberapa test yang digunakan untuk mengevaluasi membran plasma adalah dengan teknik pewarnaan supravital (Evenson dkk., 1982; Garner dan Johnson, 1995) atau dengan *hypo osmotic swelling test* (Jeyendran dkk., 1984). Metode ini dapat dipakai untuk membedakan spermatozoa yang hidup, spermatozoa yang mati atau spermatozoa yang membrannya rusak tetapi tidak bisa dipakai untuk memonitor phase awal terjadinya kerusakan membran sel. Ketika spermatozoa terpapar dengan kondisi hipo osmotik maka air akan masuk ke dalam spermatozoa untuk mencapai keseimbangan osmotik, akibatnya volume spermatozoa meningkat dan membran plasma akan menggembung.

Tanin yang terdapat dalam biji labu merah diketahui bersifat sebagai astrigen, sehingga berpengaruh terhadap membran spermatozoa, karena dapat menyebabkan pengkerutan membran sel. Sifat astrigen pada tanin dapat menyebabkan transport nutrisi zat makanan melalui membran terganggu. Padahal transport nutrisi sangat diperlukan oleh spermatozoa untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi.

Membran spermatozoa seperti pada membran plasma yang lain yaitu terdiri dari dua lapis lipid (lipid bilayer) dan di antara kedua lapisan tersebut terdapat protein intergral dan protein intrinsik. Berdasarkan pada komposisi membran sel, maka penurunan yang terjadi terhadap keutuhan membran spermatozoa diduga disebabkan oleh tanin dan cucurbitasin yang dapat menyebabkan pengkerutan membran. Gangguan terhadap keutuhan membran spermatozoa dapat menyebabkan gangguan

integritas protein dan lipid bilayer spermatozoa, sehingga membran spermatozoa menjadi bocor dan integritas membran spermatozoa menjadi menurun. Walaupun belum diketahui secara pasti bagaimana cara kerjanya, kerusakan membran sel pada bagian kepala spermatozoa dapat menghambat enzim akrosin dan hialuronidase pada proses fertilisasi (Fransworth dan Waller, 1982)

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan perasan biji labu merah (*Cucurbita moschata*) yang diberikan pada semen domba secara *in vitro* mempunyai efek spermatisida, yaitu berpengaruh terhadap penurunan motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa.

6.2. Saran

Perlunya pengembangan dan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak biji labu merah (*Cucurbita moschata*) sebagai obat anti fertilitas secara *in vivo* dan efek sampingnya terhadap organ hati dan ginjal.

RINGKASAN

Tika Fiona Sari. Pengaruh pemberian perasan biji labu merah terhadap motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa domba secara *in vitro* dibawah bimbingan Dr. Wurlina, Drh, M.S., selaku dosen pembimbing pertama dan Hj. Hasutji Endah N, Drh, M.P. selaku dosen pembimbing kedua.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan efek spermatisida dari perasan biji labu merah terhadap motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa.

Penelitian ini menggunakan satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan dengan masing-masing lima ulangan. Kelompok kontrol (P1) berisi semen dalam larutan Hank's ditambah larutan Hank's. Kelompok perlakuan (P2, P3, P4 dan P5) masing-masing berisi semen dalam larutan Hank's ditambah perasan biji labu merah dengan konsentrasi berturut-turut, yaitu 1%, 3%, 10% dan 30%.

Hasil penelitian masing-masing kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok P2 (dosis 1%) sudah menunjukkan penurunan terhadap motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa. Penurunan terhadap motilitas, viabilitas dan keutuhan membran spermatozoa paling besar terjadi pada P5 (dosis 30%).

DAFTAR PUSTAKA

- Anisimov, M.M. , Shentsova, Schelov, V.V. , Strigina, L.I. , Shumilov Yu N and Chetyrina, N.S. , Elyakov, G.B. 1978. Mechanism of Cytotoxic Action of some Triterpena Glycosides, Toxin, 16. 20-218.
- Aitken, R.J., K.M. West and D.W. Buckingham. 1994. Leoukocyte Infiltration into The Human Ejaculate and Its Association with Semen Quality, Oxidative Stress and Sperm Function. J Androl. 15. 343-352.
- Arsyad, K.M., 1986. Kemungkinan pengembangan kontrasepsi Pria. MKI 4. 342-351.
- Bearden, J.H. and J. Fuquay. 1992. Applied Animal Reproduction 3rd Edition. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 136-137, 141.
- Borris, R.P. and J.M. Schaefer. 1992. Antiparasitic Agent from Plant In Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture. H.N. Nigg and D. Seigler. Plenum Press. New York
- Darnell, J.H. Lodish and Baltimore. 1990. Moleculer Cell Biology, Second Edition Sci. Am. Bokks. 491-527.
- Dixit, V.P.; Khana, P.; Bhargava, S.K. 1978. Effect of *Momordica charantia L.* fruit extract on the testicular function dog. Planta Medica of the Medicine Plant research. Vol 34. 280-286.
- Dieleman, S.J., B.C. Brander and P. Booman. 1992. Clinical Trends and Basic Research in Animal Reproduction. Elsevier. Amsterdam, London, New York, Tokyo.
- Djanuar, R. Haryati. Rachmawati, C. Tagama, Taswin, R. 1990. Dasar-Dasar Inseminasi Buatan pada Ternak Sapi.
- Donaldson, D. 1984. Male Contraception review. J. The Royal Society of Health 3.(2). 91-98.
- Evenson, D.P., Z. Darzynkiewicz. and M.R. Melamed. 1982. Simultaneous Measurement by Flow Cytometry of Sperm Cell Viability and Mitochondrial Membrane Potential Related to Cell Motility. J. Histochem. Cytochem. 30. 279-280

- Fransworth, N.R. and D.P.Waller. 1982. Current Status of Plant Products Reported Inhibit Sperm. Research Frontiers in Fertility Regulation. 2.1-16.[+Abstract]
- Garner, D.L. and L.A. Johnson. 1995. Viability Assesment Mamalian Sperm using SYBR-14 and Propidium Iodide. Biol.Reprod. 57.539-546
- Hafez, E.S.E. 1993. Reproduction in Farm Animal. 6th Edition. Lea. And Febiger. Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. dan Prasad, M.R.N. 1976. Functional aspect of the epididimis.In: Hafez ESE (Ed). Human Semen and Fertility Regulation In Men. St. Louis. The C.V. Mosby Comp.31-40.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1999. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford Univ Press. New York.
- Hammerstedt, H.R. 1993. Maintenance of Bioenergetic Balance in Sperm and Prevention of Lipid Peroxidation: A Review of The Effect on Design of Storage Preservation Systems. Reprod Fertil. 5. 675-690.
- Harbone, J.B. 1973. Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman and Hal. London. 147-148.
- Hardijanto dan Harjopranjoto. 1994. Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 34-36.
- Hardijanto. T. Sardjito, T. Hernawati, S. Susilowati, T.W. Suprayogi. 1999. penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 10
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Cetakan I. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Penerbit Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. 1817-1818.
- Hinting, A dan A. Marlinata. 1981. Beberapa Obat yang Meningkatkan Energi Spermatozoa. Editor Arsyad, K.M. Prosiding Seminar Spermatogenesis. Pengurus Besar Perkumpulan Andrologi Indonesia. Surabaya.
- Hruszkewycz, A.M. 1992. Lipid Peroxidation and mtDNA Degeneration. A Hypothesis. Mutation Research. 275. 243-248.
- Ismudiono. 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Edisi ke 2. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 27-29.

- Jones, R., T. Mann and R.J. Sherins. 1993. Damage to Ram Spermatozoa by Peroxidation of Endogeneous Phospholipids. *J Reprod Fertil.* 50. 261-268.
- Korolkovas, Andrejus and Burkhalter Joseph. 1976. *Essentials of Medicinal Chemistry*. New York: John Willy & Sons.
- Lass, A., S. Agarwal and R.S. Sohal. 1997. Mitochondrial ubiqinone homologues, superoxide radical generation, and longevity in different mammalian species. *J Biol Chem.* 272. 199-204.
- Maxwell, W.M.C. and P.T. Watson. 1996. Recent Progress in The Preservation of Ram Semen. *Anim Reprod Sci.* 42. 55-65.
- Mitaine, A.C., A. Marouf, B. Hanquet, N. Birlikaris and M.A. Lacaile. 2001. Two Triterpenoid and Saponins from *Achyranthes bidentata*. *Chem Pharm Bull.* 49. (11). 1492-1494.
- Jeyendran, R.S., Van der Ven, H.H., Perez-Pelaez. 1984. Development of an Assay to Assess the Functional Integrity of the Human Sperm Membrane and its Relationship to Other Semen Characteristics. *J. Reprod Fertil.* 70. 219-228 [abstract]
- Moeso, S. dan Agus, P. 1985. Laporan Perjalanan ke Jaya Pura Sentani (Irian Jaya). Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 19.
- Partodihardjo, S. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Purwaningsih, Endang. 1998. Efek Spermatisida Ekstrak Biji Oyong terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa *in vitro*. *Jurnal Kedokteran YARSI*. Vol 6. No 3. 17-27.
- Robinson, Trevor. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB.156-157.
- Salisbury, G.W. and. Vademark, N.L. 1985. *Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Diterjemahkan oleh Januar, R. Gadjah Mada University Press. Jakarta. 439-437.
- Santoso, Singgih. 2004. Mengatasi Berbagai Masalah Statistik Dengan SPSS Versi 11.5. Cetakan kedua. PT Elex Media Komputindo. Jakarta 305- 313.

- Siregar, P. 1992. Metabolit oksigen radikal bebas dan kerusakan jaringan. Cermin Dunia Kedokteran. 80. 112-115.
- Subrata. 1998. Pemberian Fosfolipid Essensial dan Anti Oksida (Vitamin E) Meningkatkan Integritas Membran Spermatozoa. Disertasi. Unair. Surabaya. 2-7.
- Sugati, Sri dan J.R. Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Dep. Kes. R.I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Jakarta.
- Suri, A. 2004. Sperm Spesific Protein Potential Candidate Moleculer for Fertility Control. National Institute of Imunology. New Delhi. India.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 1996. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta.). Gadjah Mada University Press. 379-380.
- Toelihere, M.R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. 108-122.
- Wijaya, A. 1996. Radical bebas dan parameter status antioksidan. Forum diagnostikum prodia diagnostics education services. 1-12.
- Zanevelt, L.J.D. 1985. The Biology of Human Spermatozoa In Proceeding Pandi Congress Pandi. Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa

Tabel 12. Pemeriksaan motilitas spermatozoa (%)

Perlakuan	Ulangan	Motilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	75	70	55	40
	2	75	65	55	40
	3	70	65	55	40
	4	75	65	55	40
	5	75	70	50	35
P2	1	70	60	50	35
	2	70	60	50	35
	3	70	60	50	35
	4	70	60	50	30
	5	70	55	45	30
P3	1	70	50	35	30
	2	65	50	40	25
	3	65	50	40	25
	4	65	50	35	25
	5	65	45	35	25
P4	1	60	40	30	20
	2	55	40	30	20
	3	60	40	30	20
	4	55	35	30	25
	5	60	35	30	20
P5	1	50	30	20	15
	2	50	30	20	15
	3	50	30	15	15
	4	50	25	15	10
	5	45	25	15	10

Lampiran 2. Hasil Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa Sesudah Transformasi**Tabel 13. Pemeriksaan motilitas spermatozoa sesudah transformasi (%)**

Perlakuan	Ulangan	Motilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	60,00	56,79	47,87	39,23
	2	60,00	53,73	47,87	39,23
	3	56,79	53,73	47,87	39,23
	4	60,00	53,73	47,87	39,23
	5	60,00	56,79	45,00	36,27
P2	1	56,79	50,77	45,00	36,27
	2	56,79	50,77	45,00	36,27
	3	56,79	50,77	45,00	36,27
	4	56,79	50,77	45,00	33,21
	5	56,79	47,87	42,13	33,21
P3	1	56,79	45,00	36,27	33,21
	2	53,73	45,00	39,23	30,00
	3	53,73	45,00	39,23	30,00
	4	53,73	45,00	36,27	30,00
	5	53,73	42,13	36,27	30,00
P4	1	50,77	39,23	33,21	26,56
	2	47,87	39,23	33,21	26,56
	3	50,77	39,23	33,21	26,56
	4	47,87	36,27	33,21	30,00
	5	50,77	36,27	33,21	26,56
P5	1	45,00	32,21	26,56	22,79
	2	45,00	33,21	26,56	22,79
	3	45,00	33,21	22,79	22,79
	4	45,00	30,00	22,79	18,44
	5	42,13	30,00	22,79	18,44

Lampiran 3. Descriptive Statistics Motilitas Spermatozoa

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Persentase Motilitas (%)

Waktu pengamatan (menit)	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
T1 (Menit ke-30)	P1	59.3580	1.43556	5
	P2	56.7900	.00000	5
	P3	54.3420	1.36847	5
	P4	49.6100	1.58840	5
	P5	44.4260	1.28350	5
	Total	52.9052	5.55340	25
T2 (Menit ke-60)	P1	54.9540	1.67603	5
	P2	50.1900	1.29692	5
	P3	44.4260	1.28350	5
	P4	38.0460	1.62126	5
	P5	31.7260	1.62765	5
	Total	43.8684	8.58336	25
T3 (Menit ke-90)	P1	47.2960	1.28350	5
	P2	44.4260	1.28350	5
	P3	37.4540	1.62126	5
	P4	33.2100	.00000	5
	P5	24.2980	2.06491	5
	Total	37.3368	8.47357	25
T4 (Menit ke-120)	P1	38.6380	1.32375	5
	P2	35.0460	1.67603	5
	P3	30.6420	1.43556	5
	P4	27.2480	1.53841	5
	P5	21.0500	2.38259	5
	Total	30.5248	6.43106	25
Total	P1	50.0615	8.19373	20
	P2	46.6130	8.26940	20
	P3	41.7160	9.09201	20
	P4	37.0285	8.51598	20
	P5	30.3750	9.38267	20
	Total	41.1588	11.03228	100

Lampiran 4. Pengolahan Data Motilitas Spermatozoa Dengan SPSS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persentase Motilitas (%)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11871.924 ^a	19	624.838	281.631	.000
Intercept	169404.682	1	169404.682	76355.036	.000
WAKTU	6825.237	3	2275.079	1025.436	.000
PRLAKUAN	4853.331	4	1213.333	546.880	.000
WAKTU * PRLAKUAN	193.356	12	16.113	7.263	.000
Error	177.492	80	2.219		
Total	181454.097	100			
Corrected Total	12049.415	99			

a. R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .982)

Post Hoc Test

Pengamatan motilitas spermatozoa pada menit ke (%)

Persentase Motilitas (%)

Waktu pengamatan (menit)	N	Subset			
		1	2	3	4
T4 (Menit ke-120)	25	30.5248			
T3 (Menit ke-90)	25		37.3368		
T2 (Menit ke-60)	25			43.8684	
T1 (Menit ke-30)	25				52.9052
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.219.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

b. Alpha = .05.

Post Hoc Test

Pengamatan motilitas spermatozoa sesudah diberi perlakuan

Percentase Motilitas (%)

Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
P5	20	30.3750				
P4	20		37.0285			
P3	20			41.7160		
P2	20				46.6130	
P1	20					50.0615
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.219.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 5. Rata-rata Motilitas Spermatozoa Perlakuan Kombinasi

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T4-P5	5	21.050												
T3-P5	5		24.298											
T4-P4	5			27.248										
T4-P3	5				30.642									
T2-P5	5					31.726								
T3-P4	5						33.210							
T4-P2	5							35.046						
T3-P3	5								37.454					
T2-P4	5									38.046				
T4-P1	5									38.638				
T1-P5	5										44.426			
T2-P3	5											44.426		
T3-P2	5											44.426		
T3-P1	5												47.296	
T1-P4	5													49.610
T2-P2	5													50.190
T1-P3	5													
T2-P1	5													
T1-P2	5													
T1-P1	5													
Sig.		1.000	1.000	1.000	.253	.119	.055	.241	1.000	1.000	.540	.518	.055	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 6. Hasil Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa**Tabel 14. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa (%)**

Perlakuan	Ulangan	Viabilitas spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	80	75	70	60
	2	80	76	70	65
	3	85	75	68	63
	4	85	78	70	63
	5	87	73	66	60
P2	1	78	68	62	55
	2	78	71	63	53
	3	80	69	62	50
	4	78	70	60	55
	5	76	70	58	51
P3	1	70	65	53	45
	2	72	65	50	47
	3	73	63	50	47
	4	70	64	51	46
	5	75	60	48	43
P4	1	66	60	50	41
	2	67	60	46	40
	3	67	55	45	38
	4	65	57	44	38
	5	65	53	45	35
P5	1	60	55	39	30
	2	61	53	40	29
	3	63	52	38	27
	4	58	53	39	30
	5	60	52	35	25

Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa Sesudah Transformasi**Tabel 15. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa sesudah transformasi (%)**

Perlakuan	Ulangan	Spermatozoa hidup pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	63,44	60,00	56,79	50,77
	2	63,44	60,67	56,79	53,73
	3	67,21	60,00	55,55	52,53
	4	67,21	62,03	56,79	52,53
	5	68,87	58,69	54,33	50,77
P2	1	62,03	55,55	51,94	47,87
	2	62,03	57,42	52,53	46,72
	3	63,44	56,17	51,94	45,00
	4	62,03	56,79	50,77	47,87
	5	60,67	56,79	49,60	54,57
P3	1	56,79	53,73	46,72	42,13
	2	58,05	53,73	45,00	43,28
	3	58,69	52,53	45,00	43,28
	4	56,79	53,13	45,57	42,71
	5	60,00	50,77	43,85	40,98
P4	1	54,33	50,77	45,00	39,82
	2	54,94	50,77	42,71	39,23
	3	54,94	57,87	42,13	38,06
	4	53,73	49,02	41,55	38,06
	5	53,73	46,72	42,13	36,27
P5	1	50,77	47,87	36,65	33,21
	2	51,53	46,72	39,23	32,58
	3	52,53	46,15	38,06	31,31
	4	49,60	46,72	36,65	33,21
	5	50,77	46,15	36,27	30,00

Lampiran 8. Descriptive Statistics Viabilitas Spermatozoa

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Spermatozoa Hidup (%)

Waktu pengamatan (menit)	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
T1 (Menit ke-30)	P1	66.0340	2.46305	5
	P2	62.0400	.97944	5
	P3	58.0640	1.35889	5
	P4	54.3340	.60500	5
	P5	51.0400	1.08162	5
	Total	58.3024	5.60174	25
T2 (Menit ke-60)	P1	60.2780	1.21444	5
	P2	56.5440	.70999	5
	P3	52.7780	1.22781	5
	P4	51.0300	4.16944	5
	P5	46.7220	.70219	5
	Total	53.4704	5.10019	25
T3 (Menit ke-90)	P1	56.0500	1.10127	5
	P2	51.3560	1.17125	5
	P3	45.2280	1.04234	5
	P4	42.7040	1.34743	5
	P5	37.3720	1.24323	5
	Total	46.5420	6.76616	25
T4 (Menit ke-120)	P1	52.0660	1.28050	5
	P2	48.4060	3.64050	5
	P3	42.4760	.96246	5
	P4	38.2880	1.36113	5
	P5	32.0620	1.38938	5
	Total	42.6596	7.48105	25
Total	P1	58.6070	5.51531	20
	P2	54.5865	5.64036	20
	P3	49.6365	6.40503	20
	P4	46.5890	6.89855	20
	P5	41.7990	7.74853	20
	Total	50.2436	8.69442	100

Lampiran 9. Pengolahan Data Viabilitas Spermatozoa Dengan SPSS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Spermatozoa Hidup (%)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7250.078 ^a	19	381.583	130.664	.000
Intercept	252441.934	1	252441.934	86442.637	.000
WAKTU	3664.385	3	1221.462	418.260	.000
PRLAKUAN	3476.864	4	869.216	297.642	.000
WAKTU * PRLAKUAN	108.830	12	9.069	3.106	.001
Error	233.627	80	2.920		
Total	259925.640	100			
Corrected Total	7483.706	99			

a. R Squared = .969 (Adjusted R Squared = .961)

Post Hoc Test

Pengamatan viabilitas spermatozoa pada menit ke (%)

Spermatozoa Hidup (%)

Duncan^{a,b}

Waktu pengamatan (menit)	N	Subset			
		1	2	3	4
T4 (Menit ke-120)	25	42.6596			
T3 (Menit ke-90)	25		46.5420		
T2 (Menit ke-60)	25			53.4704	
T1 (Menit ke-30)	25				58.3024
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.920.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

b. Alpha = .05.

Post Hoc Test

Pengamatan viabilitas spermatozoa sesudah diberi perlakuan (%)

Spermatozoa Hidup (%)

Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
P5	20	41.7990				
P4	20		46.5890			
P3	20			49.6365		
P2	20				54.5865	
P1	20					58.6070
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.920.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 10. Rata-rata Viabilitas Spermatozoa Perlakuan Kombinasi

Spermatozoa Hidup (%)

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
T4-P5	5	32.062											
T3-P5	5		37.372										
T4-P4	5			38.288									
T4-P3	5				42.476								
T3-P4	5					42.704							
T3-P3	5						45.228						
T2-P5	5							46.722					
T4-P2	5								48.406				
T2-P4	5									51.030			
T1-P5	5										51.040		
T3-P2	5										51.356		
T4-P1	5										52.066		
T2-P3	5								52.778		52.778		
T1-P4	5									54.334			
T3-P1	5										56.050		
T2-P2	5											56.544	
T1-P3	5											58.064	
T2-P1	5												60.278
T1-P2	5												62.040
T1-P1	5												66.034
Sig.		1.000	.399	.833	.171	.123	.155	.154	.056	.081	.107	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 11. Hasil Pemeriksaan Keutuhan Membran Spermatozoa

Tabel 16. Pemeriksaan keutuhan membran spermatozoa (%)

Perlakuan	Ulangan	Keutuhan membrane spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	85	76	70	43
	2	85	77	68	45
	3	86	70	69	42
	4	83	76	71	40
	5	84	73	64	40
P2	1	59	50	40	35
	2	57	52	46	30
	3	60	51	46	28
	4	62	49	40	30
	5	58	50	41	34
P3	1	50	42	31	27
	2	53	42	35	25
	3	50	40	33	28
	4	52	43	35	21
	5	54	45	30	23
P4	1	37	30	25	20
	2	38	30	26	17
	3	35	33	28	20
	4	37	31	27	18
	5	40	35	25	22
P5	1	30	20	15	10
	2	28	21	18	10
	3	29	21	16	10
	4	30	20	15	10
	5	26	20	13	10

Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan Keutuhan Membran Spermatozoa Sesudah Transformasi

Tabel 17. Pemeriksaan keutuhan membran spermatozoa sesudah transformasi (%)

Perlakuan	Ulangan	Keutuhan membrane spermatozoa pada menit ke- (%)			
		30	60	90	120
P1	1	67,21	60,67	56,79	40,98
	2	67,21	61,34	55,55	42,13
	3	68,03	56,79	56,17	40,40
	4	66,65	60,67	57,42	39,23
	5	66,42	58,69	53,13	39,23
P2	1	50,18	45,00	39,23	36,27
	2	49,02	46,15	42,71	33,21
	3	50,77	45,57	42,71	31,95
	4	51,94	44,43	39,23	33,21
	5	49,60	45,00	39,82	35,67
P3	1	45,00	40,40	38,83	31,31
	2	46,72	40,40	36,27	30,00
	3	45,00	39,23	35,06	31,95
	4	46,15	40,98	36,27	27,28
	5	47,29	42,13	33,21	28,66
P4	1	37,47	33,21	30,00	26,56
	2	38,06	33,21	30,66	24,35
	3	36,27	35,06	31,95	26,56
	4	37,47	38,83	31,31	25,10
	5	39,23	36,27	30,00	27,97
P5	1	33,21	25,56	22,79	18,44
	2	31,95	27,28	25,10	18,44
	3	32,58	27,28	23,58	18,44
	4	32,21	26,56	22,79	18,44
	5	30,66	26,56	21,13	18,44

Lampiran 13. Descriptive Statistics Keutuhan Membran Spermatozoa

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Keutuhan membran Sp (%)

Waktu pengamatan (menit)	Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
T1 (Menit ke-30)	P1	67.1040	.62328	5
	P2	50.3020	1.12398	5
	P3	46.0320	1.02468	5
	P4	37.7000	1.07485	5
	P5	32.1220	.94449	5
	Total	46.6520	12.30726	25
T2 (Menit ke-60)	P1	59.6320	1.87326	5
	P2	45.2300	.65341	5
	P3	40.6280	1.05336	5
	P4	39.3160	9.10981	5
	P5	26.6480	.70677	5
	Total	42.2908	11.51534	25
T3 (Menit ke-90)	P1	55.8120	1.65318	5
	P2	40.7400	1.81441	5
	P3	35.9280	2.04918	5
	P4	30.7840	.84866	5
	P5	23.0780	1.44058	5
	Total	37.2684	11.28739	25
T4 (Menit ke-120)	P1	40.3940	1.23156	5
	P2	34.0620	1.82847	5
	P3	29.8400	1.90949	5
	P4	26.1080	1.41265	5
	P5	18.4400	.00000	5
	Total	29.7688	7.65773	25
Total	P1	55.7355	10.08270	20
	P2	42.5835	6.26717	20
	P3	38.1070	6.28817	20
	P4	33.4770	6.93902	20
	P5	25.0720	5.20423	20
	Total	38.9950	12.40020	100

Lampiran 14. Pengolahan Data Keutuhan Membran Spermatozoa Dengan SPSS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Keutuhan membran Sp (%)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14755.504 ^a	19	776.605	132.975	.000
Intercept	152061.002	1	152061.002	26036.864	.000
WAKTU	3939.897	3	1313.299	224.871	.000
PRLAKUAN	10364.169	4	2591.042	443.655	.000
WAKTU * PRLAKUAN	451.438	12	37.620	6.442	.000
Error	467.218	80	5.840		
Total	167283.724	100			
Corrected Total	15222.721	99			

a. R Squared = .969 (Adjusted R Squared = .962)

Post Hoc Test

Pengamatan keutuhan membran spermatozoa pada menit ke (%)

Keutuhan membran Sp (%)

Duncan^{a,b}

Waktu pengamatan (menit)	N	Subset			
		1	2	3	4
T4 (Menit ke-120)	25	29.7688			
T3 (Menit ke-90)	25		37.2684		
T2 (Menit ke-60)	25			42.2908	
T1 (Menit ke-30)	25				46.6520
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5.840.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

b. Alpha = .05.

Post Hoc Test

Pengamatan keutuhan membran spermatozoa sesudah diberi perlakuan (%)

Keutuhan membran Sp (%)

Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
P5	20	25.0720				
P4	20		33.4770			
P3	20			38.1070		
P2	20				42.5835	
P1	20					55.7355
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 5.840.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 15. Rata-rata Keutuhan Membran Spermatozoa Perlakuan Kombinasi

Keutuhan membran Sp (%)

Perlakuan Kombinasi	N	Subset for alpha = .05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T4-P5	5	18.440												
T3-P5	5		23.078											
T4-P4	5		26.108	26.108										
T2-P5	5			26.648										
T4-P3	5				29.840									
T3-P4	5					30.784								
T1-P5	5					32.122	32.122							
T4-P2	5						34.062	34.062						
T3-P3	5							35.928	35.928					
T1-P4	5								37.700	37.700				
T2-P4	5									39.316				
T4-P1	5									40.394				
T2-P3	5									40.628				
T3-P2	5									40.740				
T2-P2	5										45.230			
T1-P3	5										46.032			
T1-P2	5											50.302		
T3-P1	5												55.812	
T2-P1	5													59.632
T1-P1	5													67.104
Sig.		1.000	.051	.725	.163	.208	.226	.250	.079	.601	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 16. Komposisi larutan Hank's (Hank's Balanced Salt Solution)

Larutan Hank's	mg/l Hank's
CaCl ₂ 2H ₂ O	1855
KCl	400
KH ₂ PO ₄	60
MgSO ₄ 7H ₂ O	200
NaCl	8000
NaHCO ₃	350
Na ₂ HPO ₄	47,5
D. glukosa	1000
Phenol Red Sodium sol	17

Sumber : Biochemical Organic Compounds for Research and Diagnostic Reagents. 1984. Sigma Chemical Company.

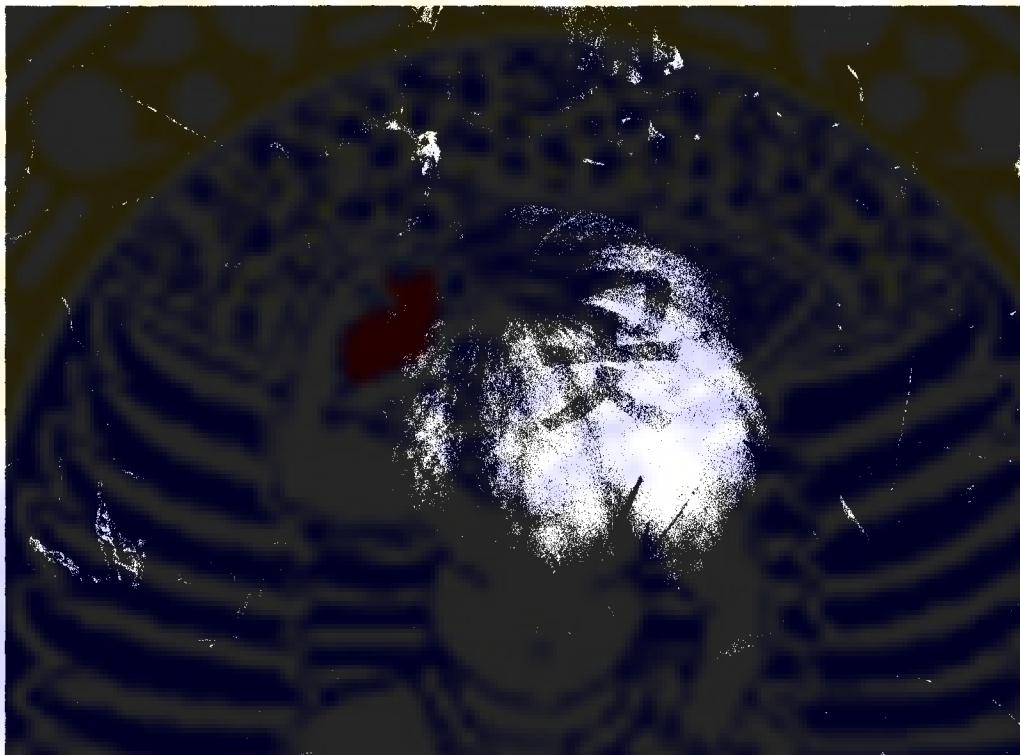
Lampiran 17. Komposisi larutan HOS (*Hypo Osmotic Swelling*)

Komposisi larutan HOS 1000 ml:	
Natrium citrat 2H ₂ O	7,35 g
Fruktosa	13,52 g
Aquades ad	1000 ml

Pembuatan larutan HOS : 7,35 gram Natrium citrat 2H₂O dan 13,52 gram Fruktosa dilarutkan dalam 1000 ml aquadest, maka akan didapatkan larutan hipoosmotik 150 m osmol.

Jeyendran, R.S. , H.H. Van der Ven, Perez-Pelaez. 1984

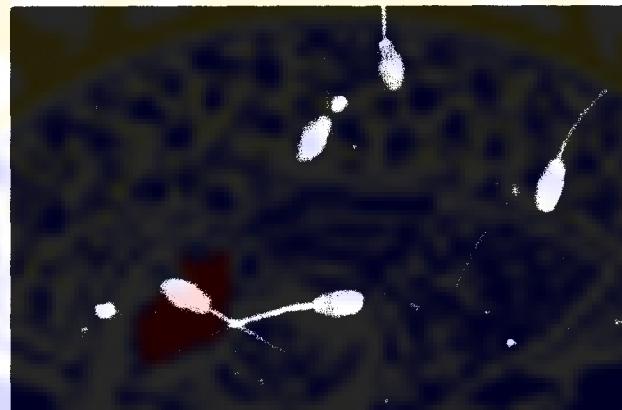
Gambar 3. Labu Merah (*Cucurbita moschata*)



Gambar 4. Biji Labu Merah (*Cucurbita moschata*)



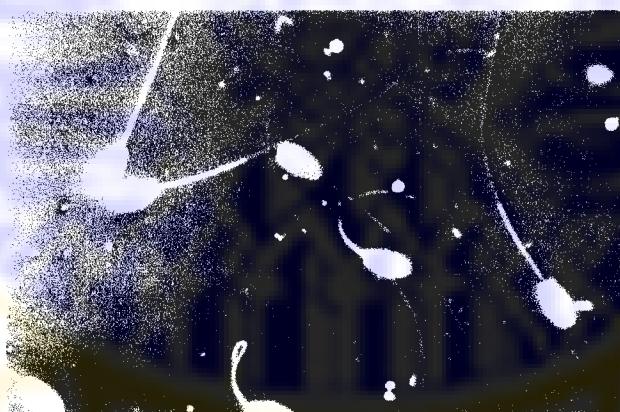
Gambar 5. Spermatozoa hidup dan mati
(Pewarnaan eosin-negrosin, perbesaran 400 kali)



Keterangan :

- Spermatozoa hidup (tidak berwarna)
- ↔ Spermatozoa mati (berwarna merah)

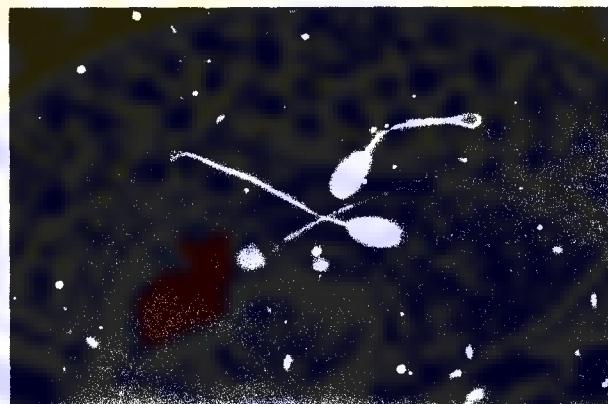
Gambar 6. Spermatozoa yang mengalami swelling
(Pewarnaan eosin-negrosin, perbesaran 400 kali)



Keterangan :

- Spermatozoa mati yang membrannya utuh
- ↔ Spermatozoa hidup yang membrannya utuh

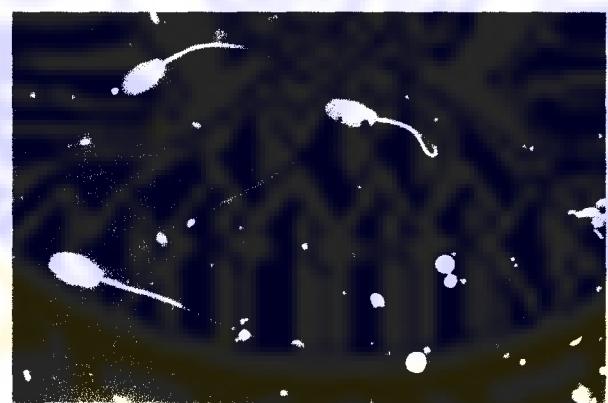
Gambar 7. Spermatozoa yang mengalami swelling
(Pewarnaan eosin-negrosin, perbesaran 400 kali)



Keterangan :

- Spermatozoa hidup yang membrannya utuh
- ↔ Spermatozoa mati yang membrannya rusak

Gambar 8. Spermatozoa yang mengalami swelling
(Pewarnaan eosin-negrosin, perbesaran 400 kali)



Keterangan :

- Spermatozoa hidup yang membrannya utuh
- ↔ Spermatozoa hidup yang membrannya rusak