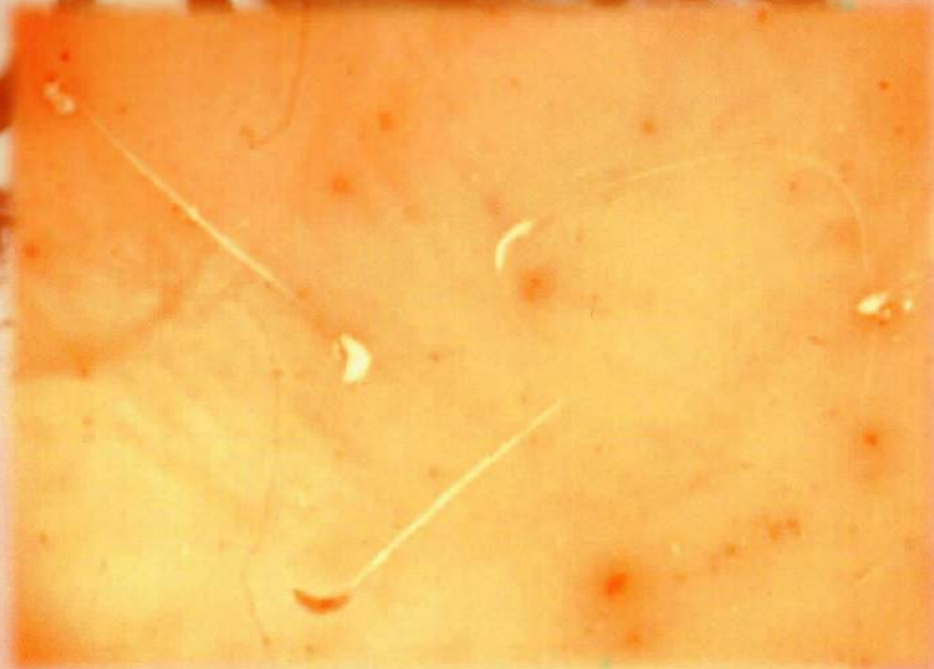


OVOZOA



OVOZOA
Vol. 4, No. 1, April 2015
Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting
Budi Utomo

Sekretaris
Tri Wahyu Suprayogi

Bendahara
Sri Mulyati

Mitra Bestari
Prof. Dr. Laba Maha Putra
Prof. Dr. Ismudiono
Prof. Mas'ud Hariadi, PhD.
Prof. Dr. Imam Mustofa
Prof. Dr. Wurlina
Prof. Dr. Pudji Srianto

Penyunting Pelaksana
Hardijanto
Suherni Susilowati
Sri Pantja Madyawati
Abdul Samik
Herry Agoes Hermadi
Rimayanti
Suzanita Utama

Penyunting Penyelia
Husni Anwar
Trilas Sardjito
Indah Nourma Triana
Tatik Hernawati
Tjuk Imam Restiadi
Hermin Ratnani
Erma Safitri

Alamat Redaksi: Departemen Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115. Telp. 031-5992785 –
5993016; Fax. 031-5993015. E-mail: ovozoa@yahoo.com

OVOZOA

Vol. 4, No. 1, April 2015
Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Daftar Isi

	Halaman
1. Boraks Mengakibatkan Penurunan Jumlah Sel Spermatogonium dan Sel Sertoli pada Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) (Izzatul Ulfana, Roesno Darsono, dan Sri Mulyati)	1
2. Kadar Progesteron Serum Domba Ekor Gemuk Sebelum Pemasangan dan Sesudah Pencabutan Implan Progesteron Subkutan (Taufik Hidayatulloh, Imam Mustofa, Adi Prijo Rahardjo, Herry Agoes H., dan Sunaryo Hadi Warsito)	7
3. Pemberian Injeksi Kombinasi Hormon PMSG dan hCG Terhadap Waktu Timbulnya Birahi pada Sapi Madura Di Desa Sembilangan Kecamatan Bangkalan Kabupaten Bangkalan (Sondang One Mayosita, Herry Agoes Hermadi, Sri Pantja Madyawati, dan Poedji Hastutiek)	12
4. Pengaruh Pemberian Infusa Kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana L.</i>) Terhadap Peningkatan Persentase Kapasitasi Spermatozoa Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) (Veny Putri Lestari, Sarmanu, dan Budi Utomo)	17
5. Pengaruh Pemberian Infusa Kulit Manggis (<i>Garcinia mangostana L.</i>) Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) (Dhonna Mardiana, Budi Utomo, dan Mufasirin)	22
6. Perubahan Histopatologi Jaringan Interstitial Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Dipapar Boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (Ririn Rohmawati, Rimayanti, dan Suryo Kuncorojakti)	31
7. Waktu Inseminasi Buatan pada Sapi Perah yang Digertak Birahi dengan Hormon Prostaglandin $F_{2\alpha}$ dan Hormon Gonadotropin (Zilly Zenianti Z., Pudji Srianto, dan Suwarno)	37
8. Isolasi dan Karakterisasi <i>Fertility Associated Antigen</i> (FAA) Dalam Membran Spermatozoa Sebagai Bahan Aktif Kesuburan Spermatozoa Sapi (Tri Wahyu Suprayogi, Abdul Samik dan Trilas Sardjito)	42
9. Perbedaan <i>Non Return Rate</i> (NRR) Hari ke-21 dan <i>Conception Rate</i> (CR) Hari ke-75 Sapi Perah yang Disinkronisasi Birahi Menggunakan Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) dengan Gonadotropin (Kombinasi PMSG dan hCG) (Nungki Karisma, Pudji Srianto, dan Dady Soegianto Nazar)	48
10. Pengujian Kualitas Semen Segar Kambing Gembrong Untuk Proses Pembekuan di Teaching Farm (Pristy Apriyani, Trilas Sardjito, dan Tri Nurhajati)	54

	Halaman
11. Pengaruh Waktu Equilibrase Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Gembrong <i>Post Thawing</i> Dalam Pengencer Skim Kuning Telur (Brian Robby Dwi Akredianto, Tatang Sartanu Adikara, Trilas Sardjito, Sri Pantja Madyawati, Pudji Srianto, dan Sri Mulyati)	59
12. Nilai <i>Bod</i> (Biochemical Oxygen Deman) Dan <i>Cod</i> (Chemical Oxygen Deman) Air Kolam Dan Limbah Usaha Perikanan Yang Menggunakan Kotoran Bebek Sebagai Media Budidaya Ikan Lele (Hardijanto dan Tri Wahyu Suprayogi)	67
13. Pemeriksaan Kadar Hormon Estrogen Sebagai Indikator Diagnostik Adanya Kebuntingan Dini Pada Kuda Poni (Aditya Kusuma Wardhana, Laba Mahaputra, dan Lucia Tri Suwanti)	71
14. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Kuning Telur Itik Dalam Susu Skim Sebagai Pengencer Semen Domba Ekor Gemuk Terhadap Motilitas, Viabilitas Dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa <i>before Freezing</i> (Heri Haryadi, Wurlina, dan Trilas Sardjito)	75

PERUBAHAN HISTOPATOLOGI JARINGAN INTERSTITIAL TESTIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIPAPAR BORAKS ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)**HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF INTERSTITIAL TISSUE OF RATS (*Rattus norvegicus*) TESTIS EXPOSED WITH BORAX ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)****Ririn Rohmawati¹⁾, Rimayanti²⁾, Suryo Kuncorojakti³⁾**Mahasiswa¹⁾, Departemen Reproduksi Veteriner²⁾, Departemen Anatomi Veteriner³⁾ Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the histopathological of testis interstitial tissue due to treatment of borax for 14 days. Twenty male rats (*Rattus norvegicus*) aged 2 months with body weight 100 gram were used in this study. The rats were divided into four groups (P0, P1, P2, and P3). P0 was the control group which treated by sterile aquadest 0,5 ml/rats/day (without borax), P1 group was treated 19 mg borax/rats/day, P2 group was treated 26 mg borax/rats/day, P3 group was treated with 37 mg borax/rats/day. The data were analyzed by using ANOVA test and Duncan test. The result of this study showed that the number of Leydig cell decreased, necrosis cell Leydig increased and there was hemodynamic disorder (congesti and oedema) at wistar rat testis interstitial tissue.

Key Word: *Rattus norvegicus*, Boraks, Interstitial Tissue, Leydig Cell

Pendahuluan

Sugiyatmi (2006) menyebutkan bahwa jajanan tradisional yang beredar di Indonesia banyak menggunakan boraks sebagai bahan pengental dan pengawet. Boraks mengandung bahan aktif yaitu asam borat yang biasanya digunakan sebagai campuran pestisida (Cox, 2004).

Menurut Dourson *et al.* (2003), bahaya yang ditimbulkan akibat pengaruh boraks secara langsung maupun residu yang ditinggalkannya dapat berdampak sistemik pada tubuh. Pemberian boraks dengan dosis tinggi dapat menimbulkan lesi pada testis ditandai dengan peng-hambatan spermiogenesis yang diikuti oleh atrofi pada hewan percobaan (Chapin *et al.*, 1994).

Fungsi reproduksi alamiah hewan jantan adalah menghasilkan spermatozoa yang potensial sehingga bisa melakukan fertilisasi dengan ovum. Pusat proses produksi dan penunjang fungsi spermatozoa terletak pada testis (Ismu-diono dkk., 2010). Besarnya kemungkinan paparan boraks dalam tubuh mengindikasikan pentingnya dilakukan penelitian pengaruh boraks pada testis khususnya pada jaringan interstitial testis. Menurut Junqueira and Carneiro (2005) jaringan interstitial testis

merupakan tempat kedudukan sel Leydig sebagai penghasil hormon testosteron yang mempunyai peranan dalam proses diferensiasi spermatozoa. Selain sel Leydig, di dalam jaringan interstitial testis juga terdapat pembuluh darah dan pembuluh limfe yang secara langsung maupun tidak langsung dapat mempengaruhi kondisi sel Leydig. Menurut Leitchnam *et al.* (2006) manifestasi klinis dari rendahnya hormon testosteron diantaranya adalah penurunan libido, disfungsi ereksi, hingga dapat menimbulkan infertilitas.

Metode Penelitian

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan berjumlah 20 ekor yang berumur 2 bulan dengan berat badan kurang lebih 100 gram dalam kondisi sehat.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Pakan yang diberikan berbentuk pellet, aquadest steril sebagai pelarut boraks dan air minum, sekam, formalin 10% dan kapas steril.

Alat yang digunakan meliputi kandang percobaan lengkap dengan tempat pakan

dan minum, timbangan digital, jarum sonde, peralatan lengkap yang digunakan untuk insisi dan pembuatan sediaan histopatologi, dan mikroskop Olympus® CX-41 untuk pengamatan.

Pelaksanaan Penelitian

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan 20 ekor yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok perlakuan (P0, P1, P2, dan P3) dengan lima ulangan pada masing-masing kelompok. Tikus putih yang telah dibagi dalam kelompok kemudian diadaptasikan selama tujuh hari sebelum mendapatkan perlakuan. Selama masa adaptasi tikus putih diberikan makan dan minum secara *ad libitum*.

Efek toksik pada penelitian menggunakan boraks dapat dihitung menggunakan uji toksisitas dosis subkronis selama 14 hari perlakuan (Wagner and Wolff, 1977). Dosis berulang yang digunakan berdasarkan dosis pada manusia, yaitu 2,901 gram/100 gram makanan. Dosis yang didapatkan setelah dikonversikan pada dosis tikus putih (*Rattus norvegicus*) didapatkan dosis atas dan dosis bawah untuk uji toksisitas subkronis, yaitu 19 mg, 26 mg, dan 37 mg.

Boraks yang sudah ditimbang dicampur ke dalam aquadest steril 0,5 ml/ekor/hari kemudian dikocok hingga larut sempurna. Larutan boraks tersebut akan diberikan per oral pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan sonde selama 14 hari. Tikus putih pada kelompok kontrol (P0) mendapat aquadest steril 0,5 ml/ekor/hari, tikus putih pada kelompok perlakuan pertama (P1) mendapat larutan boraks 19 mg/ekor/hari, tikus putih pada kelompok perlakuan kedua (P2) mendapat larutan boraks 26 mg/ekor/hari, dan tikus putih pada kelompok perlakuan ketiga (P3) mendapat larutan boraks 37 mg/ekor/hari. Hari ke-15 setelah perlakuan tikus putih dikorbankan dengan cara dislokasi cervical. Setelah itu tikus putih dinokropsi untuk diambil testisnya, selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan histopatologi.

Pengamatan Histopatologis Testis

Data yang diamati adalah jumlah sel Leydig secara keseluruhan, jumlah sel Leydig yang mengalami nekrosis, dan gangguan hemodinamik berupa kongesti

dan oedema pada jaringan interstitial testis. Setiap preparat diamati lima lapangan pandang. Penilaian nekrosis bisa dilihat dari perubahan inti sel Leydig yang dapat berubah menjadi pyknosis, karyoreksis atau karyolisis. Pengamatan gangguan hemodinamik pada jaringan interstitial bisa diamati dengan melihat perubahan yang terjadi yaitu adanya kongesti dan oedema.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap. Data jumlah sel Leydig dan sel Leydig yang nekrosis yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan *Analysis of Variant (ANOVA)*. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Seluruh proses analisis dikerjakan dengan program *SPSS 20 for Windows*. Sedangkan data kongesti dan oedema hanya digambarkan secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Menurut Sugiyatni (2006), boraks yang masuk secara per oral akan bereaksi dengan asam klorida (HCl) dalam lambung, sehingga asam borat akan semakin cepat tersintesis menjadi asam borat. Asam borat masuk dan diserap oleh usus, kemudian akan masuk ke peredaran darah hingga mencapai organ-organ, termasuk testis.

Hasil analisis statistik variabel jumlah sel Leydig menyatakan bahwa antara kelompok P0 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P1 dan kelompok P2. Hal tersebut dapat diartikan bahwa dosis 26 mg/ekor/hari dan dosis 37 mg/ekor/hari dapat mengakibatkan penurunan jumlah sel Leydig. Hasil pengamatan jumlah sel Leydig disajikan pada Gambar 1.

Chapin and Ku (1994) menyatakan bahwa boraks dapat terakumulasi dan mengakibatkan kerusakan di testis dan otak terutama pada bagian hipotalamusnya. Korelasi itu menunjukkan bahwa kerusakan pada hipotalamus dapat membuat ketidakseimbangan hormon sehingga dapat memberikan dampak terhadap kerusakan testis.

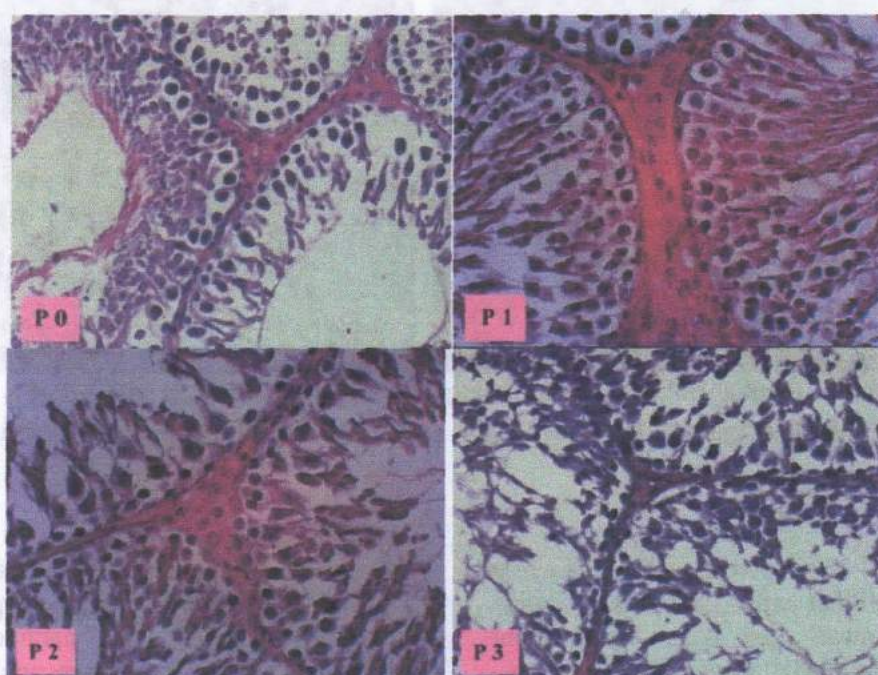
Hasil nilai tengah pengamatan jumlah keseluruhan sel Leydig dan sel Leydig yang mengalami nekrosis disajikan pada Tabel 1.

Ririn Rohmawati dkk.

Tabel 1. Rataan jumlah keseluruhan sel Leydig dan sel Leydig yang mengalami nekrosis

Perlakuan	Mean	
	Jumlah Sel Leydig	Sel Leydig nekrosis
P0	16,8 ^a	0,20 ^a
P1	14,40 ^a	1,80 ^b
P2	9,80 ^b	2,80 ^{bc}
P3	4,00 ^b	4,00 ^c

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

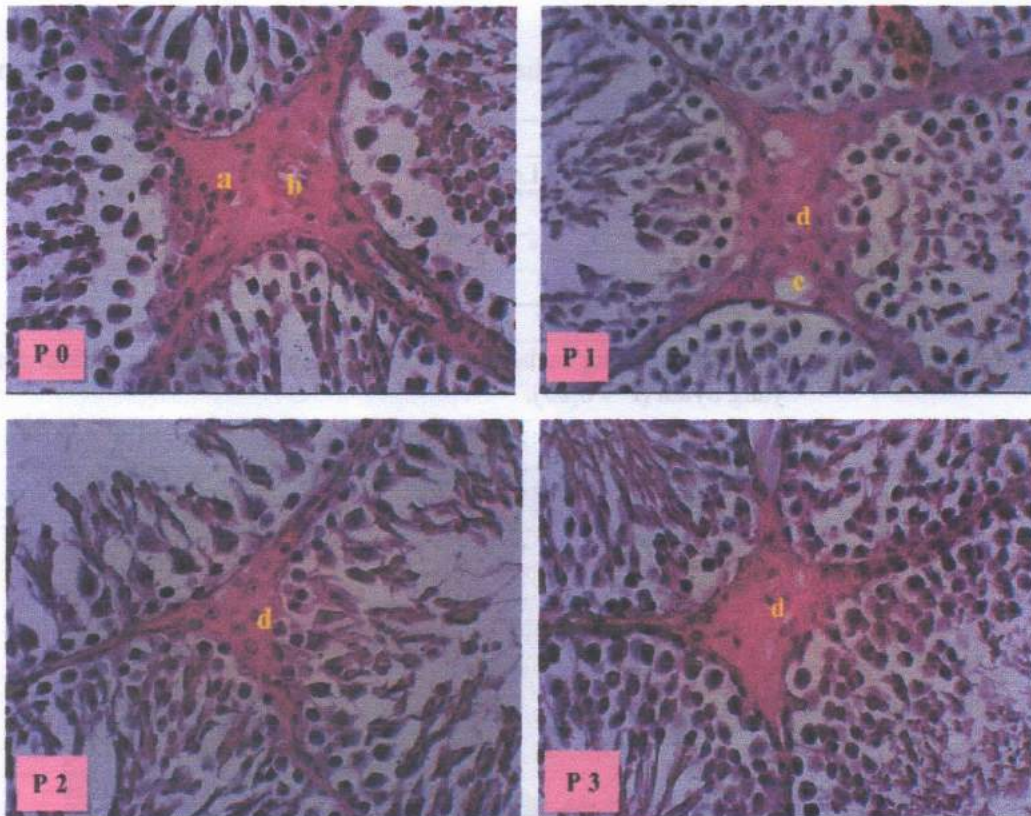


Gambar 1 : Gambaran perubahan histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Perbesaran 400 kali, pewarnaan H.E.)

Menurut Tsutsui *et al.* (2006) *Gona-dotropin releasing hormone* (GnRH) dan *gona-dotropin inhibitory hormone* (GnIH) yang berada di hipotalamus merupakan faktor utama yang berperan dalam pengontrolan sekresi gona-dotropin seperti LH. Proliferasi sel Leydig dipengaruhi oleh beberapa hormon yaitu hormon pertumbuhan, hormon tyroid, hormon anti-Mullerian, plateled-derived growth factor A, sitokin dan terutama LH (Handagama and Ariyatne, 2001). Penurunan sekresi LH akibat

tidak adanya sinyal dari hipotalamus dapat mengakibatkan penurunan jumlah sel Leydig.

Berdasarkan uji statistik pada variabel nekrosis sel Leydig menyatakan bahwa antara kelompok P0 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok P1, P2, dan P3. Hal tersebut dapat diartikan bahwa dosis 19 mg/ekor/hari sudah dapat membuat sel Leydig mengalami nekrosis. Gambaran nekrosis yang parah terlihat pada kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi dosis boraks 26 mg/ekor/hari dan



Gambar 2: Gambaran perubahan histopatologi jaringan interstitial testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Perbesaran 400 kali, pewarnaan H.E.) a: Sel Leydig normal, b: Kapiler normal, c: Vakuolisasi, d: Sel Leydig nekrosis

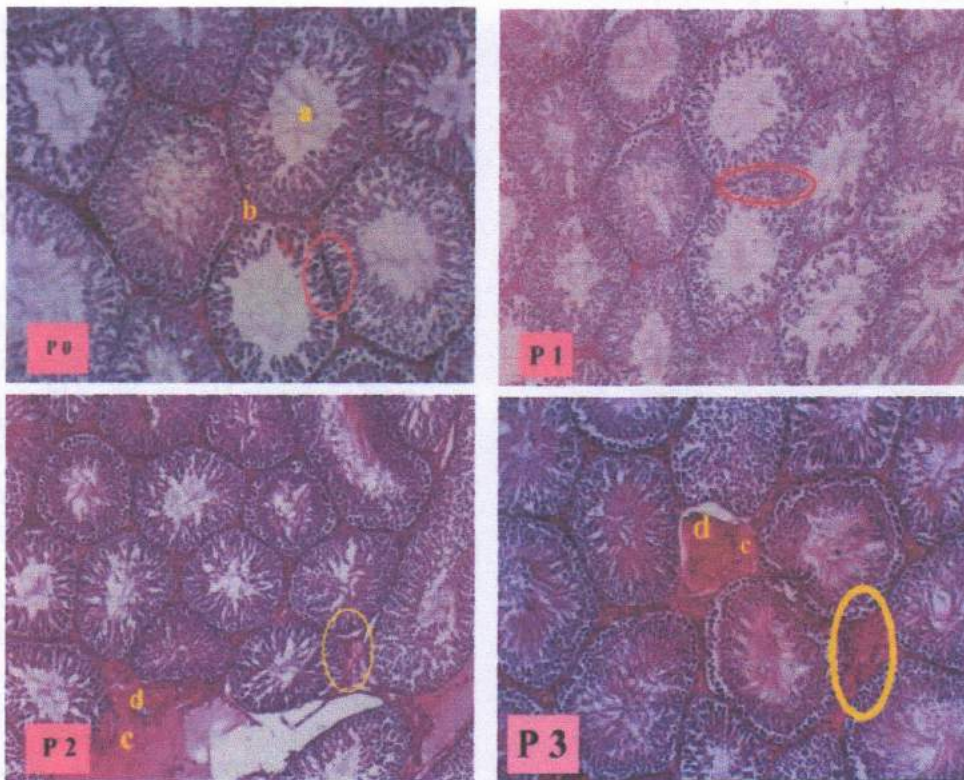
37 mg/ekor/hari. Hasil pengamatan sel Leydig nekrosis dapat dilihat pada Gambar 2. Kejadian nekrosis ini diawali oleh ikatan asam borat dengan ko-enzim NAD^+ yaitu ion H^+ sehingga menyebabkan terjadinya kegagalan reaksi reduksi-oksidasi di dalam mitokondria dan mengakibatkan ATP berkurang (Nielsen, 1994).

ATP sebagai sumber energi bagi sel diproduksi melalui proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di mitokondria. ATP sangat dibutuhkan oleh sel untuk kelancaran *sodium potassium pump*. Berkurangnya ATP menyebabkan akumulasi sodium yang berlebihan di dalam sel dan menyebabkan keluarnya potasium ke luar sel. Keadaan tersebut menyebabkan sel mengalami pembengkakan. Kompensasi yang dilakukan sel ketika mengalami kekurangan ATP adalah melalui proses glikolisis anaerob dengan memanfaatkan cadangan gli-

kogen di dalam sel dan mengakibatkan akumulasi asam laktat sehingga pH sel turun. Keadaan tersebut dapat mempengaruhi kerja beberapa enzim diantaranya adalah fosfolipase dan protease yang dapat menyebabkan rusaknya integritas membran, endonuklease yang dapat merusak inti sel dan enzim hidrolase yang akan mencerna sel hingga akhirnya menyebabkan sel mengalami nekrosis (Robbins and Kumar, 2004).

Variabel kongesti dan oedema hasilnya tidak dianalisis secara statistika, hanya dideskripsikan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan (P0, P1, P2 dan P3) terdapat perubahan hemodinamik berupa kongesti dan oedema pada jaringan interstitialnya. Kejadian kongesti dan oedema paling parah dialami oleh kelompok P3. Gambar kongesti dan oedema disajikan pada Gambar 3.

Ririn Rohmawati dkk.



Gambar 3 : Gambaran perubahan histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Perbesaran 100 x, pewarnaan H.E.). a : Tubulus seminiferus, b : Jaringan interstitial testis, c : Oedema interstitial, d : Kongesti.
Lingkaran merah: Jarak interstitial masih normal.
Lingkaran kuning: Jarak interstitial yang melebar

Boraks dapat mengakibatkan kongesti karena aliran darah ke dalam jaringan yang meningkat (Wery *et al.*, 2003). Bezabeh *et al.* (2004) menyebutkan bahwa peningkatan aliran darah bisa disebabkan karena pembengkakan sel yang terjadi di sekitar kapiler sehingga membuat lumen kapiler menjadi lebih sempit. Kongesti pada kapiler sangat berhubungan erat dengan munculnya oedema, sehingga kongesti dan oedema muncul secara bersamaan. Menurut Robbins and Kumar (2004) perubahan volume, tekanan, atau kandungan protein vaskuler beserta perubahan fungsi endotel pembuluh darah dapat mempengaruhi pergerakan air melewati dinding pembuluh darah. Ekstravasasi cairan intravaskuler ke dalam rongga interstitial menyebabkan terjadinya oedema. Oedema

interstitial testis ditandai dengan pelebaran jarak antar tubulus seminiferus (Jubb *et al.*, 1992).

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah boraks dapat menyebabkan sel Leydig menurun, dapat menyebabkan peningkatan nekrosis pada sel Leydig dan dapat menimbulkan perubahan hemodinamik pada jaringan interstitial testis berupa kongesti dan oedema.

Daftar Pustaka

Bezabeh, M., A. Tesfaye, B. Ergicho, M. Erke, S. Mengistu, A. Bedane, and A. Desta. 2004. General Pathology : Lecture Notes For Health Science Students. Jimma University. Gondar University. Haramaya

- University. Dedub University. Ethiopia. 68-69.
- Chapin, R.E. and W.W. Ku. 1994. Mechanism of the testicular toxicity of boric acid in rats: in vivo and in vitro studies. *Environmental Health Perspective*. 102: 99-104.
- Chapin, R.E., W.W. Ku, R.N. Wine, and B.C. Glade. 1994. Testicular toxicity of boric acid relationship of dose to lesion development and recovery in the F 344 rat. *Repro. Toxicol.* 305-319.
- Cox, C. 2004. Journal of pesticide reform : boric acid and borat. Northwest Coalition for Alternatives to Pesticide (NCAP). Oregon. 24: 1-6.
- Dourson, M., A. Maier, B. Meek, F. Bareille, and R. Baquey. 2003. Boron tolerable intake re-evaluation of toxicokinetics for data derived uncertainty factors. *Biol. Trace Elem. Res.* 66: 453-463.
- Handagama, S. M. and H.B. Ariyatne. 2001. Differentiation of adult Leydig cell population in the postnatal testis. *Biology Reproduction*. 65: 660-668.
- Ismudiono, P. Srianto, H. Anwar, A. Samik, E. Safitri, dan S.P. Madyawati. 2010. Buku Ajar: Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya.
- Junquiera, L.C., and J. Carneiro. 2005. Basic Histology Text and Atlas. Department of Cell and Developmental Biology. Institute of Biomedical Sciences. Sao Paulo. Edisi 11. Chapter 21.
- Jubb, K.V.F., P.C. Kennedy, and N. Palme. 1992. Pathology of Domestic Animals San Diego: Academic Press. Volume 3. Edisi 4.
- Leichtnam, M.L., H. Rolland, P. Wuthrich, and R.H. Guy. 2006. Testosterone hormone replacement therapy: state of-the-art and emerging technologies. *Pharmaceutical research*. 23: 1123-1125.
- Nielsen, F. H. 1994. Biochemical and physiologic consequences of boron deprivation in humans. *Environment Health Perspect.* 102:59-63.
- Robbins, S.L. and V. Kumar. 2004. Buku Ajar Patologi Edisi 7. Alih Bahasa, Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 663-668.
- 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.
- Tsutsui, K., G.E. Bentley, T. Ubuka, E. Saigoh, H. Yin, T. Osugi, K. Inoue, V.S. Chowdhury, K. Ukena, N. Ciccone, P.J. Sharp, and J.C. Wingwel. 2006. The general and comparative biology of gonadotropin inhibitory hormone (GnIH). *Gen. Comp. Endocrinol.* 3-4.
- Wery, N., M. Narotsky, and N. Pacico. 2003. Defects in cervical vertebrae and spleen in boric acid-exposed rat embryos are associated with anterior shifts of hox gene expression domains. *Birth Defects Res (Part A)* 67:59-67.