

Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica Charantia Less*) Terhadap Infertilitas Tikus Jantan (*Rattus Novergicus*) Berdasarkan Jumlah Sel Leydig Pada Gambaran Histopatologi Testis dan Persentase Motilitas Spermatozoa

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh

ROVIQOTUL HIDAYAH

125130101111020



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica Charantia Less*) Terhadap Infertilitas Tikus Jantan (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Jumlah Sel Leydig Pada Gambaran Histopatologi Testis dan Persentase Motilitas Spermatozoa

SKRIPSI

Oleh

ROVIQOTUL HIDAYAH

125130101111020



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Roviqotul Hidayah
NIM : 125130101111020
Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul : Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica Charantia Less*) Terhadap Infertilitas pada Tikus Jantan (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Jumlah Sel Leydig Pada Gambaran Histopatologi Testis dan Persentase Motilitas Spermatozoa.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
 2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.
- Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 5 Agustus 2019
Yang menyatakan,

(Roviqotul Hidayah)
NIM. 125130101111020

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* Less) Terhadap Infertilitas pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Berdasarkan Gambaran Histopatologi Sel Leydig dan Persentase Motilitas Sperma**”. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan. Selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan tugas akhir ini penulis tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Sehingga pada kesempatan ini penulis dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan moril maupun materil baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai. Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES dan drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet selaku dosen pembimbing atas dukungan, bimbingan, kesabaran, waktu, koreksi, kritik, saran dan ilmu pengetahuan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Yudit Oktanella, M.Si dan drh. Aldila Noviatry sebagai penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan kritik dan saran yang sangat berguna untuk memperbaiki penelitian dan penulisan skripsi.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing akademik atas dukungan, bimbingan, kesabaran, waktu, kritik, saran dan ilmu pengetahuan yang diberikan kepada penulis.

4. Dr. Ir. Sudarminto S. Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
5. Keluarga penulis, Bapak Drs.H. Gatot Siradjudin, Ibu Hj. Supiyati dan saudara – saudara Inayanti Kusumasari, SE, Yunita Ratnasari, SE dan M. Arif Wijaya yang senantiasa memberikan semangat, dorongan, kepercayaan serta doa kepada penulis.
6. Teman – teman satu tim penelitian Maya Kartikasari, Yustina Rince Wadun, dan Farah Saufika yang telah memberikan dorongan dan semangat serta banyak bantuan kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
7. Sahabat tercinta Maya, Kaka, Rince, Raras, Gegeb, Wiwit dan Morena Grup serta teman-teman seperjuangan keluarga besar mahasiswa FKH UB khususnya angkatan 2012 kelas B atas persahabatan, semangat, inspirasi dan keceriaan yang selalu diberikan kepada penulis.
8. Semua pihak yang telah membantu dan mendoakan penyelesaian tugas akhir ini.

Malang, 5 Agustus 2019

Penulis

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica Charantia Less*) Terhadap Infertilitas pada Tikus Jantan (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Jumlah Sel Leydig Pada Gambaran Histopatologi Testis dan Persentase Motilitas Spermatozoa

Oleh :

ROVIQOTUL HIDAYAH

125130101111020

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 24 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

drh. Viski Fitri Hendrawan, M. Vet
NIP. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto S. Yuwono, M.App.Sc
NIP. 196312161988031002

Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica Charantia Less*) Terhadap Infertilitas pada Tikus Jantan (*Rattus novergicus*) Berdasarkan Jumlah Sel Leydig Pada Gambaran Histopatologi Testis dan Persentase Motilitas Spermatozoa

ABSTRAK

Overpopulasi hewan kucing di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Peningkatan perkembangbiakan yang tidak terkontrol menyebabkan beberapa penyakit zoonotik, upaya pengendalian overpopulasi ini dapat dikurangi dengan menekan perkembangbiakan. Alternatif pengendalian dapat menggunakan pengobatan tradisional menggunakan buah pare hijau (*Momordica charanti Less*) sebagai antifertilitas. Pare mengandung senyawa aktif kukurbitasin yang merupakan golongan glikosa triterpenoid yang dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel spermatogenik sehingga dapat menghambat perkembangan sel spermatogenik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare hijau sebagai obat antifertilitas tikus jantan. Berdasarkan jumlah sel leydig pada gambaran histopatologi testis dan persentase motilitas spermatozoa. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus novergicus*) yang dibagi 4 kelompok perlakuan, kelompok kontrol negatif (K-), kelompok pemberian ekstrak buah pare hijau dengan dosis 50mg/100g BB (P1), 75mg/100g BB (P2), dan dosis 100mg/100g BB (P3). Pemberian ekstrak pare hijau dilakukan dengan cara disonde satu kali dalam sehari selama 28 hari. Perhitungan jumlah sel leydig berdasarkan gambaran histopatologi testis dan persentase motilitas sperma diamati secara mikroskopik dianalisa dengan metode kuantitatif menggunakan *one way ANOVA* dengan taraf kepercayaan $\alpha = 5\%$. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak pare secara signifikan ($P < 0,05$) pada dosis 100mg/100g BB menurunkan jumlah sel leydig 7.560 ± 43359 dan mengurangi persentase motilitas spermatozoa 20.00 ± 0.707 . Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak pare dapat mengurangi jumlah sel leydig dan persentase spermatozoa dapat digunakan sebagai obat antifertilitas pada tikus jantan.

Kata Kunci : Overpopulasi, Pare, Sel Leydig, Motilitas Spermatozoa, *one way ANOVA*

**The Effect of Bitter Melon Extract (*Momordica charantia* Less)
Infertility of Male Rats (*Rattus novergicus*) Based on Number of
Leydig Cells in Testicular Histopathology and Percentage
Motility of Spermatozoa**

ABSTRACT

Overpopulation of cats in Indonesia is increasing every year. Increased uncontrolled breeding causes several zoonotic diseases, control efforts can be reduced by suppressing breeding. Alternative controls can using traditional treatments using bitter melon as antifertility agent. Bitter melon containing some active compounds namely turburbitasin which is a triterpenoid glycosa group works by effect the permeability of cell membrane spermatogenic that can inhibiting spermatogenic cell. The purpose of this study was to determine the effect of bitter melon extract as antifertility drugs for male rats based on the number of leydig cells in testicular histopathology and sperm motility. This research using rats (*Rattus novergicus*) which divided 4 groups of treatments, the negative control group (K-), the Group awarding bitter melon extract with dose 50 mg/100g BW (P1), 75mg/100g BW (P2), and a dose of 100 mg/100g BW (P3). Bitter melon giving one times a day for 28 days. Calculation of the leydig cells number based on testicular histopathology and microscopic percentage of sperm motility was analyzed by quantitative method using one way ANOVA with confidence level $\alpha = 5\%$. The results showed bitter melon extract significantly ($P < 0,05$) dose of 100mg/100g BW decrease the number leydig cells $7.560 \pm .43359$ and reduce the percentage of sperm motility 20.00 ± 0.707 . The conclusion of this research is bitter melon extract can reduce the number of leydig celss and percentage of sperm motility it can be used as an antifertility drug in male rats.

Key words: Overpopulation, Bitter melon, Leydig Cell, Motility Percentage Sperm, one way ANOVA.

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan populasi kucing liar mengalami peningkatan, hal ini dikarenakan perkembangbiakan yang tidak terkontrol menyebabkan beberapa masalah seperti penyebaran dan penularan penyakit yang dapat menular ke manusia, serta banyak kucing yang terlantar dan tidak mendapatkan kesejahteraan hewan yang tidak terpenuhi. Pada tahun 2007, populasi kucing peliharaan di Indonesia berkisar 15.000.000 juta ekor dan termasuk peringkat kedua dalam peningkatan jumlah populasi kucing sebesar 66%. Kepadatan populasi kucing ini juga diperparah dengan banyaknya pemelihara kucing yang membuang kucingnya ke jalanan karena berbagai alasan (WSPA, 2007).

Overpopulasi pada kucing yang banyak terlantar dan mengalami beberapa penyakit yang dapat merugikan bagi manusia seperti penyakit toksoplasmosis, ringworm, scabies dan banyak kerugian lainnya. Hal tersebut dapat dikurangi dengan melakukan upaya pengendalian populasi terhadap kucing. Pengendalian dapat dilakukan dengan penekanan perkembangbiakannya, melalui tindakan sterilisasi, pada hewan betina dapat dilakukan dengan mengangkat ovarium beserta dengan uterusnya (ovariohisterektomi). Pada hewan jantan dapat dilakukan kastrasi yaitu pengambilan testis. Selain sterilisasi dapat menggunakan alternatif lain seperti pemanfaatan penggunaan obat tradisional yang secara umum dinilai lebih aman. Hal ini dikarenakan obat tradisional memiliki toksisitas rendah, mudah diperoleh dan mempunyai resiko efek samping yang lebih minim. Salah satu jenis tanaman

tradisional yang dapat digunakan sebagai obat kontrasepsi alami adalah pare hijau (*Momordica charantia Less*) merupakan tanaman yang mempunyai potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi sebagai tanaman pangan dan dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional yang bersifat antifertilitas pada jantan (Yuda, 2013).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Cholifah dkk. (2014), senyawa aktif dalam pare yaitu kurkubitasin yang merupakan golongan glikosida tripenoid bekerja dengan menghambat perkembangan sel spermatogenik melalui efek sitotoksik dan hormonal. Hasil penelitian yang dilakukan selama 56 hari menunjukkan adanya penurunan tebal epitel germinal tubulus seminiferus. Penelitian ini menggunakan dosis 15 mg/ 100g BB, 25 mg/ 100g BB, 50 mg/100g BB. Pada kelompok kontrol negatif didapatkan rata-rata ketebalan epitel germinal tubulus seminiferus sebesar $92,66 \pm 7,99 \mu\text{m}$. Sedangkan pada kelompok yang diberi perlakuan didapatkan hasil sebesar $90,50 \pm 15,08 \mu\text{m}$ pada dosis 15 mg/100g BB, $75,66 \pm 7,91 \mu\text{m}$ pada dosis 25/100g BB dan $66,83 \pm 6,27 \mu\text{m}$ pada dosis 50 mg/100g BB.

Senyawa triterpenoid yang terdapat pada ekstrak buah pare hijau dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel spermatogenik. Saponin golongan triterpenoid mempunyai kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol penyusun membran sel. Kolesterol merupakan komponen lipid membran sel yang utama. Struktur dasar membran sel berupa 2 susunan molekul lipid yang berperan sebagai penghalang masuknya molekul-molekul yang larut dalam air. Adanya ikatan antara triterpenoid dengan lipid mengakibatkan perubahan pada permeabilitas

membran sel. Hal ini menyebabkan keluarnya berbagai komponen komponen yang berada didalam sel nutrisi yang dibutuhkan sel tidak dapat masuk ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel sehingga proses metabolisme yaitu pembentukan energi berupa ATP (*Adenosin Trifosfat*) dalam mitokondria sebagai energi pembelahan sel dalam proses spermatogenesis (Purwoistri, 2010).

Pada penelitian di atas efek penurunan fertilitas berdasarkan parameter ketebalan epitel germinal tubulus seminiferus, dengan dosis tertinggi 50 mg/100g BB hanya mampu menurunkan ketebalan epitel sebesar 25,83 μm (27%). Berdasarkan hal-hal di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia Less*) sebagai kandidat antifertilitas tikus jantan (*Rattus norvegicus*) terhadap jumlah sel leydig berdasarkan gambaran histopatologi sel leydig pada organ testis dan persentase motilitas sperma. Hal ini menjadi salah satu acuan dilakukanya peningkatan dosis menjadi 50 mg/100g BB, 75 mg/100g BB dan 100 mg/100g BB dalam penelitian ini dengan harapan efek yang ditimbulkan dapat meningkat dengan pemberian selama 28 hari.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang diselesaikan adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia Less*) dapat menurunkan jumlah sel leydig yang diketahui berdasarkan gambaran histopatologi testis pada tikus (*Rattus novergicus*) jantan?

2. Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia Less*) dapat menurunkan persentase motilitas sperma pada tikus (*Rattus novergicus*) jantan?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus (*Rattus novergicus*) jantan dengan kondisi biologis yang sehat. Tikus yang digunakan berjumlah 20 ekor berdasarkan perhitungan jumlah hewan percobaan minimal menurut Kusumaningrum (2008) dengan umur 2 - 3 bulan dengan berat badan 150 - 200 gram. Tikus diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang Penggunaan hewan coba telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang No: 1118-KEP-UB/2018.
2. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok, dimana tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok Kontrol negatif (K-) adalah tikus yang tidak diberi perlakuan apapun hanya diberikan pakan dan minum adlibitum. Kelompok perlakuan pertama (P1) adalah tikus yang diberikan ekstrak buah pare dengan dosis 50mg/100g BB. kelompok perlakuan kedua (P2) adalah tikus yang diberikan ekstrak buah pare dengan dosis 75mg/100g BB dan kelompok perlakuan ketiga (P3) adalah tikus yang diberikan ekstrak buah pare dengan dosis 100mg/100g BB.

3. Buah pare hijau (*Momordica charantia less*) diperoleh dari pasar karangploso di daerah Malang, setelah itu diekstraksi di Laboratorium Fitokimia Meteria Medica untuk pembuatan ekstrak etanol pare (*Momordica Charantia Less*).
4. Ekstrak Buah pare hijau yang digunakan diinduksi secara peroral dengan menggunakan sonde dengan dosis 50mg/100g BB, 75mg/100g BB dan 100mg/100g BB. Sebelum diinduksi dilakukan tikus yang digunakan diaklimatisasi terhadap lingkungan selama 7 hari. Pemberian ekstrak diberikan selama 28 hari, sehari satu kali diberikan antara jam 09.00 – 11.00.WIB.
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah perubahan - perubahan yang terjadi pada gambaran sel leydig pada histopatologi testis dan pesentase motilitas sperma yang disebabkan oleh kandungan ekstrak pare hijau.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak Buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) terhadap jumlah sel leydig berdasarkan gambaran histopatologi organ testis pada tikus (*Rattus novergicus*) jantan.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak Buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) terhadap pesentase motilitas sperma pada tikus (*Rattus novergicus*) jantan.

1.5 Manfaat Penelitian

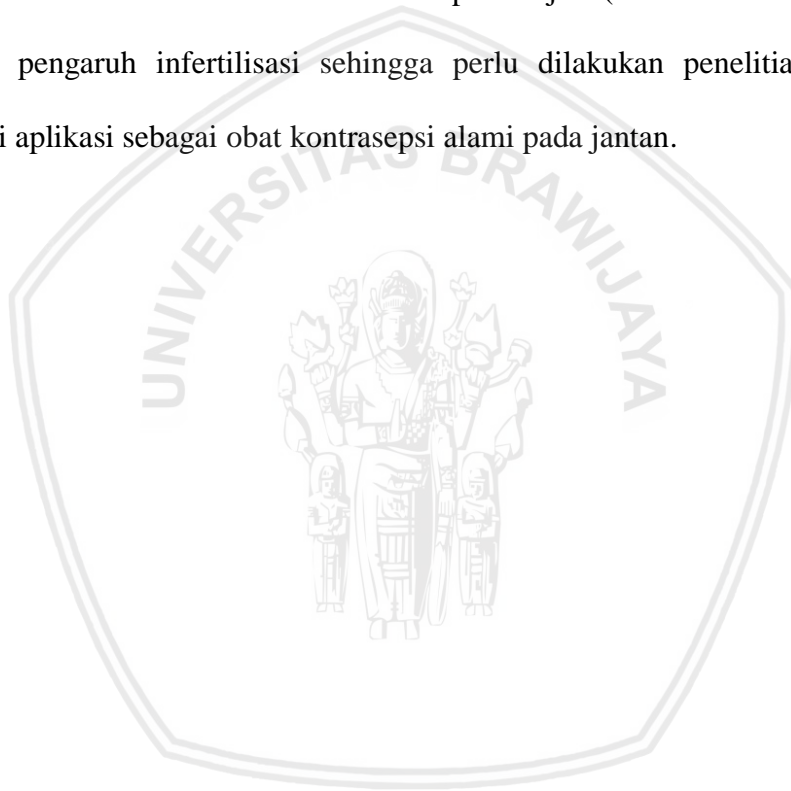
1.5.1 Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh ekstrak Buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) terhadap gambaran

histopatologi sel leydig pada organ testis dan persentase motilitas sperma serta sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya terhadap ilmu reproduksi khususnya infertilitas pada tikus jantan.

1.5.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi di bidang medis khususnya veteriner bahwa ekstrak Buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) memiliki pengaruh infertilisasi sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi sebagai obat kontrasepsi alami pada jantan.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pare (*Momordica charantia* Less)

Pare merupakan tanaman semak semusim yang dapat tumbuh di dataran rendah, di tanam di pekarangan, atau tumbuh liar ditanah kebun. Pare bertumbuh menjalar atau merambat dengan daunnya yang berbentuk tunggal, berwarna hijau, berbulu, berbentuk lekuk dan bertangkai sepanjang ± 10 cm serata bunganya berwarna kuning muda dan tunggal. Batang pare dapat mencapai panjang ± 5 cm dan berbentuk segilima. Memiliki buah berwarna hijau saat masih muda dan berubah menjadi merah pada saat sudah masak dan memiliki rasa yang pahit. Permukaan buah berbintil- bintil dengan daging buah yang sedikit tebal dan didalamnya terdapat sejumlah biji, berwarna hijau dan berubah merah atau coklat kekuningan apabila tua, bentuknya pipih memanjang dan keras (Suwanto, 2010).



Gambar 2.1 Buah Pare (*Momordica charantia* Less) (Joseph, 2013).

2.1.1 Taksonomi tanaman pare

Menurut Tati (2004) Klasifikasi taksonomi tikus adalah:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Cucurbitales
Famili : Cucurbitaceae
Genus : Momordica
Spesies : *Momordica charantia Less*

2.1.2 Daerah distribusi, habitat, dan budidaya

Tanaman *Momordica charantia Less* banyak terdapat di daerah tropis, berupa tumbuhan liar atau sengaja ditanam. Sering dijumpai pada halaman rumah, kebun-kebun, dan pagar (Sudarsono, 2002). Pare dapat tumbuh baik di daerah tropis sampai pada ketinggian 500m/dpl, suhu antara 18°C - 24 °C, kelembapan udara yang cukup tinggi dan dengan curah hujan yang relatif rendah. Tanaman ini tumbuh dengan subur sepanjang tahun dan tidak tergantung pada musim. Tanah yang paling baik bagi pare adalah tanah lempung berpasir yang subur, gembur dan mengandung banyak bahan organik, aerasi dan drainase yang baik (Kristiawan, 2011).

2.1.3 Kandungan Pare (*Momordica charantia Less*)

Bagian-bagian dari tanaman pare mempunyai kandungan kimia masing - masing. Buah pare mengandung albuminoid, karbohidrat, zat warna, karantin, hydroxytryptamine, vitamin A, B dan C. Selain itu juga mengandung saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid, triterpenoid, momordisin, glikosida cucurbitacin, charantin, asam butirrat, asam palmitat, asam linoleat, dan asam stearat. Daun pare mengandung momordisina, momordina, karantina, resin, asam trikosanik, asam resinat, saponin, vitamin A, dan vitamin C serta minyak lemak yang terdiri dari asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan oleostearat. Biji pare mengandung

saponin, triterpenoid, asam momordial dan momordisin. Sedangkan akar pare mengandung asam momordial dan asam oleanolat (Sudarsono, 2002).

2.2 Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ilmiah ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) berkelamin jantan. Menurut Suckow *et al.*, (2006) Klasifikasi taksonomi tikus adalah:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.2 Tikus (*Rattus norvegicus*) (Suckow *et al.*, 2006).

Menurut Departemen Kesehatan (2011), ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm. *Rattus norvegicus* memiliki rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh total 440 mm,

panjang ekor 205mm (Myers and Armitage, 2004). Penggunaan tikus karena memiliki struktur dan fungsi organ yang mirip terhadap pengaruh bahan – bahan atau agen yang dicobakan, umur yang singkat, jumlah anak yang banyak, dan cara pemeliharaan yang relatif mudah juga merupakan hal – hal yang penting yang dipertimbangkan oleh para peneliti (Nurdiani, 2006).

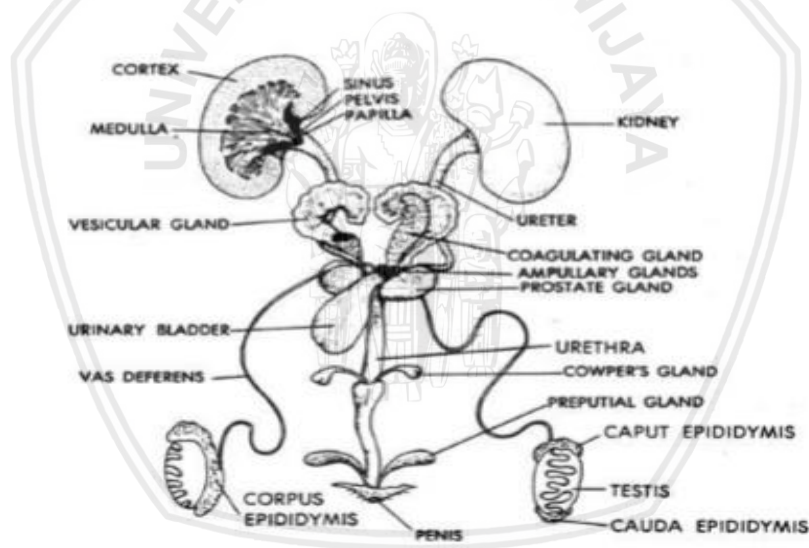
2.2.1 Sistem Reproduksi Tikus Jantan

Sistem reproduksi tikus jantan (*Rattus norvegicus*) terdiri atas testis dan skrotum, epididymis, duktus deferens, kelenjar aksesori (kelenjar vesikula seminalis, cowper atau bulbourethralisprostat, ampula), uretra dan penis. Selain uretra dan penis, semua struktur ini berpasangan. Duktus yang menjadi testis, duktuli deferentes bersama duktus epididymis, suatu duktus konvulsi bergelung untuk membuat epididymis, suatu organ yang terletak pada permukaan posterior testis (Larasaty, 2013).

Testis adalah organ utama dalam sistem reproduksi jantan. Testis memiliki dua fungsi yaitu menghasilkan sperma (spermatogenesis) dan memproduksi hormon testoteron. Oleh sebab itu, maka testis dapat juga dikatakan sebagai kelenjar ganda, karena secara fungsional bersifat endokrin dan eksokrin. Fungsi endokrin terletak pada sel leydig yang menghasilkan androgen, terutama testoteron. Fungsi eksokrin terletak pada epitelium seminiferous yang menghasilkan spermatozoa (Fawcett dan Bloom, 2002).

Testis merupakan sepasang struktur berbentuk oval dan sedikit gepeng. Testis dalam skrotum dibungkus jaringan fibrosa yang disebut tunika albuginea. Testis merupakan organ yang berfungsi untuk menghasilkan spermatozoa dan

menghasilkan hormon (testosteron). Sekitar 80%, testis terdiri dari tubulus seminiferus yang berkelak-kelok, yang di dalamnya berlangsung spermatogenesis. Tubulus yang berkelak-kelok dalam lobulus semua duktusnya kemudian meninggalkan testis dan masuk ke dalam epididimis (Heffner dan Schust, 2008). Pada bagian luar berbentuk convex dan licin. Testis dilindungi oleh tunica vaginalis propina yang di dalamnya terdapat ductus epididymis dan ductus deferens. Di tubuli mengandung sel leydig yang berfungsi menghasilkan hormone testostosterone. Tubuli seminiferi contorti menuju ke tubulus seminiferi rectus yang membentuk rete testis dan menyalurkan spermatozoa ke ductus epididymis (Fox, 2002).



Gambar 2.3 Anatomi sistem reproduksi tikus jantan (Suckow, 2006).

Epididimis merupakan suatu struktur berbentuk koma. Epididimis dibentuk oleh saluran berkelok-kelok secara tidak teratur yang disebut duktus epididimis. Duktus epididimis diperkirakan mempunyai tiga regio : kaput (kepala), korpis (badan), dan cauda (ekor). Permukaan sel epitel duktus ini ditutupi oleh mikrovili panjang yang bercabang dan tidak teratur yang biasa disebut stereosilia. Epitel duktus epididimis turut serta dalam pengambilan dan pencernaan badan-badan

residu yang dikeluarkan selama proses spermatogenesis berlangsung. Duktus-
duktus epididimis dari setiap testis menyatu untuk membentuk sebuah saluran
berdinding tebal dan berotot yang disebut duktus (vas) deferens. Setiap testis duktus
deferens berjalan keluar dari kantong skrotum dan kembali ke dalam rongga
abdomen dan berakhir di ureter di bagian leher kandung kemih. Dinding duktus
deferens tebal dan berotot dengan lubang kecil sehingga terasa padat dan dapat
diraba (lewat kulit) di bagian leher skrotum dan dapat diikat atau dipotong pada saat
vasektomi (Fawcett dan Bloom, 2002).

Epididimis merupakan daerah penumpukan dan penyimpanan spermatozoa
setelah meninggalkan testis. Secara umum epididimis memiliki fungsi utama, yaitu
transportasi, pemekatan (konsentrasi), pematangan dan penyimpanan spermatozoa.
Duktus-duktus epididimis melaksanakan beberapa fungsi penting tersebut. Sewaktu
meninggalkan testis, spermatozoa belum mampu bergerak atau membuahi (belum
matang secara fisiologis). Spermatozoa memperoleh kedua kemampuan tersebut
selama perjalanannya melintasi epididimis. Proses pematangan ini dirangsang oleh
testosteron yang tertahan di dalam cairan tubulus oleh protein pengikat androgen
(Sherwood, 2005).

Duktus deferens berfungsi sebagai tempat penyimpanan spermatozoa yang
penting. Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang terkemas rapat relatif inaktif
dan kebutuhan metabolit mereka juga rendah. Spermatozoa dapat disimpan dalam
duktus deferens selama beberapa hari walaupun tidak mendapat pasokan nutrisi dari
darah dan hanya mendapat makanan dari gula-gula sederhana yang terdapat
disekresi tubulus (Sherwood, 2005).

Tunika albuginea menebal pada permukaan posterior testis dan membentuk mediastinum testis, yaitu tempat penjumlahan yang membagi kelenjar menjadi sekitar 250 kompartemen piramid yang disebut lobulus testis. Setiap lobulus dihuni oleh 1-4 tubulus seminiferus. Dinding pada rongga yang memisahkan testis dengan epididimis disebut tunika vaginalis. Tunika vaginalis dibentuk dari peritoneum saat testis masih berada dalam rongga abdomen. Sedangkan permukaan posterior menjadi tempat masuknya pembuluh darah, pembuluh limfe, dan saraf. Skrotum memiliki peran penting dalam memelihara testis pada suhu di bawah suhu intra abdomen, yaitu sekitar 4°C - 7°C (Sutrisno, 2010).

Skrotum merupakan kantong kulit ekstra-abdomen yang terletak di bawah penis antara kedua paha yang berfungsi melindungi testis bersama epididimis. Berfungsi juga mengatur suhu testis untuk keberlangsungan spermatogenesis. Spermatogenesis sangat sensitif terhadap suhu yang idealnya lebih rendah daripada suhu di dalam abdomen (Heffner dan Schust, 2008).

Dinding yang memisahkan testis dengan epididimis disebut tunika vaginalis yang terbentuk dari peritoneum intraabdomen yang bermigrasi ke dalam skrotum primitif selama perkembangan embriologi genitalia interna laki-laki. Setelah migrasi ke dalam skrotum, saluran tempat turunnya testis atau prosesus vaginalis menutup (Heffner dan Schust, 2008).

Vesikula seminalis merupakan sepasang kelenjar yang umumnya terletak dibalik prostat dan dibagian dorsal vesika urinaria (Krutzsh, 2000). Vesika seminalis terdiri atas tabung berkelok, fungsinya menyekresikan mukus yang banyak mengandung fruktosa, selain itu juga mensekresikansam sitrat,

prostaglandin dan fibrinogen yang berperan dalam memberikan nutrisi dan melindungi spermatozoa (Guyton, 2008 dan Sloalen, 2003).

Prostat merupakan kelenjar tunggal yang umumnya terletak diantara pertemuan antara vesika urinaria dan muskulus urethralis. Seperti halnya vesika seminalis, lokasi kelenjar juga bervariasi pada setiap spesies. Kelenjar ini merupakan kelenjar aksesori jantan yang menyelubungi uretra saat keluar dari kandung kemih. Sekresinya merupakan cairan encer bersifat basa yang mengandung ion sitrat, kalsium, ionfosfat, enzim pembeku dan profibrinolisin (Guyton, 2008). Cairan ini berfungsi untuk mortalitas spermatozoa yang optimum pada pH 6,0-6,5 (Sloalen, 2003).

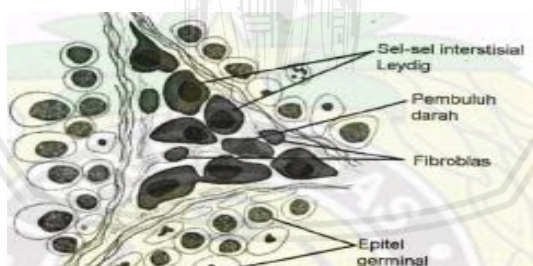
Kelenjar Cowper (bulbourethralis) merupakan sepasang kelenjar berbentuk ovoid dan berukuran kecil. Sepasang kelenjar bulbourethral merupakan kelenjar kecil yang ukuran dan bentuknya menyerupai kacang polong. Kelenjar ini mensekresikan cairan basa yang mengandung mukus dalam uretra penis untuk menstimulasi dan melindungi uretra (Sloalen, 2003).

Tubulus seminiferus merupakan tempat terjadinya spermatogenesis. Tubulus seminiferus ini di kelilingi oleh membran basal. Epitel yang mengandung spermatozoa yang sedang berkembang disepanjang tubulus disebut epitel seminiferus atau epitel germinal. Pada potongan melintang testis, spermatosit dalam tubulus berada dalam berbagai tahap pematangan. Di antara spermatosit terdapat sel Sertoli. Sel ini berperan secara metabolik dan struktural untuk menjaga spermatozoa yang sedang berkembang. Sel Sertoli memfagosit sitoplasma spermatid yang telah dikeluarkan. Sel ini juga berfungsi pada proses aromatisasi

prekursor androgen menjadi estrogen, suatu produk yang menghasilkan pengaturan umpan balik lokal pada sel Leydig yang memproduksi androgen. Selain itu sel Sertoli juga menghasilkan protein pengikat androgen. Produksi androgen sendiri terjadi di dalam kantong dari sel khusus (sel Leydig) yang terdapat di daerah interstitial antara tubulus-tubulus seminiferus (Heffner dan Schust, 2008)

2.2.2 Sel Leydig Pada Tikus Jantan

Sel leydig ditemukan oleh Franz Leydig pada tahun 1850. Sel leydig atau memproduksi hormon testosteron, merupakan hormon seks pria yang paling penting (Welsh dkk, 2008). Letak sel leydig berada diantara tubulus seminiferus, sehingga mempunyai nama lain yaitu sel intersisial leydig. Sel leydig dewasa berbentuk oval, dengan sitoplasma yang eosinofilik, kaya retikulum endoplasma halus dan mitokondria dengan tubular cristae, yang merupakan karakter untuk sel penghasil steroid (Qiang Dong dan Matthew, 2004).



Gambaran 2.4 Sel Leydig (Guyton, 2008).

Celah antara tubulus seminiferus dalam testis diisi kumpulan jaringan ikat, saraf, pembuluh darah, dan limfe. Jaringan interstitial merupakan jaringan yang terdapat diantara tubulus seminiferus. Sel-sel ini berbentuk poligonal teranyam bersama tenunan pengikat. Pada bagian ini terdapat sel leydig yang berfungsi sebagai penghasil hormon jantan atau androgen terutama testosteron (Rahmi, 2011).

Hormon testosteron memiliki fungsi mengontrol perkembangan organ reproduksi jantan, berperan pada proses spermatogenesis dimana testosteron sangat diperlukan pada saat pembelahan sel – sel germinal untuk pembentukan spermatozoa, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder (Ascobat, 2008). Pada sel leydig, testosteron berperan menstimulasi diferensiasi sel muda menjadi sel dewasa dan berperan penting menjaga morfologi sel leydig muda yang berada pada tahap perkembangan (Misro et al., 2008).

2.2.3 Spermatogenesis Pada Tikus jantan

1. Spermatogenesis

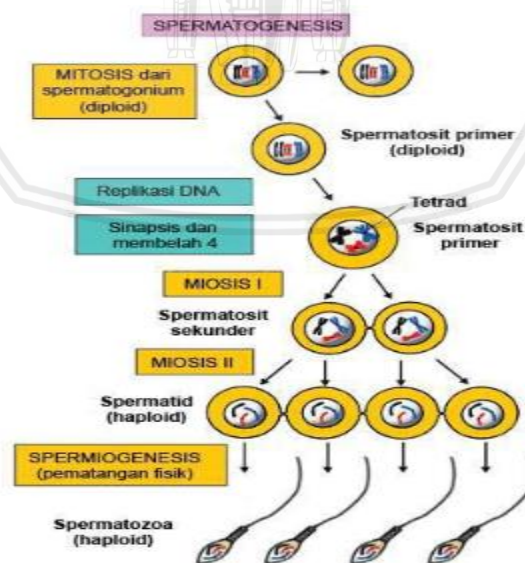
Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa yang terjadi hanya di Tubulus seminiferus yang terletak di testis. Testi tersusun oleh 90% tubulus seminiferus, sedangkan yang 10% adalah sel leydig dan jaringan ikat. Spermatozoa yang dihasilkan oleh tubulus seminiferus dikeluarkan ke saluran reproduksi jantan yang terdapat silia dan muskulernya yang dapat menggerakkan spermatozoa dalam proses transportasi, saluran reproduksi jantan tersebut adalah rete testis, vas deferens, epididimis, vas efferens dan terakhir di uretra (Susilawati, 2011).

Proses spermatogenesis pada tikus strain Wistar terjadi di dalam tubulus seminiferus dan dibutuhkan 13 hari untuk menyelesaikan satu tahapan proses spermatogenesis. Spermatogonium tikus membutuhkan empat tahapan proses sampai akhirnya membentuk spermatozoa, dan diperlukan 52 hari untuk menyelesaikan seluruh tahap spermatogenesis (Krinke, 2000).

Epitel seminiferus adalah bagian terluar dari tubulus seminiferus, yang terdiri dari 2 tipe sel yaitu sel sertoli dan sel germinar yang tumbuh dan

berkembang. Sel germinal mengalami pembelahan secara berseri dan perkembangan, dimuai dari arah tepi menuju ke lumen. Spermatogonia adalah sistem sel yang membelah beberapa kali sebelum terbentuknya spermatisit. Spermatisit mengalami miosis dengan berkurangnya kandungan DNA setelah sel tumbuh (Susilawati, 2011).

Tubulus seminiferus adalah tempat untuk proses spermatogenesis atau pembelahan sel gamet. Proses spermatogenesis dibagi menjadi 2 proses pembelahan, yang pertama pembelahan mitosis dan miosis disebut dengan spermatositogenesis yaitu pembelahan dari spermatogonium sampai dengan spermatisit primer. Miosis I adalah pembelahan dari spermatisit primer ke spermatisit sekunder, sedangkan Miosis II adalah pembelahan dari spermatisit sekunder menjadi spermatid. Perubahan spermatid menjadi spermatozoa disebut spermiogenesis (Susilawati, 2011).



Gambar 2.5 Pembelahan spermatogenesis (Susilawati, 2011).

Didalam tubulus seminiferus terdapat sel – sel mulai dari spermatogonium hingga spermatozoa, selain itu juga terdapat sel sertoli yang secara umum disebut

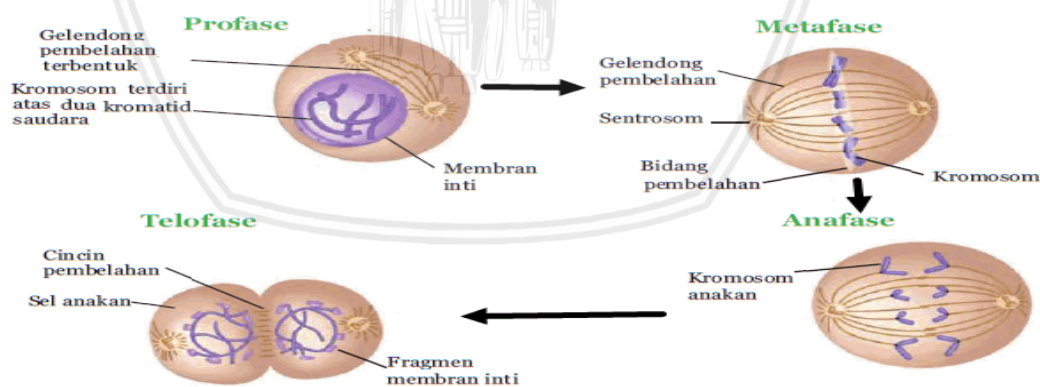
berfungsi memberi makan spermatozoa, *blood testis barrier*, penghasil hormon inhibin dan aromatisasi hormon testosteron menjadi estradiol 17β (estrogen), sedangkan diantara tubulus seminiferus terdapat sel interstitial yang diantaranya sel leydig. Sel leydig memiliki fungsi menghasilkan hormon testosteron. atau penghalang yang dibentuk oleh sel leydig pada tubulus seminiferus, yang memisahkan sel – sel spermatogenesis yang lebih matang dalam memisahkan tubulus dari produk darah. Bila testis barrier rusak sperma memasuki aliran darah, maka sistem kekebalan tubuh merespon terhadap kehadiran sperma. Anti- sperma antibodi yang dihasilkan oleh sistem tubuh dapat mengikat ke berbagai sisi antigen pada sperma. Jika mereka mengikat kepala sperma, mungkin kurang mampu membuahi sel telur, dan bila mengikat ekor spermatozoa, motilitas spermatozoa berkurang (Susilawati, 2011).

2. Spermatositogenesis

Sebelum pubertas sudah terbentuk spermatogonia type Ao yang berasal dari germ layer (gugus sel yang terbentuk dalam masa embriogenesis dan merupakan lapisan yang membentuk seluruh jaringan dan organ didalam tubuh pada masa organogenesis yaitu proses pembentukan organ. Spermatogonia tipe A1 secara progresif membelah A2, A3 dan A4. Kemudian membentuk tipe intermediate dan selanjutnya membelah menjadi spermatosit. Proses pembelahan diatas adalah pembelahan mitosis. Selanjutnya spermatosit primer membelah miosis menjadi spermatosit sekunder disebut miosis I, sedangkan pembelahan dari spermatosit sekunder menjadi spermatid disebut miosis II (Susilawati, 2011).

Menurut Garner dan Hafez (2008) sel tipe A4 membelah membentuk intermediate spermatogonia (tipe In) dan selanjutnya membentuk spermatogonia tipe B. Variasi bentuk spermatogonia ini dapat dilihat dengan membuat irisan histologi spithel seminiferus yang berbasis proliferasi dari lapisan sel germinal. Sel tipe A2 tidak hanya membelah yang akhirnya menjadi spermatozoa tetapi juga membentuk sel sel yaitu spermatogonia tipe A1, walau masih tetap ada spermatogonia tipe Ao yang merupakan cadangan dan populasi dari stem sel.

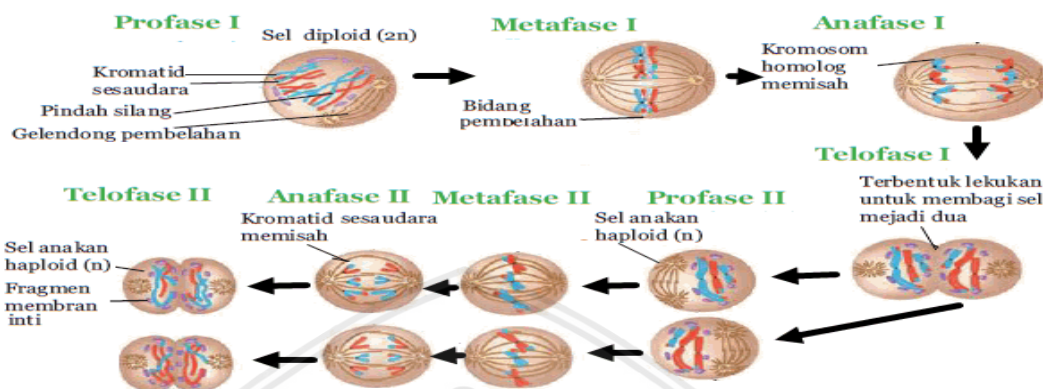
Spermatogonia tipe B membelah menjadi lebih kecil dan menjadi 2 spermatosit primer. Spermatosis primer mengalami pembelahan miosis yaitu profase yang terdapat tahapan profase, metafase, anafase dan telofase sebelum menjadi spermatosit sekunder tanpa sintesa lebih lanjut, sehingga hasilnya adalah spermatosit sekunder yang membelah menjadi sel haploid yaitu spermatid (Susilawati, 2011).



Gambar 2.6 Tahapan Miosis (Susilawati, 2011).

Pada profase membran inti mulai rusak menjadi bagian-bagian kecil (fragmen) Benang-benang kromatin menjadi kromosom. Pada metafase kromosom berjejer pada bidang pembelahan. Pada anafase kromatid bersaudara dari setiap pasangan memisah menuju kutub yang berlawanan, pada akhir fase kedua kutub sel memiliki

kromosom yang jumlahnya sama. Pada telofase membran inti mulai kembali bergabung koromosom mulai renggang.



Gambar 2.7 Tahapan miosis I dan miosis II (Susilawati, 2011).

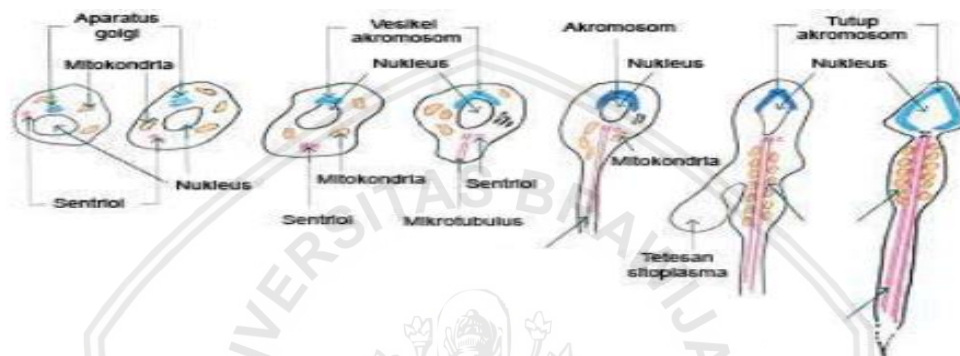
Profase I membran inti mulai rusak menjadi bagian-bagian kecil (fragmen) dan terbentuk gelendong pembelahan benang-benang kromatin memadat menjadi kromosom dan kromosom homolog berpasangan terjadi pindah silang (pertukaran segmen molekul dna yang sesuai diantara kromatid non saudara). Metafase I kromosom berjejer pada bidang pembelahan. Anafase I kromosom homolog memisah dan bergerak ke kutubkutub yang berlawanan. Telofase I kromosom homolog memisah dan bergerak ke kutubkutub yang berlawanan membran inti mulai terbentuk kembali sitokinesis menyebabkan terbentuknya dua sel anakan yang bersifat haploid.

Profase II Membran inti mulai rusak menjadi bagian-bagian kecil (fragmen) dan terbentuk gelendong pembelahan Kromatid mulai bergerak ke bidang pembelahan. Metafase II Kromosom berjejer pada bidang pembelahan. Anafase II Kromatid terpisah dan bergerak ke kutub-kutub yang berlawanan. Telofase II Nukleus terbentuk, kromosom terurai membentuk kromatin, dan sitokinesis terjadi.

3. Spermiogenesis



Spermatid yang berubah menjadi spermatozoa melalui perubahan secara seri yang bersama – sama disebut dengan spermiogenesis. Pada fase spermiogenesis ini terjadi perubahan morfologi dari spermatid menjadi spermatozoa. Spermiogenesis dibagi dalam empat fase yaitu fase golgi, fase cap (fase tutup), fase akrosom dan fase pematangan (maturasi).



Gambar 2.8 Perubahan sel dari spermatid hingga spermatozoa (Susilawati, 2011).

- Pada fase golgi, terbentuk butiran proakrosom dalam alat golgi spermatid. Butiran ini nantinya bersatu membentuk satu bentukan dengan akrosom disebut granula akrosom. Granula akrosom ini melekat ke salah satu sisi inti yang bakal jadi bagian depan spermatozoa (Susilawati, 2011).
- Pada fase cap, granula akrosom semakin membesar, bertambah pipih dan menuju bagian depan inti, sehingga akhirnya terbentuk semacam tutup (cap) sementara. Selama fase cap ini terjadi perkembangan axonema pada bagian ekor yang dibentuk dari elemen – elemen pada distal sentriol mengalami pemanjangan dibagian sitoplasma sel. Selama awal perkembangan struktur axonema mirip dengan silia yang didalamnya terdapat 2 mikrotubulus di tengah yang dikelilingi bagian tepinya 9 sepasang mirotubulus (Susilawati, 2011).
- Pada fase akrosom secara umum ditandai dengan perubahan inti akrosom dan pertumbuhan ekor spermatid. Pertumbuhan difasilitasi oleh pemutaran pada

masing – masing spermatid, akrosom menuju ke bagian ujung sedangkan ekornya menuju ke bagian lumen. Perubahan inti meliputi kondensasi kromosom pada butiran tebal dibagian kepala menjadi pipih, saat ini terjadi pertumbuhan histon secara progresif diganti dengan protein yang bentuknya ikut memanjang. Modifikasi bentuk kepala dan akrosom ini berada di sekitar sel sertoli. Proses ini berbeda – beda pada masing – masing spesies (Susilawati, 2011).

Perubahan morfologi inti seiring dengan menghilangnya sitoplasma dibagian kepala juga bagian cauda dan bagian proximal tumbuh ekor yang bagian sitoplasmanya tumbuh. Mitokondria yang awalnya terdistribusi di spermatid mulai terkonsentrasi dibagian axonema yang membentuk rambing ke bagian leher pada ekor (Susilawati, 2011).

- Pada fase maturasi atau pematangan, bentuk spermatid sudah hampir sama dengan spermatozoa dewasa. Terjadi perubahan bentuk spermatid sesuai dengan ciri spesies. Spermatid yang telah berubah menjadi spermatozoa berhubungan langsung dengan sel sertoli yang banyak mengandung glikogen, sehingga spermatozoa mendapat makanannya, akhirnya spermatozoa dilepaskan dari sel sertoli dan menuju lumen tubulus seminiferus. Proses pelepasan spermatozoa ini disebut spermiasi (Budhi, 2010).

2.2.4 Sperma Tikus Jantan

Sperma atau spermatozoa adalah hasil akhir dari proses spermatogenesis. Produksi sperma pada tikus adalah $35,4 \times 10^6$ /mL, tidak berbeda signifikan dengan manusia yaitu $45,5 \times 10^6$ /mL. Epitel seminiferus tikus lebih mengandung 40% sel

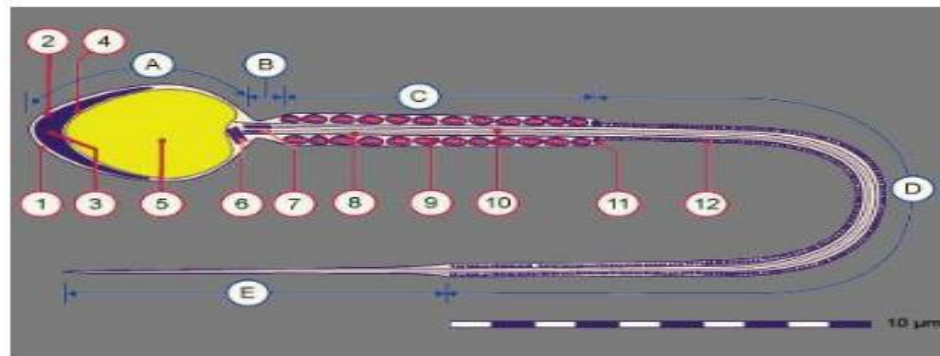
spermatogenik dari volumenya, dua kali lebih banyak dari epitel seminiferus manusia (Ilyas, 2007). Pada tikus jantan ujung kepala spermatozoa berbentuk kait. Leher dan ekor tersusun dari flagellum tunggal yang padat tetapi tersusun dari 9-18 fibril yang dibungkus oleh satu selubung. Pada ujung ekor selubung menghilang (Darwin, 2011).



Gambar 2.9 Spermatozoa tikus.

Keterangan: a: kepala berbentuk kait, b: leher, c: bagian tengah, d: ekor (perbesaran 400x) (Nurlaili, 2011).

Pada kepala spermatozoa terdapat akrosom, sedangkan pada ekor terdapat bagian tengah, utama dan bagian ekor yang terdapat sentral aknosome yang terdapat mikrotubulus, dan di balut dengan fibril luar, lapisan mitokondria yang membentuk kolom longitudinal (membujur) pada dorsal dan ventral. Kepala spermatozoa mengandung nukleus dengan kromatin yang pada sekali. Kromatin terdiri dari DNA yang kompleks dari protein dasar yang dikenal sebagai protamine sperma. Jumlah kromosom spermatozoa adalah haploid atau setengah dari sel somatik, sel spermatozoa yang haploid ini dihasilkan dari pembelahan secara meiosis sel yang terjadi selama pembentukan spermatozoa atau proses spermatogenesis (Susilawati, 2011).



Gambar 2.10 Struktur internal spermatozoa.

Keterangan :

- | | | |
|--------------------------|---------------------------------------|------------------|
| 1. Plasma membran | 6. Sentriol proksimal | A. Kepala |
| 2. Membran akrosom luar | 7. sisa sentriol distal | B. Leher |
| 3. Akrosom | 8. Serat longitudinal luar yang tebal | C. Bagian tengah |
| 4. Membran akrosom dalam | 9. Mitokondria | D. Bagian utama |
| 5. Nukleus | 10. Aknosome | E. Bagian akhir |
| | 11. Anulus | |
| | 12. Serat cincin | |

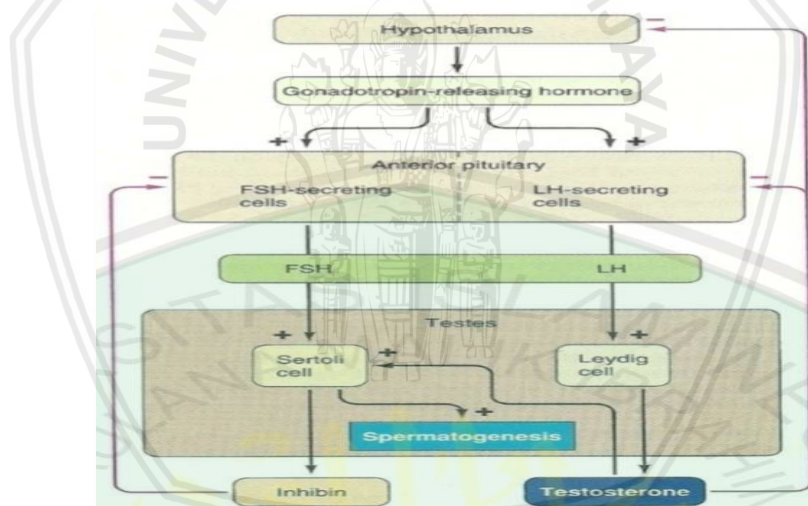
Akrosom adalah bagian anterior akhir inti spermatozoa dibungkus oleh akrosom tipis, lapisan membran yang menutup ini berbentuk pada saat proses pembentukan spermatozoa. Pada akrosom berisi beberapa enzim hidrolitik antara lain *proacrosin*, *esterase*, *hyaluronidase* dan *asam hidrolase* yang dibutuhkan pada proses fertilisasi. Bagian equator akrosom memiliki peran penting pada spermatozoa, hal ini karena bagian anterior post akrosom ini yang mengawali penggabungan dengan membran oosit pada proses fertilisasi (Susilawati, 2011).

Ekor spermatozoa dibagi menjadi leher, bagian tengah, pokok dan akhir. Leher menghubungkan potongan bagian basal plate bagian belakang dan bagian terbawah nukleus. Bagian basal plate pada bagian leher berlanjut sampai akhir, dengan sembilan serabut kasar yang mengeras pada selurus bagian ekor. Inti tengah pada ekor bersama dengan seluruh bagian ekor membentuk aksenoma. Aksenoma terdiri dari mikrotubulus yang berasal dari sentriol pada inti spermatozoa.

Aksonema dan fiber yang padat pada bagian tengah, sekelilingnya dibungkus oleh mitokondria. Pembungkus mitokondria ini tersusun mengelilingi serabut ekor. Aksonema bertanggung jawab pada pergerakan spermatozoa (Susilawati, 2011).

2.2.5 Peran Hormone Pada Spermatogenesis

Regulasi hormonal dalam sistem reproduksi jantan memiliki peranan penting. Hipotalamus, hipofisa anterior, dan testis adalah suatu poros yang mengambil bagian terdepan di dalam proses tekrsebut. Melalui sekresi hormon – hormon seks, organ – organ tersebut mengatur proses spermatogenesis (Pramudito, 2009).



Gambar 2.11 Pengaturan kerja hormonal testis sampai ke hipotalamus (Sherwood, 2005).

Mekanisme sekresi hormon gonadotropin dimulai dari, hipotalamus mensekresi *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH) untuk menstimulasi kelenjar hipofisa anterior untuk mensekresi *Luteinising Hormone* (LH) atau *Interstitial cell stimulating hormone* dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) secara bergantian. Kedua hormone ini memegang peran utama mengatur fungsi

seksual jantan. LH yang dilepaskan oleh hipofisa anterior bekerja untuk merangsang sel Leydig didalam testis untuk mensekresikan testosteron. Meningkatnya konsentrasi testosteron memberikan umpan balik negatif terhadap hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH dan menyebabkan umpan balik negatif terhadap hipofisa anterior untuk menekan sekresi LH. FSH dibawa melalui aliran darah menuju testis. FSH merangsang sel sertoli yang berada di dalam tubulus seminiferus untuk mensekresikan inhibin untuk menekan atau mengontrol sekresi FSH. Peningkatan konsentrasi inhibin menyebabkan terjadinya umpan balik negatif terhadap hipofisa anterior untuk menekan sekresi FSH (Purwoistri, 2010).

FSH pada testis mengakibatkan terpacunya *adenyl cyclase* di dalam sel sertoli yang berperan dalam meningkatkan produksi *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP), hal ini memicu produksi *androgen binding protein* (ABP) di dalam tubulus seminiferus dan di epididimis. ABP berfungsi mengangkut testosteron kedalam lumen tubulus seminiferus. Tanpa adanya ABP testosteron tidak dapat memasuki daerah lumen tubulus seminiferus. Dengan demikian FSH bekerja menyampaikan kadar androgen yang cukup untuk sel germinal dan memacu pendewasaan spermatozoa didalam epididimis (Guyton, 2008).

LH disekresi oleh kelenjar hipofisa anterior dibawa melalui aliran darah menuju testis. Didalam testis LH merangsang sel interstitial untuk mensekresi testosteron sebanding dengan LH yang tersedia. Gangguan pada proses sekresi dan pengangkutan LH dan FSH dapat mengganggu spermatogenesis (Prajogo, 2007). LH merupakan suatu glikoprotein, mengandung asam amino dan karbohidrat, dan sedikit mengandung asam sialat. Hormon ini memiliki reseptor pada sel interstitial

dan menstimulus sel-sel interstitial atau sel leydig pada testis sehingga terjadi sintesis dan pelepasan testosteron, dengan demikian LH biasa disebut juga dengan ICSH (*Interstitial cell stimulating hormone*). LH secara tidak langsung bekerja menstimulasi sifat-sifat kelamin sekunder dan kelenjar-kelenjar kelamin lengkap melalui kerja testosteron (Purwoistri, 2010).

Hormon testosteron memiliki fungsi dalam regulasi spermatogenesis, yaitu memacu pertumbuhan dan deferensiasi sel – sel spermatogenik. Testosteron juga berperan dalam menstimulasi pertumbuhan serta memelihara struktur dan fungsi organ – organ reproduksi (termasuk saluran kelenjar), serta memunculkan dan mempertahankan ciri dari kelamin jantan sekunder (Gofur *et al.*, 2014).

2.3 Pengaruh Pare (*Momordica charantia* Less) Terhadap Infertilitas Pada Tikus Jantan

Senyawa triterpenoid yang terdapat pada ekstrak buah pare hijau dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel spermatogenik (spermatogonia, spermatisit, spermatid dan spermatozoa). Saponin golongan triterpenoid mempunyai kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol penyusun membran sel. Lipid merupakan komponon membran sel yang utama. Struktur dasar dari membran sel berupa 2 susunan molekul lipid,yaitu fosfolipid dan glikolipid yang berperan sebagai penghalang masuknya molekul-molekul yang larut dalam air. Adanya ikatan antara triterpenoid dengan lipid mengakibatkan perubahan pada permeabilitas membran sel. Hal ini menyebabkan keluarnya berbagai komponen komponen yang berada didalam sel nutrisi yang dibutuhkan sel tidak dapat masuk ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel sehingga

proses metabolisme yaitu pembentukan energi berupa ATP (*Adenosin Trifosfat*) dalam mitokondria sebagai energi pembelahan sel dalam proses spermatogenesis (Purwoistri, 2010).

Lipid merupakan komponen membran sel yang utama. Struktur dasar dari membran sel berupa 2 susunan molekul lipid, yaitu fosfolipid dan glikolipid yang berperan sebagai penghalang masuknya molekul-molekul yang larut dalam air (Wurlina 2006 dan Kusumaningrum, 2008). Adanya ikatan antara triterpenoid dengan kolestrol mengakibatkan perubahan dan gangguan permeabilitas lapisan dari lipid terhadap molekul-molekul kecil yang larut dalam air (Purwoistri, 2010)

Membran sel berperan sebagai pemisah isi sel dengan lingkungan luar sel, mengendalikan pertukaran zat antar sel dengan lingkungan dan sebagai reseptor untuk hormon, glikoprotein pada permukaan sel. Molekul dan ion kecil masuk ke dalam sel melalui membran sel dalam dua arah. Gula, asam amino dan nutrisi memasuki sel dan produk limbah metabolisme keluar dari sel. Sel menyerap oksigen untuk respirasi seluler dan mengeluarkan karbon dioksida. Sel mengatur konsentrasi ion anorganik seperti Natrium, K^+ dan Cl^- dengan cara membolak bali arahnya dari satu arah ke arah lain melintasi membran sel (Campbell, 2004).

Permeabilitas membran sel penting dalam mengatur materi-materi yang masuk dan keluar sel, masuknya materi yang diperlukan dan mengeluarkan sisa metabolisme sel. Permeabilitas membran sel berkaitan erat dengan transport nutrisi seperti protein berupa asam amino, vitamin E, lemak berupa kolesterol yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Perubahan atau gangguan yang terjadi pada permeabilitas membran dan komponen penyusun

membran menyebabkan nutrien yang dibutuhkan tidak dapat masuk ke dalam sel, sisa metabolisme yang tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel. Proses metabolisme dalam pembentukan energi yang berupa ATP yang terjadi didalam mitokondria terganggu, energi yang terbentuk ini dipakai untuk pembelahan sel sperma. Jika proses pembelahan sel sperma terganggu maka terjadi gangguan pada proses spermatogenesis, pertumbuhan dan perkembangan spermatozoa (Purwoistri, 2010). Sehingga dengan adanya triterpenoid yang mempunyai kemampuan dalam membentuk ikatan kompleks dengan lipid penyusun membran sel spermatogenik, maka dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik (Campbell, 2004).

Terganggunya permeabilitas membran sel leydig mengakibatkan transfer zat makanan sebagai sumber energi biosintesis testosteron juga terganggu sehingga mengakibatkan kecenderungan penurunan kadar testosteron (Kapsul, 2007). Bila jumlah sel leydig menurun berarti jumlah testosteron menurun, penurunan testosteron berakibat ke hipotalamus, sehingga hipotalamus menghambat sekresi GnRH. Akibat penurunan sekresi GnRH menyebabkan hipofisa anterior menekan sekresi FSH dan LH. Jika sekresi LH menurun dapat menyebabkan berkurangnya jumlah sel leydig., maka kadar testosteron juga menurun, dengan demikian proses spermatogenesis terhambat (Susetyarini, 2004).

Mekanisme penurunan testosteron disebabkan terganggunya aktivitas adenil siklase karena kecilnya konsentrasi LH. Gangguan ini mengakibatkan cAMP menurun dan diikuti menurunnya fosforilasi protein intraseluler. Sehingga perubahan pregnenolon menjadi testosteron terganggu dan berakibat menurunkan kadar testosteron (Handayani, 2001). Hal ini dapat mengakibatkan adanya

penurunan jumlah spermatozoa, kualitas spermatozoa seperti abnormalitas spermatozoa, pergerakan atau motilitas spermatozoa terganggu, karena testosteron sebagai androgen berfungsi untuk mempertahankan spermatogenesis serta fertilitas pada hewan jantan, spermatogenesis berjalan dengan sempurna jika hormon testosteron disekresikan dalam jumlah normal oleh sel leydig dibawah pengaruh LH. Testosteron berdifusi dari sel leydig masuk kedalam tubulus seminiferus dan berperan dalam pematangan akhir spermatozoa. Adanya Ketidakseimbangan hormone - hormon ini dan terjadinya perubahan hormonal pada sistem reproduksi jantan berakibat pada spermatogenesis. Gangguan proses pematangan spermatozoa menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa kualitas spermatozoa seperti abnormalitas spermatozoa, pergerakan spermatozoa terganggu (Purwoistri, 2010).

2.4 Motilitas Sperma

Energi motilitas spermatozoa berasal dari *middle-piece* (bagian tengah) atau leher yang tersusun dari kumpulan-kumpulan mitokondria yang bertanggung jawab penuh dalam pemecahan substrat eksogen sehingga dihasilkan energi yang kemudian disalurkan kebagian ekor sehingga menyebabkan ekor dapat bergerak sebagai kemudi sekaligus pendorong spermatozoa. Kecepatan gerak spermatozoa sangat tergantung pada gerakan ekornya dan gerakan ekor sangat tergantung pada ketersediaan energi dalam tubuhnya. Ketersediaan energi dipengaruhi oleh suplai nutrisi sebagai bahan dasarnya. Sehingga dimungkinkan senyawa yang terkandung dalam buah pare mampu mengurangi spermatozoa yang bergerak dengan lemah. Spermatozoa yang bergerak dengan lemah dimungkinkan akibat kekurangan nutrisi yang dapat menyebabkan kurangnya ketersediaan energi, sehingga dapat

menyebabkan gerakan spermatozoa yang tidak sempurna walau spermatozoa memiliki morfologi yang normal (Fitria, 2000).

Pemeriksaan kualitas spermatozoa sangat dituntut kecepatan, ketepatan dan kecekatan dalam penanganan cairan semen karena kehidupan spermatozoa sangat tergantung pada kondisi media dan pengaruh lingkungan terutama temperatur. Spermatozoa mudah sekali terganggu oleh suasana lingkungan yang berubah Suhu. Kecepatan motilitas spermatozoa sangat dipengaruhi di antaranya oleh pergerakan ion-ion, transpor membran spermatozoa, dan membran spermatozoa. Gerakan cepat sangat berpengaruh dalam keberhasilan proses fertilisasi (Fitria, 2000).

Gerakan individu pada umumnya dan yang terbaik adalah pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan. Gerakan melingkar dan gerakan mundur sering merupakan tanda-tanda cold shock atau media yang tidak isotonik dengan semen. Gerakan berayun atau berputar di tempat sering terlihat pada semen yang tua, apabila kebanyakan spermatozoa telah berhenti bergerak maka dianggap mati (Feradis, 2010).

Menurut Toelihere (2005), penilaian gerakan individual spermatozoa mempunyai nilai 0 sampai 5, sebagai berikut:

0 : spermatozoa immotil atau tidak bergerak;

1 : pergerakan berputar di tempat

2 : gerakan berayun melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang

3 : antara 50 sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa

4: pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil

5 : gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat, menunjukkan 100% motil aktif

Motilitas dianggap normal bila 50% atau lebih bergerak maju atau 25% atau lebih bergerak maju (Laili, 2017).

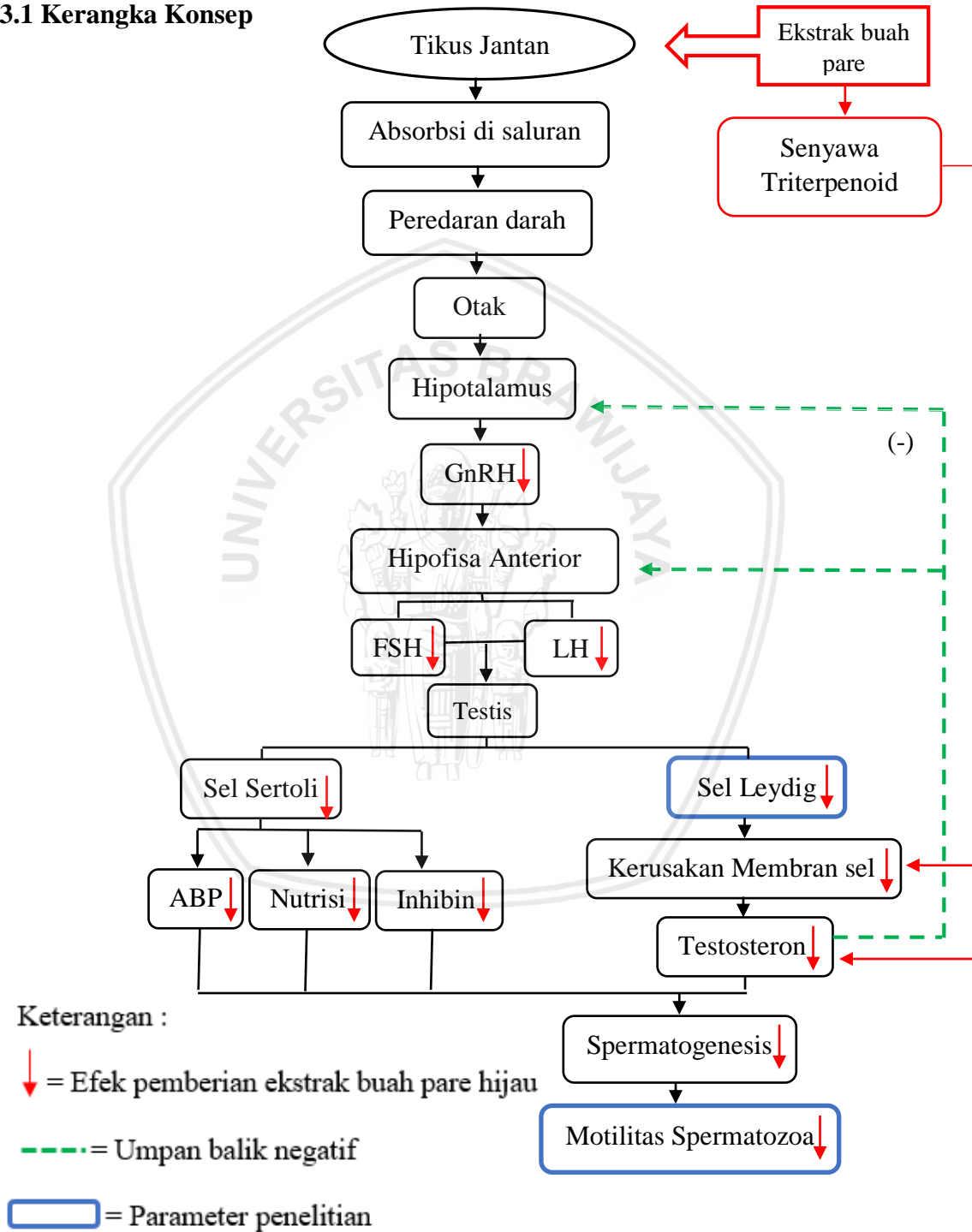
Pengambilan sperma dilakukan dengan metode flushing (pembilasan) dimana spermatozoa dari epididimis dikeluarkan seperti transportasi yang normal dengan memasukkan NaCl fisiologis 0,9% menggunakan jarum suntik berukuran kecil melalui vas deferens sehingga mendorong spermatozoa keluar melalui sayatan kecil pada posisi distal dari epididimis. Keuntungan teknik ini adalah mengurangi kontaminasi sehingga meningkatkan kualitas spermatozoa (Martinez Pastor *et al.*, 2005).

Suspensi spermatozoa ditetaskan pada gelas objek dan ditetaskan NaCl fisiologis 0,9% di atas object glass, kemudian dihomogenkan secara merata, kemudian ditutup menggunakan *cover glass*. Diamati adanya gerakan-gerakan spermatozoa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali sebanyak lima kali lapang pandang dan Spermatozoa yang bergerak ke depan diamati dibandingkan dengan yang tidak bergerak atau bergerak di tempat, dan dinyatakan dalam persentase (Solihati, 2013).

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang progresif}}{\text{total jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100$$

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less.*) yang mengandung senyawa triterpenoid diberikan selama 28 hari, diabsorpsi di saluran pencernaan kemudian diserap oleh pembuluh darah, mengikuti peredaran darah menuju organ sasaran, yaitu testis. Di dalam testis terdapat sel spermatogenik, sel sertoli dan sel leydig. Sel leydig, pembuluh darah, sel saraf dan jaringan ikat berada pada jaringan interstitial diantara celah tubulus seminiferus didalam testis. Sel leydig sebagai biosintesis testosteron.

Senyawa triterpenoid yang terdapat pada ekstrak buah pare hijau dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit, spermatid dan spermatozoa). Triterpenoid mempunyai kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan kolestrol penyusun membran sel. Lipid merupakan komponen membran sel yang utama. Struktur dasar dari membran sel berupa 2 susunan molekul lipid, yaitu fosfolipid dan glikolipid yang berperan sebagai penghalang masuknya molekul-molekul yang larut dalam air. Adanya ikatan antara triterpenoid dengan lipid mengakibatkan perubahan pada permeabilitas membran sel. Hal ini menyebabkan keluarnya berbagai komponen komponen yang berada didalam sel nutrisi yang dibutuhkan sel tidak dapat masuk ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel sehingga proses metabolisme yaitu pembentukan energi berupa ATP (*Adenosin Trifosfat*) dalam mitokondria sebagai energi pembelahan sel dalam proses spermatogenesis (Purwoistri, 2010).

Terganggunya permeabilitas membran sel leydig mengakibatkan transfer zat makanan sebagai sumber energi biosintesis testosteron juga terganggu sehingga

mengakibatkan kecenderungan penurunan kadar testosteron (Kapsul,2007). Bila jumlah sel leydig menurun berarti jumlah testosteron menurun, penurunan testosteron berakibat ke hipotalamus, sehingga hipotalamus menghambat sekresi GnRH. Akibat penurunan sekresi GnRH menyebabkan hipofisa anterior menekan sekresi FSH dan LH. Jika sekresi LH menurun dapat menyebabkan berkurangnya jumlah sel leydig., maka kadar testosteron juga menurun, dengan demikian proses spermatogenesis terhambat (Susetyarini, 2004).

Hal ini dapat mengakibatkan adanya penurunan jumlah spermatozoa, kualitas spermatozoa seperti abnormalitas spermatozoa, pergerakan atau motilitas spermatozoa terganggu, karena testosteron sebagai androgen berfungsi untuk mempertahankan spermatogenesis serta fertilitas pada hewan jantan, spermatogenesis berjalan dengan sempurna jika hormon testosteron disekresikan dalam jumlah normal oleh sel leydig dibawah pengaruh LH. Testosteron berdifusi dari sel leydig masuk kedalam tubulus seminiferus dan berperan dalam pematangan akhir spermatozoa. Adanya ketidakseimbangan hormone - hormon ini dan terjadinya perubahan hormonal pada sistem reproduksi jantan berakibat pada spermatogenesis. Gangguan proses pematangan spermatozoa menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa kualitas spermatozoa seperti abnormalitas spermatozoa, pergerakan spermatozoa terganggu (Purwoistri, 2010).

Ekstrak buah pare hijau merupakan kontrasepsi yang berbentuk surfaktan yaitu memiliki sifat yang mampu menurunkan tegangan permukaan, sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran. Motilitas sperma diatur oleh aktifitas enzim,

hambatan terhadap enzim dapat menyebabkan imobilisasi pada spermatozoa sehingga tidak mampu untuk bergerak secara aktif akibat adanya gangguan dari pemberian ekstrak buah pare hijau. Adanya kerusakan permeabilitas membran lipid di permukaan sel sperma ini mengakibatkan rusaknya enzim - enzim dan komponen sel-sel lain. Dengan bertambahnya hambatan enzim - enzim tersebut berarti pemberian energi ATP dimitokondria yang digunakan sebagai energi Bergeraknya spermatozoa terganggu (Yoni, 2009).

Dari hasil dan pembahasan diatas, dapat dilihat bahwa ekstrak buah pare hijau berpotensi sebagai agen kontrasepsi jantan karena dapat menekan produksi sperma dan dapat menurunkan kualitas dari spermatozoa.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) dapat menyebabkan penurunan jumlah sel leydig yang diketahui berdasarkan gambaran histopatologi tubulus seminiferus pada tikus (*Rattus novergicus*) jantan.
2. Pemberian ekstrak daging buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) dapat menurunkan persentase motilitas spermatozoa pada tikus (*Rattus novergicus*) jantan.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta di Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Pembuatan ekstrak etanol buah pare hijau (*Momordica Charantia Less*) di Fitokimia Meteria Medica Batu Malang. Waktu penelitian dilakukan selama 35 hari sudah termasuk aklimatisasi.

4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) kelamin jantan, berusia 2-3 bulan, sehat dengan berat badan tikus antara 150-200 gram. Hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Preparasi tikus dilakukan dengan mengelompokkan menjadi empat kelompok, yaitu tiga kelompok yang diberikan ekstrak pare dan satu kelompok kontrol. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Montgomery *et al.*, 2011).

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

keterangan :

P : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan rumus tersebut, maka untuk 4 macam kelompok perlakuan, masing-masing diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 5 kali, sehingga dapat disimpulkan dibutuhkan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) sebanyak 20 ekor.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan bersifat eksperime. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu :

K (-) : Tikus tidak diberikan perlakuan ekstrak hanya diberikan pakan dan minum.

P1 : Tikus diberikan ekstrak etanol buah pare 50mg/100gramBB/Hari diberikan selama hari 28 hari.

P2 : Tikus diberikan ekstrak etanol buah pare 75mg/100gramBB/Hari diberikan selama hari 28 hari.

P3 : Tikus diberikan ekstrak etanol buah pare 100mg/100gramBB/Hari diberikan selama hari 28 hari.

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan				
	1	2	3	4	5
Histopatologi sel leydig pada organ testis dan motilitas sperma					
Kontrol negatif (-)					
Perlakuan 1 (P1) Dosis 50 mg/100gram BB					
Perlakuan 2 (P2) Dosis 75 mg/100gram BB					
Perlakuan 3 (P3) Dosis 100 mg/100gram BB					

4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini adalah:

Variabel Bebas : Dosis ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) yang dibagi menjadi 3 yaitu 50 mg/100g BB, 75mg/100g BB dan 100 mg/100g BB.

Variabel terikat : jumlah sel leydig berdasarkan gambaran histopatologi testis dan persentase motilitas sperma.

Variabel Kontrol : jenis kelamin, umur, berat badan, Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar, pakan, kandang, suhu.

4.5 Materi Penelitian .

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain *wistar* umur 2-3 bulan, berat badan rata-rata 150-200 gram sebanyak 20 ekor.

Tikus didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, sekam halus, pakan konsentrat standar (bentuk pelet), air minum, buah pare hijau etanol 96%, aquades steril, larutan NaCl fisiologis 0,9%, alkohol, formalin, pewarna histologi hematoxilin eosin (HE).

4.5.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, adalah kandang tikus berupa bak plastik dan tutup kandang berbahan dasar kawat, botol minum tikus, sekam berupa parutan kayu halus, tempat pakan, sonde lambung, timbangan digital, blender, soxhlet, *rotary evaporator*, *object glass*, *cover glass*, kertas label, spidol, dissecting set, papan bedah, masker, *gloves*, cawan petri, mikroskop, mikropipet, penjepit, *stopwatch*, tissue, pot sampel organ.

4.6 Tahapan Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 gram. Tikus diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang Penggunaan hewan coba telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang No:1118-KEP-UB/2018. Tikus dibagi menjadi 1 kontrol negatif dan 3 kelompok perlakuan. Kontrol negatif adalah tikus yang tidak diberi perlakuan, hanya diberi pakan berupa ransum basal berbentuk pelet, serta diberikan air minum (kontrol negatif). Perlakuan 1 adalah tikus yang diberikan ekstrak pare hijau dosis 50 mg/100gBB, Perlakuan 2 adalah tikus yang

diberikan ekstrak pare hijau dosis 75 mg/100gBB, dan Perlakuan 3 adalah tikus yang diberikan ekstrak pare hijau dosis 100 mg/100gBB selama 28 hari secara oral menggunakan sonde lambung.

4.6.2 Metode Ekstraksi Buah Pare Hijau

Buah pare hijau hijau (*Momordica charantia less*) diperoleh dari pasar karangploso di daerah Malang. Pembuatan ekstrak Buah pare hijau hijau menggunakan metode maserasi. Pertama dipilih Buah pare hijau hijau yang berumur (± 3 bulan), Buah pare hijau hijau dibersihkan dicuci dengan aquades kemudian dipotong – potong kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 45°C . Sampel yang telah kering kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus. Serbuk tersebut kemudian dimaserasi dengan cara perendaman dengan pelarut etanol 96 % pada tabung erlenmeyer. Larutan etanol hasil maserasi pare kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dilakukan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 47°C sehingga didapatkan hasil ekstrak yang masih mengandung pelarut dalam volume yang kecil. Penguapan pelarut ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Komala, 2012).

4.6.3 Pemberian Ekstrak Buah pare hijau

Ekstrak Buah pare hijau (*Momordica charantia less*) dilakukan pada hari ke 8 setelah aklimatisasi. Ekstrak pare diberikan pada tikus kelompok Perlakuan 1 adalah tikus yang diberikan ekstrak pare hijau dosis 50 mg/100gBB, Perlakuan 2 adalah tikus yang diberikan ekstrak pare hijau dosis 75 mg/100gBB, dan Perlakuan 3 adalah tikus yang diberikan ekstrak pare hijau dosis 100 mg/100gBB selama 28 hari secara oral

menggunakan sonde lambung dengan pemberian satu kali dalam sehari. Pemberian dosis tersebut merupakan pengembangan dari penelitian Cholifah (2014).

4.6.4 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pengambilan organ testis pada hewan coba tikus (*Rattus Novergicus*) dilakukan pada hari ke-35 setelah diberikan perlakuan yaitu diberikan ekstrak Buah pare hijau dengan dosis bertingkat selama 28 hari. Organ testis didapatkan dengan cara euthanasia tikus melalui dislokasi leher. Tikus diletakkan dengan posisi rebah ventral kemudian dilakukan pembedahan pada bagian abdomen dengan posisi tikus rebah dorsal. Testi tikus diambil dan dicuci NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan ke dalam formalin 10% sebagai larutan fiktatif untuk pembuatan preparat histologi (Sulanda, 2014).

Pembuatan preparat histologi dilanjutkan dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin dilakukan menggunakan, zat pewarna hematoksilin berfungsi untuk memberi warna biru pada inti sel, dan eosin berfungsi untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma. Tahapan pembuatan preparat histopatologi testis yaitu dengan fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *sectioning*, pewarnaan HE dan pengamatan histopatologi.

4.6.5. Perhitungan Jumlah Sel Leydig

Jumlah sel Leydig adalah jumlah sel yang terdapat pada bagian interstisial testis atau di antara tubulus seminiferus yang satu dengan lainnya. Penghitungan dilakukan dengan mengamati jumlah sel-sel leydig secara histologis menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang kemudian hasil yang didapat dirata-ratakan (Widhiantara, 2010).

Persentase penurunan rataan sel Leydig adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ Rerata Sel Leydig} = \frac{\text{Rataan sehat} - \text{Rataan sakit}}{\text{Rataan sehat}}$$

4.6.6 Persentase Motilitas Spermatozoa

Pengambilan sperma dilakukan dengan metode flushing (pembilasan) dimana spermatozoa dari epididimis dikeluarkan seperti transportasi yang normal dengan memasukkan NaCl fisiologis 0,9% menggunakan jarum suntik berukuran kecil melalui vas deferens sehingga mendorong spermatozoa keluar melalui sayatan kecil pada posisi distal dari epididimis. Keuntungan teknik ini adalah mengurangi kontaminasi sehingga meningkatkan kualitas spermatozoa (Martinez Pastor *et al.*, 2005).

Suspensi spermatozoa ditetaskan pada gelas objek dan ditetaskan NaCl fisiologis 0,9% di atas object glass, kemudian dihomogenkan secara merata, kemudian ditutup menggunakan *cover glass*. Diamati adanya gerakan-gerakan spermatozoa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali sebanyak lima kali lapang pandang dan Spermatozoa yang bergerak ke depan diamati dibandingkan dengan yang tidak bergerak atau bergerak di tempat, dan dinyatakan dalam persentase (Solihati, 2013).

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang progresif}}{\text{Total jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100$$

Menurut Toelihere (2005), penilaian gerakan individual spermatozoa mempunyai nilai 0 sampai 5, sebagai berikut:

0 : spermatozoa immotil atau tidak bergerak;

1 : pergerakan berputar di tempat;

- 2 : gerakan berayun melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang;
- 3 : antara 50 sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa;
- 4: pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil;
- 5 : gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat, menunjukkan 100% motil aktif.

Motilitas dianggap normal bila 50% atau lebih bergerak maju atau 25% atau lebih bergerak maju (Laili, 2017).

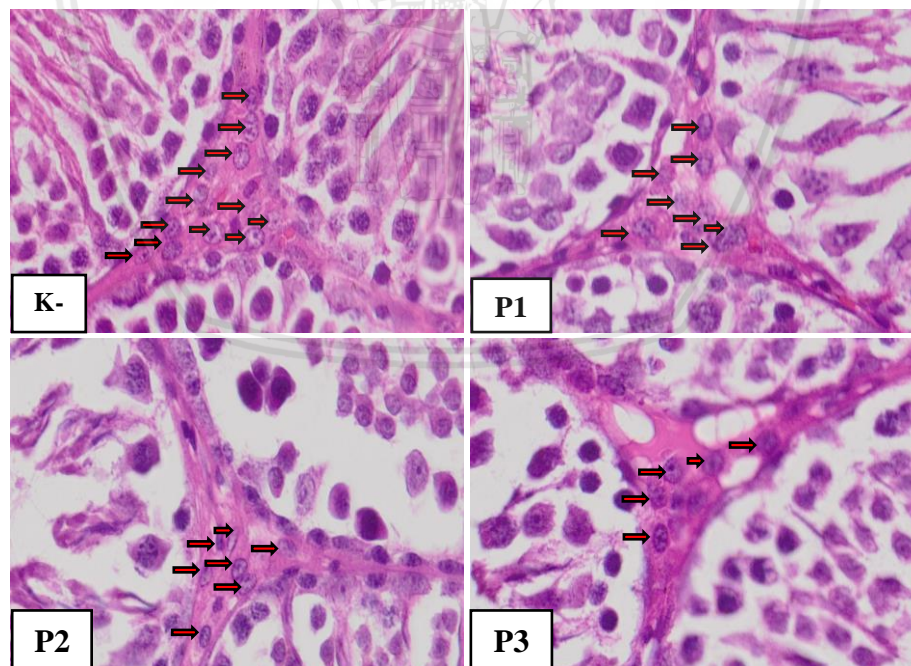
4.7 Analisis Data

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi perubahan jumlah sel leydig berdasarkan gambaran histopatologi organ testis dan persentase motilitas sperma. Gambaran histopatologi sel leydig diamati secara kuantitatif dengan mikroskop perbesaran 400x dihitung sebanyak 5 lapang pandang dan perhitungan persentase motilitas spermatozoa diamati secara kuantitatif dengan mikroskop perbesaran 400x dihitung sebanyak 5 lapang pandang, data yang diperoleh dari hasil perlakuan dianalisis dengan menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *SPSS for Windows* dengan analisis ragam ANOVA dan uji lanjutan Uji Tukey $\alpha = 0,05$.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica charantia* Less) terhadap Jumlah Sel Leydig Pada Gambaran Histopatologi Testis Tikus (*Rattus novergicus*)

Pada penelitian ini ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia* Less) diberikan selama 28 hari. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel leydig pada gambar histopatologi testis tikus. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel leydig sebanyak 5 lapang pandang. Sel leydig ditunjukkan pada gambaran histopatologi testis dengan tanda panah merah. Sel leydig terletak diantara tubulus seminiferus, sehingga mempunyai nama lain yaitu *Interstitial cell*, memiliki bentuk oval memiliki inti yang bulat dan sitoplasma granular yang eosinofilik.



Gambar 5.1. Histopatologi testis tikus dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 400x.

Keterangan: diberikan pewarnaan menggunakan Hematoksilin-Eosin dan diamati menggunakan perbesaran mikroskop 400x. Tanda merah \rightarrow =Sel leydig. K- Kontrol Negatif, P1 perlakuan pertama diberikan dosis ekstrak buah pare hijau 50 mg/100g BB, P2 perlakuan kedua diberikan dosis ekstrak buah pare hijau 75 mg/100g BB dan P3 perlakuan ketiga diberikan dosis ekstrak buah pare hijau 50 mg/100g BB.

Hasil pengamatan sel leydig pada gambaran histopatologi testis tikus (*Rattus novergicus*) menunjukkan adanya penurunan jumlah sel leydig dari setiap perlakuan dibandingkan dengan Kontrol Negatif (K-) yang memperlihatkan sel leydig lebih banyak dibandingkan perlakuan. Rata-rata jumlah sel leydig pada kelompok P1, P2 dan P3 secara statistika berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (K-), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) pada masing – masing perlakuan dosis P1 50mg/100gBB, P2 75mg/100gBB dan P3100mg/100gBB selama 28 hari sudah mampu menurunkan jumlah sel leydig secara signifikan, data hasil jumlah perhitungan sel leydig tersebut dapat dilihat pada (**Tabel 5.1**)

Tabel 5.1 Persentase penurunan jumlah sel leydig pada gambaran histopatologi testis tikus secara mikroskopik sebanyak 5 lapang pandang yang diberikan ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*).

Kelompok	Mean \pm SD	Persentase Penurunan Sel Leydig
Kontrol negatif K (-)	21.520 \pm .48166 ^d	-
P1 (Dosis 50 mg/100g BB/ekor/hari)	17.480 \pm .22804 ^c	18%
P2 (Dosis 75 mg/100g BB/ekor/hari)	12.560 \pm .62290 ^b	41%
P3 (Dosis 100 mg/100g BB/ekor/hari)	7.560 \pm .43359 ^a	64%

Keterangan : K(-) Kontrol Negatif, P1 Perlakuan Pertama, P2 Perlakuan kedua, P3 Perlakuan ketiga dan Notasi a,b,c dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan (P<0,05).

Berdasarkan analisis statistika menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey menunjukkan bahwa terjadi perubahan penurunan persentase

jumlah sel leydig antara Kontrol Negatif (tidak diberikan perlakuan pemberian ekstrak buah pare) diberikan pakan dan minum dengan perlakuan pertama (P1) yang diberikan ekstrak buah pare hijau dosis 50mg/100gBB mengalami penurunan yang signifikan, yaitu 17.480 ± 2.2804 sebanyak 18%, perlakuan kedua (P2) yang diberikan ekstrak buah pare hijau dosis 75mg/100gBB mengalami penurunan yang signifikan, yaitu 12.560 ± 6.2290 sebanyak 41% dan perlakuan ketiga (P3) yang diberikan ekstrak buah pare hijau dosis 100mg/100gBB mengalami penurunan yang signifikan, yaitu 7.560 ± 4.3359 sebanyak 64%. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*). dengan dosis bertingkat memberikan hasil yang signifikan terhadap penurunan jumlah sel leydig tikus jantan. pada (**Tabel 5.1**).

Penurunan persentase jumlah sel leydig pada kelompok Perlakuan P1,P2 dan P3 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) yang mengandung senyawa triterpenoid secara bertingkat yang diberikan selama 28 hari dapat menurunkan jumlah sel leydig. Ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) di absorpsi di saluran cerna. Ekstrak buah pare kemudian diserap oleh pembuluh darah, mengikuti peredaran darah menuju organ sasaran, yaitu testis.

Senyawa triterpenoid yang terdapat pada ekstrak buah pare hijau dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit, spermatid dan spermatozoa). Triterpenoid mempunyai kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan kolestrol penyusun membran sel. Lipid merupakan komponon membran sel yang utama. Struktur dasar dari membran sel berupa 2 susunan molekul lipid,yaitu fosfolipid dan glikolipid yang berperan sebagai

penghalang masuknya molekul-molekul yang larut dalam air. Adanya ikatan antara triterpenoid dengan lipid mengakibatkan perubahan pada permeabilitas membran sel. Hal ini menyebabkan keluarnya berbagai komponen-komponen yang berada di dalam sel nutrisi yang dibutuhkan sel tidak dapat masuk ke dalam sel dan sisa metabolisme tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel sehingga proses metabolisme yaitu pembentukan energi berupa ATP (*Adenosin Trifosfat*) dalam mitokondria sebagai energi pembelahan sel dalam proses spermatogenesis (Purwoistri, 2010).

Terganggunya permeabilitas membran sel Leydig mengakibatkan transfer zat makanan sebagai sumber energi biosintesis testosteron juga terganggu sehingga mengakibatkan kecenderungan penurunan kadar testosteron (Kapsul, 2007). Bila jumlah sel Leydig menurun berarti jumlah testosteron menurun, penurunan testosteron berakibat ke hipotalamus, sehingga hipotalamus menghambat sekresi GnRH. Akibat penurunan sekresi GnRH menyebabkan hipofisis anterior menekan sekresi FSH dan LH. Jika sekresi LH menurun dapat menyebabkan berkurangnya jumlah sel Leydig, maka kadar testosteron juga menurun, dengan demikian proses spermatogenesis terhambat (Susetyarini, 2004).

Penurunan hormon testosteron menyebabkan adanya mekanisme umpan balik negatif terhadap pituitari anterior untuk menghambat sekresi LH dan merangsang hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH. Penurunan sekresi GnRH menyebabkan penurunan sekresi FSH dan LH yang diproduksi oleh pituitari anterior. Adanya penurunan kadar testosteron yang tinggi di atas kadar normal menghambat spermatogenesis sehingga proses spermatogenesis tidak berjalan dengan normal.

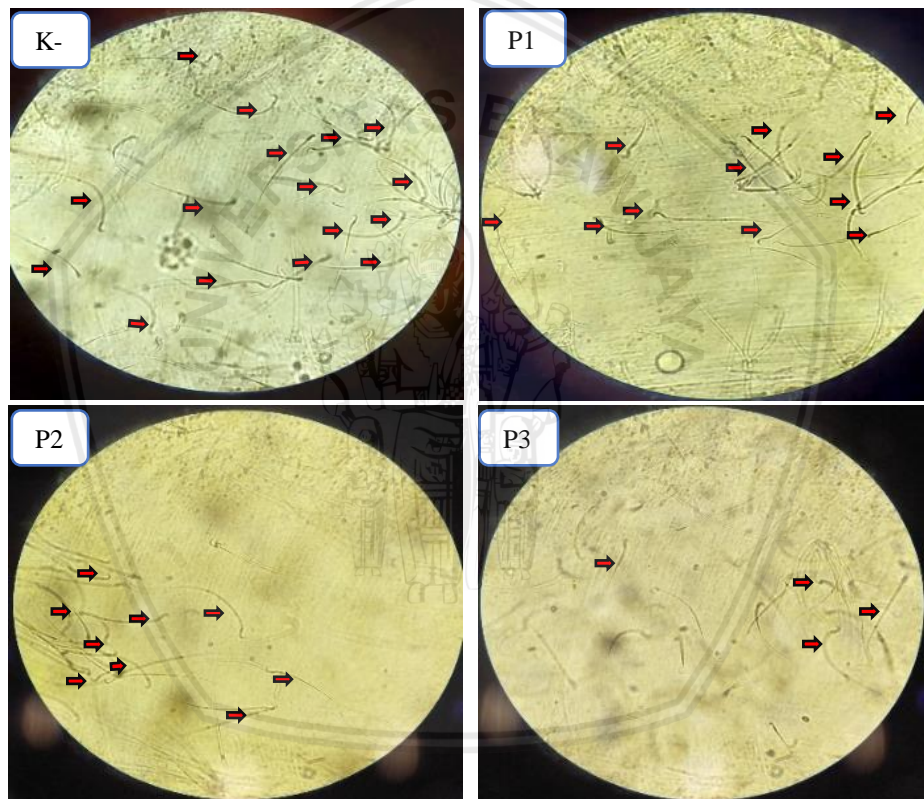
Sedangkan kadar testosteron dalam jumlah yang normal dalam darah berfungsi untuk memelihara dan mempertahankan spermatogenesis (Sherwood, 2005).

Penurunan sekresi LH yang diproduksi oleh pituitari anterior, dapat menyebabkan terganggunya kerja sel leydig dalam menghasilkan hormon testosteron. Hal ini dapat mengakibatkan adanya penurunan jumlah spermatozoa, kualitas spermatozoa seperti abnormalitas spermatozoa, pergerakan atau motilitas spermatozoa terganggu, karena testosteron sebagai androgen berfungsi untuk mempertahankan spermatogenesis serta fertilitas pada hewan jantan, spermatogenesis berjalan dengan sempurna jika hormon testosteron disekresikan dalam jumlah normal oleh sel leydig dibawah pengaruh LH. Testosteron berdifusi dari sel leydig masuk kedalam tubulus seminiferus dan berperan dalam pematangan akhir spermatozoa. Adanya ketidak seimbangan hormone - hormon ini dan terjadinya perubahan hormonal pada sistem reproduksi jantan berakibat pada spermatogenesis. Gangguan proses pematangan spermatozoa menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa kualitas spermatozoa seperti abnormalitas spermatozoa, pergerakan spermatozoa terganggu (Purwoistri, 2010). Jika keadaan ini terjadi dalam waktu yang cukup lama meningkatkan potensi infertilitas dan terhambatnya reproduksi hewan coba tersebut.

5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (*Momordica charantia* Less) terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa Tikus (*Rattus novergicus*)

Pada penelitian ini pengamatan persentase motilitas spermatozoa dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan sesegera mungkin setelah spermatozoa dikeluarkan

(Widiyani, 2006). Pengaruh pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) pada penelitian ini dapat menurunkan kualitas spermatozoa dilihat melalui perhitungan persentase jumlah motilitas spermatozoa tikus jantan yang diberikan ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) selama 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan penurunan pada masing – masing kelompok perlakuan tersebut (Tabel 5.2).



Gambar 5.2 Gambaran sel spermatozoa.

Keterangan: diamati dengan mikroskop perbesaran 400x. Tanda merah → =Spermatozoa.K- Kontrol Negatif, P1 perlakuan pertama diberikan dosis ekstrak buah pare hijau 50mg/100gBB, P2 perlakuan kedua diberikan dosis ekstrak buah pare hijau 75mg/100g BB dan P3 perlakuan ketiga diberikan dosis ekstrak buah pare hijau 50mg/100gBB.

Hasil pengamatan motilitas spermatozoa secara mikroskopik dengan perbesaran 400x dan dihitung sebanyak 5 lapang pandang, menunjukkan adanya penurunan persentase motilitas spermatozoa dari setiap perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif (K-) yang memperlihatkan motilitas spermatozoa lebih banyak dibandingkan perlakuan. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P1, P2 dan P3 secara statistika berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (K-), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) pada masing – masing perlakuan dosis P1 50mg/100g BB, P2 75mg/100g BB dan P3 100mg/100gBB selama 28 hari sudah mampu menurunkan persentase motilitas spermatozoa secara signifikan, data hasil persentase motilitas spermatozoa tersebut dapat dilihat pada **(Tabel 5.2)**

Uji motilitas spermatozoa dilakukan untuk mengetahui kualitas spermatozoa karena motilitas sangat berpengaruh terhadap pembuahan. Motilitas yang buruk menjadi faktor penting dalam penyebab terjadinya infertilitas pada jantan. Sifat gerakan spermatozoa menentukan kemandulan pada suatu individu, spermatozoa yang tidak bergerak (imotil) dan gerakan – gerakan yang abnormal tidak mampu membuahi ovum secara alami dan hanya menghambat perjalanan spermatozoa untuk mencapai ovum (Nurlaili,2011).

Tabel 5.2. Persentase penurunan motilitas spermatozoa tikus secara mikroskopik sebanyak 5 lapang pandang yang diberikan ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*).

Kelompok	Mean \pm SD	Persentase Penurunan Motilitas Spermaotzoa
Kontrol negatif K (-)	50.00 \pm 1.581 ^d	-
P1 (Dosis 50 mg/100g BB/ekor/hari)	40.00 \pm 1.871 ^c	10%
P2 (Dosis 75 mg/100g BB/ekor/hari)	30.00 \pm 1.225 ^b	20%
P3 (Dosis 100 mg/100gBB/ekor/hari)	20.00 \pm 0.707 ^a	30%

Keterangan : K(-) Kontrol Negatif, P1 Perlakuan Pertama, P2 Perlakuan kedua, P3 Perlakuan ketiga dan Notasi a,b,c dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P < 0,5$).

Berdasarkan analisis statistika menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey menunjukkan bahwa terjadi perubahan penurunan persentase motilitas spermatozoa antara Kontrol Negatif (tidak diberikan perlakuan pemberian ekstrak buah pare) diberikan pakan dan minum dengan perlakuan pertama (P1) yang diberikan ekstrak buah pare hijau dosis 50mg/100gBB mengalami penurunan yang signifikan, yaitu 40.00 \pm 1.871 sebanyak 10%, perlakuan kedua (P2) yang diberikan ekstrak buah pare hijau dosis 75mg/100gBB mengalami penurunan yang signifikan, yaitu 30.00 \pm 1.225 sebanyak 20% dan perlakuan ketiga (P3) yang diberikan ekstrak buah pare hijau dosis 100mg/100gBB mengalami penurunan yang signifikan, yaitu 20.00 \pm 0.707 sebanyak 30%. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*). dengan dosis bertingkat memberikan hasil yang signifikan terhadap persentase motilitas spermatozoa tikus (*Rattus novergicus*).

Pada (**Tabel 5.2**)

Pada pemberian ekstrak pare terlihat adanya gangguan motilitas karena adanya gangguan dari perkembangan sel. Hambatan ini mungkin disebabkan oleh

terhambatnya sumber energi dengan demikian sel spermatogenetik tidak dapat berkembang membentuk spermatozoa. Kemampuan spermatozoa untuk bergerak memiliki peranan penting dalam transport spermatozoa ke dalam reproduksi hewan betina. Adanya gangguan motilitas spermatozoa ini kemungkinan disebabkan karena adanya abnormalitas. Motilitas juga dipengaruhi oleh hambatan enzim, aktifitas membran. Ekstrak buah pare hijau merupakan kontrasepsi yang berbentuk surfaktan yaitu memiliki sifat yang mampu menurunkan tegangan permukaan, sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran. Motilitas sperma diatur oleh aktifitas enzim, hambatan terhadap enzim dapat menyebabkan imobilisasi pada spermatozoa sehingga tidak mampu untuk bergerak secara aktif akibat adanya gangguan dari pemberian ekstrak buah pare hijau. Adanya kerusakan permeabilitas membran lipid di permukaan sel sperma ini mengakibatkan rusaknya enzim – enzim dan komponen sel-sel lain. Dengan bertambahnya hambatan enzim -enzim tersebut berarti pemberian energi ATP di mitokondria yang digunakan sebagai energi Bergeraknya spermatozoa terganggu (Yoni, 2009).

Energi untuk motilitas bersumber pada bagian tengah sperma atau leher, karena dibagian tersebut terdapat mitokondria yang memecah bahan-bahan tertentu untuk menghasilkan energi. Selanjutnya energi tersebut disalurkan ke bagian distal yaitu ekor, yang berakibat timbulnya gerakan pada ekor. Jadi bagian tengah merupakan sumber untuk pergerakan spermatozoa. Energi yang keluar tersebut menyebabkan dua macam gerakan. Pertama gerakan ke ujung ekor yang makin lama makin melemah. Gerakan kedua adalah sirkular dengan arah melingkari batang tubuh

bagian tengah terus ke ujung ekor. Hasil dari dua gerakan tersebut menyebabkan motilitas spermatozoa yang bergerak lurus kedepan, lincah, aktif. Dari hal ini dapat disimpulkan bahwa hanya spermatozoa normal yang dapat bergerak secara normal, karena gerakan tersebut memerlukan keseimbangan dari semua bagian-bagian sperma (Yoni, 2009).

Menurut Yoni (2009) Motilitas merupakan alat atau sarana untuk memindahkan spermatozoa karena harus melalui saluran reproduksi hewan betina. Jadi penting artinya dalam transport spermatozoa ke dalam reproduksi hewan betina. Motilitas spermatozoa dapat terjadi karena adanya kontraksi fibril – fibril pada ekor spermatozoa. Hal tersebut dapat terjadi apabila spermatozoa memiliki energi berupa ATP. ATP dihasilkan dari metabolisme gula sederhana melalui respirasi. Respirasi dapat terjadi apabila spermatozoa mendapat asupan nutrisi dari luar sel (Rahardhianto *et al.*, 2012). Motilitas spermatozoa terjadi karena adanya gerakan dari flagel yang terdiri dari mikrotubulus. Gerak flagel adalah gerak geseran antara doublet yang diperantarai oleh dynein. Dynein merupakan protein yang memiliki gugus yang bertanggung jawab sebagai ATPase yang berperan terhadap terjadinya hidrolisis ATP. Dynein melakukan siklus pergerakan karena adanya ATP yang dihasilkan oleh mitokondria (Campbell *et al.*, 2004). ATP diaktifkan oleh enzim ATPase untuk melepas ikatan fosfat pertama sehingga terbentuklah ADP dan fosfat dengan melepas energi untuk kontraksi fibril. Apabila persediaan fosfat menurun, maka kontraksi fibril spermatozoa berhenti dan motilitas juga berhenti (Rahardhianto *et al.*, 2012).

Spermatozoa dapat menjadi motil karena adanya energi dari leher yang disalurkan ke bagian ekor. Bagian inilah yang menyebabkan spermatozoa bergerak maju, dengan demikian yang menjadi kunci untuk Bergeraknya spermatozoa adalah adanya produksi energi oleh mitokondria dibagian leher spermatozoa. Hasil pengamatan pada motilitas spermatozoa tikus jantan didapati penurunan jumlah motilitas dari setiap perlakuan dibandingkan dengan Kontrol Negatif. Hal ini dikarenakan pengaruh dari perlakuan pemberian ekstrak buah pare hijau hijau (*Momordica charantia Less*), yang berpengaruh terhadap kerja mitokondria dalam menghasilkan energi, sehingga adanya penurunan produksi energi oleh mitokondria. Hal ini menyebabkan mitokondria tidak maksimal dalam menghasilkan energi dan akhirnya berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) menurunkan jumlah sel leydig pada gambaran histopatologi testis tikus (*Rattus norvegicus*). Penurunan paling besar 64% yaitu dosis 100 mg/100g BB.
2. Pemberian ekstrak buah pare hijau (*Momordica charantia Less*) menurunkan persentase motilitas spermatozoa tikus (*Rattus norvegicus*). Penurunan paling besar 30% pada dosis 100 mg/100g BB.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat dilakukan yakni, perlu adanya penelitian pemberian ekstrak buah pare terhadap organ lainya.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTACK	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.5.1 Manfaat Akademis	5
1.5.2 Manfaat Praktis	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Pare (<i>Momordica charantia</i> Less)	7
2.1.1 Taksonomi Tanaman Pare	7
2.1.2 Daerah Distribusi, Habitat, dan Budidaya	8
2.1.3 Kandungan Pare (<i>Momordica charantia</i> Less).....	8
2.2 Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) Jantan	9
2.2.1 Sistem Reproduksi Tikus Jantan	10
2.2.2 Sel Leydig Pada Tikus Jantan	15
2.2.3 Spermatogenesis Pada Tikus Jantan	16
2.2.4 Sperma Tikus Jantan	22
2.2.5 Peran Hormone Pada Spermatogenesis	25

2.3 Pengaruh Pare (<i>Momordica charantia Less</i>) terhadap Infertilitas Pada Tikus Jantan	27
2.4 Motilitas Sperma	30
BAB III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	33
3.1 Kerangka Konsep	33
3.2 Hipotesis Penelitian	36
BAB IV. METODE PENELITIAN	37
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	37
4.2 Sampel Penelitian	37
4.3 Rancangan Penelitian	38
4.4 Variabel Penelitian	39
4.5 Materi Penelitian	39
4.5.1 Bahan Penelitian	39
4.5.2 Alat Penelitian	40
4.6 Tahapan Penelitian	40
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	40
4.6.2 Metode Ekstraksi Buah Pare	41
4.6.3 Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau	41
4.6.4 Pembuatan Preparat Histopatologi	42
4.6.5 Perhitungan Sel Leydig	42
4.6.6 Persentase Motilitas Sperma	43
4.7 Analisa Data	44
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (<i>Momordica charantia Less</i>) terhadap jumlah sel leydig tikus (<i>Rattus Novergicus</i>).....	45
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare Hijau (<i>Momordica charantia Less</i>) terhadap jumlah motilitas spermatozoa tikus (<i>Rattus Novergicus</i>).....	50
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	56
6.1 Kesimpulan	56
6.2 Saran	56

DAFTAR PUSTAKA	57
Lampiran	64



DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M.H.F, A.P.W. Marhendra and Aulanni'am. 2009. Pengaruh Paparan Lipopolosakarida pada Rongga Mulut dan Assisted Drainage Therapy (Adt) terhadap Kadar S-Ige dan Profil Radikal Bebas Pada Tikus Asma, Paper Presentasi pada Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV UIN Maliki, Malang, 24-25 Juli.
- Basch E, S. Gabardi, C. Ulbricht. 2003. Bitter melon (*Momordica charantia*): a review of efficacy and safety, *Am J Health Syst Pharm.*, 60(4): 356-9.
- Brockopp, D.Y. and T. H. Marie. 2000. *Fundamental of Nursing Research*. Cetakan Pertama. Boston: Jones and Bartlett Publishers, Inc pp: 148.
- Budhi Akbar. 2010. Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Adabia Press. UIN Jakarta.
- Chambers, R.C and G.J. Laurent. 2002. Coagulation Cascade Protease and Tissue Fibrosis. *Biochem Soc Trans.* 30: 194-201.
- Campbell, B. and E. Lack. 2004. *A Dictionary of Birds*. Buteo Book, Washington D.C.
- Chen, H. Ge, R. and Zirkin, B. R. 2009. Leydig Cell: From Stem Cell to Aging. *Mol Cell Endocrinal.* 306(1-2): 9-16.
- Cholifah, S. Arsyad and Salni. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia Less*) Terhadap struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Jantan (*Rattus Novergicus*) Spraque Dawley. Fakultas Kedokteran. Universitas Sriwijaya Palembang.
- Colon, E. 2007. Autocrine and Paracrine Regulation of Leydig Cells Survival in The Postnatal Testis. Karolinka Institutet. Stockholm
- Dalimartha, 2008. Atlas tumbuhan obat Indonesia (2). Jakarta: Trubus.
- Darwin, K. 2011. Pengaruh Paparan Asap Rokok Elektrik Terhadap Motalitas, Jumlah Sel Sperma Dan Kadar MDA Testis Mencit Jantan (*Mus Musculus*). Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Elia. Lusiana S. Janette. M. Rumbajan. 2015. Kualitas Spermatozoa Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Setelah Pemaparan Obat Nyamuk Elektrik Berbahan Aktif Transflutrin. Fakultas Kedokteran. Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 3, Nomor 1, Januari-April 2015

- Fawcett DW. 2002. Buku Ajar Histologi Bloom and Fawcetr. 12th ed Trans Tambayong J. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. Hal:
- Faranita OV. 2009. Kualitas Spermatozoa pada Tikus Wistar Jantan. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Ganong, WF. 1998. Fisiologi Kedokteran.
- Feradis, 2010. Bioteknologi reproduksi pada ternak. Alfabeta. Bandung. 18, 53, 74-75, 84-85.
- Fox JG. 2002. *Laboratory Animal Medicine 2nd*. New York: Academic pr.
- G.F. Weinbauer JG, M. Simoni, E. Nieschlag. *Andrology : Male reproductive Health and Dysfunction*. 2 ed. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2000.
- Gholib, D. 2009. Uji Daya Hambat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Candida albicans*. *Berita Biologi*. Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. 9(5).253-259.
- Girini MM, RN. Ahamed, RH. Aladakatti. 2005, Effect of graded doses of *Momordica charantia* seedextract on rat sperm: scanning electron microscope study, *J Basic Clin Physiol Pharmacol.*, 16(1):53-66.
- Grover JK, and YP. Yadav. 2004, Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review, *J Ethnopharmacol.*, 93(1):123-32.
- Guyton, A, C., and J.E. Hall. 2008. Fungsi Reproduksi Hormonal Pria. in: *Fisiologi Kedokteran alih bahasa Irawati et al.* eps 11. Jakarta: EGC.p.1055
- Hafez, E. S. E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animals*. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA.
- Hedrich, H.J. 2006. Taxonomy stock and strains. *The laboratory Rat: 71-92*
- Heffner, L.J., D.J Schust. 2008. *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi 2*. Jakarta: Erlangga. Hal; 26-27
- Hernawati. 2007. Perbaikan Kinerja Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanudin.
- Hess, R.A, and L.R. de Franca. 2008. Chapter 1: Spermatogenesis and Cycl Of The Seminiferous Epithelium. In: Cheng, C.Y., editor. *Molecular Mechanisme in Spermatogenesis*. Urbana: Landes Bioscience and springer Science and Bussiness Media.

- I Gede Widhiantara. 2010. Terapi Testosteron dan LH (*Luteinizing Hormone*) Meningkatkan Jumlah Sel Leydig Mencit (*Mus musculus*) yang Menurun Akibat Paparan Asap Rokok [Tesis]. Program Pascasarjana Universitas Udayana. Denpasar.
- Ilyas, S. 2007. Azoospermia dan Pemulihanya Melalui Regulasi Apoptosis Sel Spermatogenik Tikus (*Rattus sp*) Pada Penyuntikan Kombinasi TU dan MPA. Disertasi. Program Doktor Ilmu Niomedik FKUI
- Indah F M .2014. Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galus Sprague Dawley Secara in Vivo [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ismaini, L. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak (*Centella asiatica (L.) Urban* terhadap Fungi Patogen pada Daun Anggrek (*Bulbophyllum flavidiflorum Carr.*) Jurnal Penelitian Sains. Vol 14 No 1.
- Jones, E.E., DeChernery, A.H. 2005. The Male Reproductive System. In: Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Junqueira, L.C., J. Arneiro, R.O. Kelley. 2007. Histologi Dasar Edisi ke-8. Jakarta: EGC
- Jusuf, A.A. 2009. Histoteknik Dasar. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Komala, I., Ito., and F. Nagashima. 2010. Cyclooxygenase, Radical Scavenging, and Antimicrobial Activities of Sesquiterpenoids From *Tahtian Liveworth Mastigophora Diclodos (Brid)*. *Ness (Mastigopharacee)*. *J. Nat. Med*; 64:417-422.
- Krinke, G.J. 2000. The Laboratory Rat. San Diego, CA: Academic Press. Hal: 150-152.
- Kusumaningtyas, E., L. Sukmawati Dan E. Astuti. 2008. Penentuan golongan bercak senyawa aktif dari ekstrak n-heksan *Alpinia galanga* terhadap *Candida albicans* dengan bioautografi dan kromatografi lapis tipis. *JITV* 13(4): 323-328
- Kusumaningrum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya
- Larasati, Widya. 2013. Uji Antifertilitas Ekstrak Etil Asetat Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Pada Tikusputih Jantan (*Rattus Novergicus*) Galur

Sprague Dawley Secara In Vivo. Skripsi Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Lohiya, N.K., B. Manivannan, P.K. Mishra, N. Pathak, S. Sriram, S. Bhdane, and S. Panneerdoss. 2005. "Efficacy Trial on The Purified Compound of The Carica Papaya for Male Contraception in Albino Rat". *Reproductive Toxicology*. Vol.20: 135-148.

Lord MJ, NA. Jolliffe, CJ. Marsden, CS. Pateman, DC. Smith, RA. Spooner, PD. Watson, and LM. Roberts. 2003. Ricin Mechanisms of cytotoxicity, *Toxicol Rev.*, 22(1):53-64.

Malole, M.B.M., dan C.S.U. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaandi Laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.

Mangkoewidjojo, MS. 2006. *Hewan Laboratorium dalam Penelitian Biomedik*. Jakarta: UI Press.

Manika W., Tomaszewska, I Ketut Utama, I Gede Putu, dan Thamrin D Chaniago. 1991. *Reproduksi, Tingkah Laku Dan Reproduksi Ternak Di Indonesia*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama

Mendis-Handagama, S, M., Ariaratne, H, B. 2001. Differentiation of the Adult Leydig Cell Population in the Postnatal Testis. *Biol Reprod.* 63, 660-71.

Morais RD, Nóbrega RH, Gómez-González NE, Schmidt R, Bogerd J, França LR, Schulz RW. 2013. Thyroid hormone stimulates the proliferation of Sertoli cells and single type A spermatogonia in adult zebrafish (*Danio rerio*) testis. *Endocrinology*, 154:4365-4376

Mursito, B. 2002. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*. Cetakan I. Penebar Swadaya, Jakarta.

Myers, P. And D. Armitage. 2004. *Rattus norvegicus*, Animal Diversity Web, http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus.html yang diakses pada tanggal 21 April 2014

Nurlaili. 2011. *Pengaruh Pemberian Infusa Rimpang Kemarokan (Smilax Sp) Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan (Rattus Norvegicus)*. Program Studi Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Yogyakarta.

- Nur Laili D.H. 2017. *Penurunan Motilitas Spermatozoa Tikus Putih (Rattus Novergicus) Jantan Akibat Pemberian Infusa Buah Adas (Foeniculum vulgare Mill)*.Tasikmalaya: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada.
- Pakarainen T., F.P. Zhang, S. Makela, Poutanen, and I. Muhtaniemi. 2006. Testosterone replacement Theraphy Induces Spermatogenesis and Partially Restores Fertility in Luteinizing Hormone Receptor Knockout Mice. In: *Endocrinology*. Volume 146, No. 2. USA: The Endocrine Society.
- Partodihardjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara. Hal: 114.
- Purwoistri R.F. 2010. Pengaruh ekstrak Pepaya (Carica Pepaya L) Terhadap Spermatogenesis Dan Tebal Tubulus Seminiferus Testis Mencit (*Mus Musculus*) Jantan. Fakultas Sains dan Ilmu Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Qiang Dong M. P. H. 2004. Leydig Cell Function In Man. *Male Hypogonadism*. 10: 23-43.
- Rachmat A. S. 2010. The effect of momordica charantia l. Length administration toward total spermatozoa in adult male babl/c rats. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Rahardhianto, A., Nurlita and Ninis, T. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam Nacl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius Pangasius*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Sains and Seni*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Robby Cahyadi. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia L.*) terhadap Larva Artemia Salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Best (BST). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Rusmiati, 2007. Pengaruh Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio Zibethinus Murr*) Pada Struktur Mikronatomi Ovarium dan Uterus Mencit (*Mus Musculus*) Betina: Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Kalimantan Selatan
- Salisbury, G. W. and N. L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi (Physiologi and Artificial Insemination of Cattle)*. Diterjemahkan oleh Djanuar, R. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Satriyasa, B.K. 2008. Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda Dapat Menghambat Spermatisit Primer Pakhiten Mencit jantan (*Mus Musculus*).Bagian Farmasi. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar. Bali.

- Sherwood, L. 2005. *Human Physiology from Cells to System. 5th Edition*. United States Of America: Thomson Learning Inc. P. 686, 691-694.
- Sloane, E. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta. EGC
- Soewolo. 2000. *Fisiologi Manusia*. Malang: JICA
- Suckow, M. A., H. W. Steven, and L. F. Craig. 2006. *The Laboratory Rat Second Edition*. USA: American College of Laboratory Animal Medicine Series
- Sudarsono, D. G. 2002. *Tumbuhan Obat II Pusat Studi Obat Tradisional*. Yogyakarta
- Sulanda, DB. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur (*Vitis Vinifera*) Terhadap Ekspresi Interleukin-1-Beta (IL-1 β) Dan Gambaran Histopatologi Testis Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Galur Wistar Yang Diberikan Paparan Asap Rokok. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Sunarti, S. 2000. *Potensial dan Cara Pemanfaatan Bahan Tanaman Obat*. Yayasan Prosea Indonesia, Bogor.
- Sutrisno, L.H. 2010. Pengaruh Hormon Testosteron Undekanoat (TU) dan Medroksiprogesteron Asetat (MPA) Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Tikus Jantan. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Sustyarini, R., E. 2013. Jumlah Sel Spermatogenesis Tikus Putih Yang Diberi Tanin Daun Bluntas (*Pluchea Indica*) Sebagai Sumber Belajar Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS.
- Tati S.S. 2014. *Khasiat dan Manfaat PareSi pahit pembasmi penyakit*. Sukandar. Jakarta.
- Tilley LP and FWJ. Smith. 2000. *The 5 Minute Veterinary Consult Canine and Feline*. Williams & Wilkins. USA
- Toelihere, M. R. 2005. *Ilmu Kebidanan pada Ternak Sapi dan Kerbau*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta Welsh M, Saunders PT. Frisken M, et al. Identification in Rats of a Programming Window for Reroductive Tract Masculinization, Disruption of Which Leads to Hypospadias and Cryptorchidism. *The Journal of Clinical Investigation*. 2008:118: 1479-90

- Widhiantara, G. And Permatasari, A. P. 2017. Terapi Testosteron Meningkatkan Jumlah Sel Leydig dan Spermatogenesis Mencit (*Mus Musculus*) yang Mengalami Hiperlipedemia. *Jurnal Media Sains* 1(2) : 77-83
- Williams O. R. 2005. *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals* Third Edition. USA: Baltimore, Maryland. More Reproduction chapter 13 hal 379-399.
- World Health Organization. 2000. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Tradisional Medicine*. Geneva: World Health Organization.
- World Society for the Protection of Animals (WSPA). 2007. *Global Companion Animal Ownership and Trade:Project Summary*.
- Wurlina. 2006. Pengaruh Antiimplantasi Ekstrak. *Achyranthes Aspera* Linn pada Pembelahan Sel Embrio (Clavage) : Universitas Airlangga Surabaya.
- Yuda Angga, I. K., M. S. Anthara and Dharmayudha A. G. 2013. Identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia Less*) dan Pengaruhnya Terhadap Penurunan Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Bali.
- Yoni ,A. Fitriana, S and Rahayu, N.S. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia Less*) terhadap Motilitas dan Morfologi Sperma Mencit. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta.