

**PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK TERONG
CEPOKA (*Solanum torvum*) DENGAN EKSTRAK BIJI
KAPUK (*Ceiba pentandra*) TERHADAP EKSPRESI
CASPASE 1 TESTIS DAN VIABILITAS
SPERMATOZOA PADA TIKUS
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh:

Taufiq Maulana Fuad

155130100111038



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

**PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK TERONG
CEPOKA (*Solanum torvum*) DENGAN EKSTRAK BIJI
KAPUK (*Ceiba pentandra*) TERHADAP EKSPRESI
CASPASE 1 TESTIS DAN VIABILITAS
SPERMATOZOA PADA TIKUS
(*Rattus novergicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

Taufiq Maulana Fuad

155130100111038



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK TERONG CEPOKA (*Solanum torvum*) DENGAN EKSTRAK BIJI KAPUK (*Ceiba pentandra*) TERHADAP EKSPRESI CASPASE 1 TESTIS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA PADA TIKUS (*Rattus novergicus*)****Oleh:****Taufiq Maulana Fuad****155130100111038**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 2 Mei 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 1898802 2 001

drh. Yudit Oktanella, M.Si

NIK. 201405 881022 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Dr. ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc

NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Taufiq Maulana Fuad
NIM : 155130100111038
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

Perbandingan Pengaruh Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum*) dengan Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra*) Terhadap Ekspresi Caspase 1 Testis dan Viabilitas Spermatozoa Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

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, 2 Mei 2019
Yang menyatakan,

Taufiq Maulana Fuad
NIM. 155130100111038

Perbandingan Pengaruh Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum*) dengan Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra*) Terhadap Ekspresi Caspase 1 Testis dan Viabilitas Spermatozoa Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

ABSTRAK

Terong cepoka dan biji kapuk merupakan salah satu tanaman lokal yang bersifat antifertilitas pada hewan jantan. Ekstrak terong cepoka dan biji kapuk diharapkan dapat diaplikasikan sebagai alat kontrasepsi alami pada hewan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk terhadap fertilitas tikus jantan melalui ekspresi caspase 1 testis dan viabilitas spermatozoa. Subjek penelitian berupa tikus jantan strain wistar berumur 3 bulan dengan berat 200-250 gram dengan 3 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok menggunakan 6 ekor tikus putih. K (-): Tikus tidak diberi perlakuan ekstrak terong cepoka atau biji kapuk. P1: Tikus diberi perlakuan ekstrak terong cepoka dengan dosis 1 g/kg BB. P2: Tikus diberi perlakuan ekstrak Biji kapuk dengan dosis 0,1 g/kg BB. Ekstrak terong cepoka dan biji kapuk dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol. Ekspresi caspase 1 testis dianalisis menggunakan metode imunohistokimia dengan antibodi anti caspase 1. Viabilitas spermatozoa dianalisis menggunakan pewarnaan eosin. Analisis ekspresi caspase 1 testis dan data viabilitas spermatozoa dengan uji *One Way ANOVA* dan uji Kruskal-Wallis dan uji lanjutan Tuckey dan Mann-Whitney dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji kapuk dapat meningkatkan ekspresi caspase 1 testis secara signifikan ($P<0,05$) dengan jumlah rata-rata $80,9\pm 9,69$. Ekstrak terong cepoka secara signifikan ($P<0,05$) mempengaruhi viabilitas spermatozoa dengan jumlah rata-rata $49,00\pm 12,01$. Ekstrak biji kapuk secara signifikan ($P<0,05$) mempengaruhi viabilitas spermatozoa dengan jumlah rata-rata $51,00\pm 4,85$. Kesimpulan penelitian ini adalah terong cepoka dan biji kapuk dapat menekan fertilitas pada tikus jantan.

Kata kunci : *Infertilitas, caspase 1, viabilitas spermatozoa*

**Comparison of the Effect of Cepoka Eggplant Extract (*Solanum torvum*)
and Cottonseeds Extract (*Ceiba pentandra*) Towards Caspase 1
Expression and Viability of Spermatozoa On Rats (*Rattus novergicus*)**

ABSTRACT

Cepoka eggplant and cottonseeds are one of the local plants which contain antifertility compound to male animals. Cepoka eggplant extract and cottonseeds are expected to be applied as natural contraceptives in animals. The aim of this study was to determine the effect of the extract of eggplant cepoka and cottonseeds on the fertility of male rats through testicular caspase 1 expression and the viability of spermatozoa. The research subjects were 3 months old wistar strain male rats weighing 200-250 grams with 3 treatment groups, each group using 6 white rats. K (-): Mice not treated with eggplant cepoka extract or cottonseeds. P1: Mice are treated with eggplant cepoka extract at a dose of 1 g / kg BW. P2: Mice treated with cottonseeds extract at a dose of 0.1 g / kg BW. Eggplant cepoka extract and cottonseeds are made by maceration with ethanol solvents. The expression of caspase 1 testis was analyzed using immunohistochemistry with anti caspase 1 antibodies. Viability of spermatozoa was analyzed using eosin staining. Analysis of testis caspase 1 expression and spermatozoa viability data by One Way ANOVA and Kruskal-Wallis and Tuckey and Mann-Whitney tests with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$). The results showed that cottonseeds extract significantly increased the caspase 1 testis expression significantly ($P < 0.05$) with an average number of 80.9 ± 9.69 . Cepoka eggplant extract significantly ($P < 0.05$) affected the viability of spermatozoa with an average number of 49.00 ± 12.01 . cottonseeds extract significantly ($P < 0.05$) affected the viability of spermatozoa with an average number of 51.00 ± 4.85 . The conclusion of this study is that eggplant cepoka and cottonseeds can suppress fertility in male rats.

Keywords: *Infertility, caspase 1, viability spermatozoa*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul Perbandingan Pengaruh Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum*) dengan Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra*) Terhadap Ekspresi Caspase 1 Testis dan Viabilitas Spermatozoa Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan lancar.

Selama proses penulisan dan penyusunan proposal ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

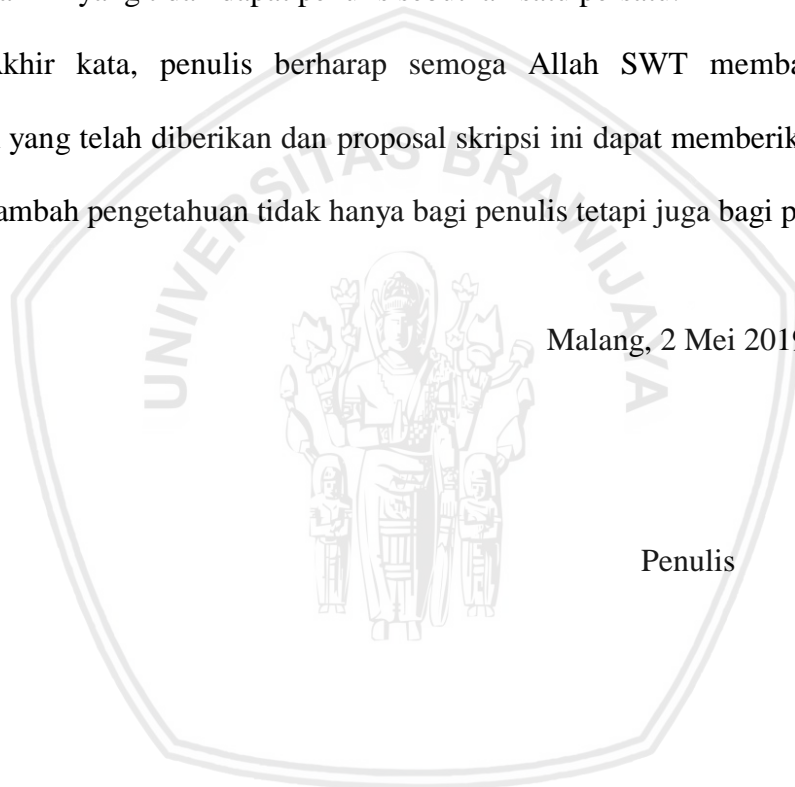
1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh.,DES selaku pembimbing I dan drh. Yudit Oktanella, M.Si selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat, arahan, serta saran kepada penulis.
2. drh. Aulia Firmawati, M.Vet. dan drh. Desi Wulansari, M.Vet. selaku dosen penguji atas segala ilmu, dukungan, serta saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan tugas akhir ini.
3. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
4. Drh. Nurina Titisari, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik atas bimbingan, nasehat, arahan, serta saran kepada penulis.
5. Seluruh staf dan karyawan FKH UB, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam membuat tugas akhir.

6. Keluarga penulis yang selalu mendukung penulis dalam segala kondisi.
7. Kelompok skripsi; Hevin, Kama, Afwan, Satria, dan Liza atas segala dukungan dan kerjasamanya.
8. Seluruh kolega FKH UB yang selalu memberi keceriaan dan inspirasi.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 2 Mei 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Reproduksi Tikus Putih Jantan	5
2.2 Ekstrak Terong Cepoka (<i>Solanum torvum</i>)	7
2.3 Ekstrak Biji Kapuk (<i>Ceiba pentandra</i>)	8
2.4 Aktivasi Caspase	11
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	13
3.2 Hipotesa Penelitian	15
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	16
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	16
4.3 Sampel Penelitian	16
4.4 Rancangan Penelitian	17
4.5 Variabel Penelitian	18
4.6 Prosedur Kerja	18
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	18
4.6.2 Pembuatan dan Pemberian Ekstraksi Biji Kapuk dan Terong Cepoka	18
4.6.3 Euthanasia dan Pembedahan	19
4.6.4 Analisa Viabilitas Spermatozoa	19
4.6.5 Analisis Ekspresi Caspase 1 Testis Dengan Metode Imunohistokimia (IHK)	20
4.6.6 Analisis Data	21
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	

5.1 Perbandingan Pengaruh Pemberian Ekstrak Terong Cepoka (<i>Solanum torvum</i>) dengan Ekstrak Biji Kapuk (<i>Ceiba pentandra</i>) Terhadap Ekspresi Caspase 1 Testis.....	22
5.2 Perbandingan Pengaruh Pemberian Ekstrak Terong Cepoka (<i>Solanum torvum</i>) dengan Ekstrak Biji Kapuk (<i>Ceiba pentandra</i>) Terhadap Viabilitas Spermatozoa.....	26
BAB 6 KESIMPULAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Spermatogenesis pada hewan tikus.....	6
2.2. Terong Cepoka (<i>Solanum torvum</i>).....	7
2.3. Pohon dan Buah Kapuk (<i>Ceiba pentandra</i>).....	9
3.1. Kerangka Konsep.....	13
5.1. Ekspresi caspase 1 testis dengan Perbesaran 400x.....	22
5.2. Ilustrasi aktivasi caspase.....	24
5.3. Viabilitas Spermatozoa dengan Perbesaran 400x.....	27



DAFTAR TABEL

Gambar	Halaman
5.1. Tabel Ekspresi Caspase 1 Testis (%).....	23
5.2. Tabel Viabilitas Spermatozoa (%).....	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Rancangan Operasional	37
2. Surat Laik Etik	38
3. Surat Keterangan Ekstraksi Terong Cepoka dan Biji Kapuk.....	39
4. Metode Immunohistokimia untuk Ekspresi Caspase 1 testis.....	41
5. Pembuatan Preparat Viabilitas Spermatozoa.....	42
6. Perhitungan Dosis Ekstrak Terong Cepoka.....	43
7. Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Kapuk.....	44
8. Perhitungan Statistika Ekspresi Caspase 1 Testis.....	45
9. Perhitungan Statistika Viabilitas.....	48



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: persen
±	: plus-minus
μL	: mikroliter
HE	: Hematoksilin Eosin
IHK	: Imunohistokimia
IL	: interleukin
IU	: <i>International Unit</i>
mg/kg BB	: miligram per kilogram berat badan
°C	: derajat celcius
PBS	: <i>phospat buffer saline</i>
pH	: <i>power oh hidrogen</i>
PMN	: polimorfonuklear
RAL	: Rancangan Acak Lengkap



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan populasi hewan terus meningkat dikarenakan sulitnya melakukan kontrol terhadap perkembangbiakannya. Penyakit dari anjing dan kucing yang bersifat zoonosis juga menjadi perhatian khusus untuk keselamatan manusia. Oleh karena itu, tindakan mengontrol populasi kucing dan anjing liar menjadi penting untuk dilakukan. Sejauh ini upaya untuk menekan populasi kucing dan anjing hanya sebatas dilakukan dengan ovariohisterectomy untuk hewan betina dan kastrasi untuk hewan jantan. Namun kendala yang timbul akibat ovariohisterectomy dan kastrasi adalah dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan dari penggunaan obat anestesi dan obat post operasi, serta dapat menimbulkan komplikasi dari pembedahan.

Beberapa metode untuk mencegah kebuntingan pada anjing telah banyak berkembang, diantaranya dengan immunokontrasepsi dengan protein zona pellucida pada hewan betina (Paterson, 2000), operasi untuk dilakukan sterilisasi pada hewan jantan maupun betina (Root, 2012), hormon antifertilitas dengan imun aktif terhadap Luteinizing Hormone – Releasing Hormone (LHRH) pada hewan jantan (Steven, 2005), dan penggunaan cytotoxin (Rhodes, 2016). Semua metode tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan yang beragam. Pilihan metode terbaik tentu sangat bergantung pada kebutuhan. Metode yang terbaik ialah yang memiliki efek samping paling sedikit, murah, mudah, dan lebih efektif (Ferro, 2018).

Penelitian mengenai obat tradisional atau bahan alam yang berkhasiat sebagai kontrasepsi untuk anjing dan kucing masih sangat kurang. Salah satu bahan baku obat tradisional yang bersifat antifertilitas adalah biji kapuk (*Ceiba pentandra*) dan terong cepoka (*Solanum torvum*). Biji kapuk (*Ceiba pentandra*) mengandung zat gosipol dan terong cepoka (*Solanum torvum*) mengandung zat solasodin yang berpotensi sebagai bahan kontrasepsi alami pada hewan (Marzouk, 2005). Caspase 1 merupakan indikator terjadinya pyroptosis akibat induksi dari senyawa toksik yang dapat menyebabkan penurunan fertilitas tikus jantan (Miao, 2010). Viabilitas spermatozoa merupakan indikator penurunan fertilitas tikus jantan akibat induksi senyawa yang bersifat kontraseptik (Parodi, 2013). Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian mengenai perbedaan pengaruh ekstrak biji kapuk dan ekstrak terong cepoka sebagai obat kontraseptik secara in vivo, dengan menggunakan hewan coba tikus putih jantan dewasa.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang didapat adalah:

1. Apakah terdapat perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) secara oral terhadap ekspresi caspase 1 testis pada tikus (*Rattus novergicus*) ?
2. Apakah terdapat perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) secara oral terhadap viabilitas spermatozoa pada tikus (*Rattus novergicus*) ?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan model yang didapatkan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain *wistar* umur 75-90 hari dengan berat 200-250 gram. Penggunaan hewan coba telah mendapatkan sertifikasi dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan No. 967-KEP-UB (**Lampiran 2**).
2. Ekstrak biji kapuk dan terong cepoka diberikan secara oral 1 kali dalam sehari, pagi sebelum tikus diberi makan dengan dosis ekstrak terong cepoka 1 g/kg berat badan dan dosis ekstrak biji kapuk 0,1 g/kg berat badan.
3. Presentase viabilitas spermatozoa dilihat dan dihitung dengan pewarnaan *Eosin* dan dihitung menggunakan Optilab Image Raster.
4. Pengamatan ekspresi Caspase 1 testis menggunakan metode Imunohistokimia dengan software Immunoratio.
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain adalah ekspresi Caspase 1 testis dan viabilitas spermatozoa.
6. Terong cepoka didapatkan dari pasar tradisional kota Malang, sedangkan biji kapuk didapatkan dari Goa Ngerong Tuban.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan penelitian adalah:

1. Mengetahui perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) secara oral terhadap ekspresi caspase 1 testis pada tikus (*Rattus novergicus*).
2. Mengetahui perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) secara oral terhadap viabilitas spermatozoa pada tikus (*Rattus novergicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka manfaat penelitian adalah:

1. Memperoleh informasi perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) terhadap ekspresi caspase 1 testis dan viabilitas spermatozoa pada tikus (*Rattus novergicus*).
2. Memperoleh informasi senyawa yang paling efektif diantara terong cepoka (*Solanum torvum*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra*) terhadap ekspresi caspase 1 testis dan viabilitas spermatozoa pada tikus (*Rattus novergicus*).

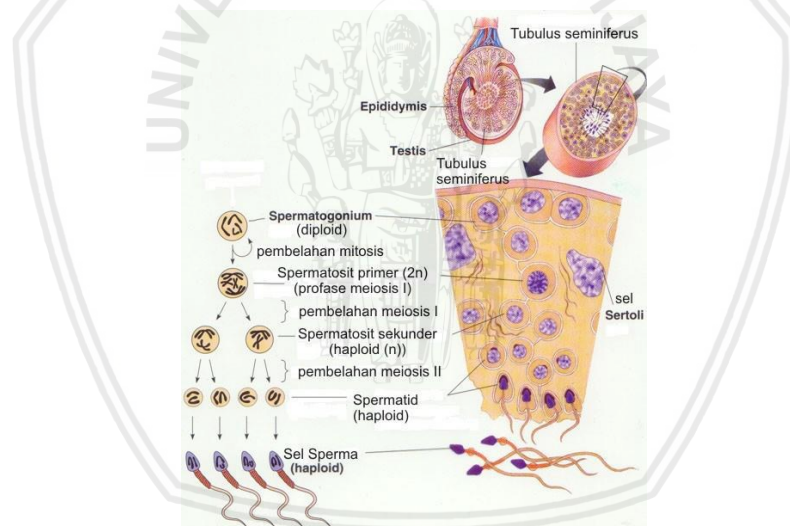
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Spermatogenesis

Testis merupakan kelenjar utama dalam sistem reproduksi tikus jantan yang berfungsi dalam produksi spermatozoa (spermatogenesis) dan sintesis hormon jantan. Testis berjumlah sepasang, terletak di inguinal, tersimpan dalam kantung skrotum. Spermatogenesis merupakan serangkaian peristiwa sitologi untuk pembentukan spermatozoa massal dari spermatogonia pada jantan dewasa. Proses ini berlangsung di dalam testis secara terus-menerus selama masa reproduksi. Sel Leydig terdapat diantara tubulus seminiferus, merupakan sel interstitial berfungsi untuk mensekresikan hormon testosteron ke dalam pembuluh darah. Selain itu didalam tubulus seminiferus juga terdapat sel sertoli, yang berperan secara metabolik dan struktural untuk menjaga spermatozoa yang sedang berkembang dan memfagosit sitoplasma spermatid yang telah dikeluarkan. Sel sertoli mensekresikan *Androgen Binding Protein (ABP)*, inhibin dan *Mullerin Inhibiting Substance (MIS)* (Hasanah, 2009).

Spermatogenesis berlangsung di dalam tubulus seminiferus testis. Spermatogonia, spermatosit, dan spermatid berasosiasi secara spesifik membentuk siklus spermatogenik atau staging yang bervariasi antarspecies. Spermatogenesis meliputi beberapa fase, yaitu: mitosis, meiosis, spermiogenesis, golgi, capping, acrosomal, dan maturasi. Spermatozoa sebagai produk spermatogenesis mengalami migrasi dari tubulus seminiferus testis menuju epididimis untuk maturasi dan disimpan sementara. Spermatogenesis adalah proses dinamis

perkembangan sel-sel spermatogenik dari tahap spermatogonia sampai terbentuk spermatozoa. Spermatogenesis dipengaruhi oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen meliputi hormonal, psikologi, dan genetika. Faktor eksogen dapat berupa bahan kimia dan obat-obatan. Selama proses maturasi spermatozoa didalam epididimis, spermatozoa mengalami perubahan struktural maupun fungsional yaitu: maturasi dalam sistem metabolisme energi yang penting dalam mempertahankan motilitas, perubahan permukaan membran plasma yang penting untuk interaksi spermatozoa dan ovum, maturasi akrosomal dan enzim yang diperlukan dalam proses fertilisasi, perubahan chromatinum nukleus, dan



hilangnya *cytoplasmic droplets* (Ahmadnia et al., 2007).

Gambar 2.1 Spermatogenesis pada hewan tikus (Ahmadnia et al., 2007)

Viabilitas spermatozoa (viable sperm) adalah salah satu indikator untuk menguji spermatozoa yang hidup dengan membran yang masih utuh. Viabilitas spermatozoa dinilai dengan memeriksa rasio hidup dan mati. Viabilitas spermatozoa dapat diuji dengan menggunakan pewarnaan eosin. Komponen warna eosin nigrosin akan masuk ke dalam membran sel yang rusak dan akan

mewarnai membran sel menjadi merah ungu. Sel spermatozoa yang memiliki membran utuh tidak menyerap warna yang diberikan sehingga tetap jernih. Keutuhan membran plasma spermatozoa merupakan hal yang sangat memengaruhi fungsi spermatozoa (Gordon 2005).

2.2 Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum*)

Terong cepoka merupakan jenis tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Bagian tanaman yang dimanfaatkan untuk dikonsumsi adalah buahnya, baik sebagai sayuran ataupun lalapan. Tanaman ini memiliki senyawa sterol carpesterol yakni pada buah dan daunnya. Buah dan daunnya mengandung alkaloid steroid yaitu jenis solasodin, solasonin, chlorogenin. Kandungan kimia jenis solasodin sebesar 0,84%. Kandungan solasodin dalam biji dan lendir buah mencapai 5,5% yang berdasarkan informasi dapat dijadikan sebagai alat kontrasepsi berbasis bahan alam (Sirait, 2009).



Gambar 2.2. Terong Cepoka (*Solanum torvum*) (Yuanyuan et al. 2009)

Solasodin adalah aglicon suatu alkaloid yang mempunyai inti steroid (Fieser and Fieser, 2011). Solanum termasuk tanaman sebagai sumber bahan antifertilitas yang tergolong dalam kelompok Estrogenic agent. Alkaloid Solanum

bersifat kompetitif terhadap reseptor FSH (*follicle stimulating hormone*), sehingga pelepasan FSH dari hipofisis akan terganggu, FSH berperan sebagai mediator untuk mengikat androgen dalam spermatogenesis. Jika pelepasan FSH terganggu maka keseimbangan hormonal pada sumbu hipotalamus-hipofisis-testis menjadi tidak stabil, dan pengikatan androgen dalam spermatogenesis terganggu pula. Hal ini akan menurunkan aktivitas spermatogenesis. Menurut Bardin (2009) untuk keberlangsungan proses spermatogenesis diperlukan keseimbangan hormonal pada sumbu hipotalamus-hipofisistestis. Jika aktivitas spermatogenesis menurun maka fertilitasnya juga menurun (Soehadi dan Arsyad, 2013).

Solasodin mempunyai sifat toksik yang dapat merusak mitokondria dan menghambat proses metabolisme ATP dari glukosa pada spermatozoa (Wahyuni, 2001). Menurut Li (2016) alkaloid dapat meningkatkan aktivasi inflammasome dan meningkatkan pelepasan caspase-1. Alkaloid pada solasodin mengaktifkan (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome melalui retikulum endoplasmic (RE) stress-mitochondria axis. Alkaloid mengganggu proses pembentukan ATP oksidatif fosforilasi dengan menghambat mitochondrial succinic dehydrogenase dan melepaskan cytochrome C ke sitoplasma (Arinbasarova, 2012).

2.3 Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra*)

Kapuk (*Ceiba pentandra*) atau randu (Sunda/Jawa) dan kapo (Madura) umumnya tumbuh di kawasan pinggir pantai serta lahan dengan ketinggian 700 meter di atas permukaan laut (dpl). Jenis pohon ini mulai berbunga dan berbuah

pada usia 5-6 tahun dengan masa panen dilakukan setelah biji-biji kapuk berwarna kuning kelabu. Menurut Tjitrosoepomo (2000) tanaman kapuk secara taksonomi tergolong pada: *Divisio: Spermatophyta, subdivisio: Angiospermae, class: Dicotyledonae, ordo: Bombales, famili: Bambaceae, genus: Ceiba danspecies : Ceiba petandra Gaertn.* Pada bagian biji diketahui mengandung gosipol, asam siklopropenoat, karotenoid, flavonoid, alkaloid, tanin, asam lemak tidak jenuh, karotenoid, senyawa fenolik, karbohidrat, protein, dan enzim (Kiran et al.,2011). Ekstrak air pada biji mengandung alkaloid, glycosides carbohydrates, flavonoid, tanin, sedangkan ekstrak petroleum eter pada biji mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, serta ekstrak etanol pada biji mengandung gosipol, alkaloid,



glycosides carbohydrates, flavonoid, tannin. Gosipol memiliki banyak manfaat diantaranya anti kanker, menghambat pertumbuhan organisme parasit, antivirus, dan agen kontrasepsi pada pria. Konsentrasi gosipol dalam biji bervariasi diantara spesies kapuk yaitu 0,3% sampai 3,4% (Choubey, 2011).

Gambar 2.3. Pohon dan Bauh Kapuk (*Ceiba pentandra*) (Salazar, 2001)

Kontrasepsi herbal salah satunya adalah biji kapas yang memiliki kandungan senyawa gosipol cukup tinggi. Gosipol merupakan senyawa fenolik yang terdapat dalam kelenjar pigmen pada biji kapas. Widodo (2001)

mengemukakan pada tanaman kapas, gosipol berfungsi sebagai pertahanan alamiah terhadap predator seperti serangga dengan menyebabkan infertilitas pada serangga tersebut. Jika digunakan manusia, gosipol akan menyebabkan infertilitas sementara yaitu pada pria menurunkan jumlah sperma dan menurunkan libido.

Masyarakat di negara China telah menggunakan biji kapas sebagai kontrasepsi herbal khususnya pada pria. Hasil penelitian Elsharaky, (2010) menunjukkan Gosipol mampu menurunkan jumlah sperma karena epitel germinal sedikit memproduksi sperma dan spermatosit apoptosis selama proses pembelahan meiosis selama spermatogenesis. Dari berbagai hasil penelitian Gosipol berhasil digunakan sebagai kontrasepsi pada pria, sedangkan pada wanita belum ada dilakukan penelitian tentang pengaruh Gosipol sebagai kontrasepsi pada wanita.

Menurut Elsharaky, (2010) pemberian gosipol pada reproduksi tikus jantan dapat menyebabkan penurunan jumlah sel leydig dan sel sertoli. Penurunan jumlah sel leydig dan sel sertoli disebabkan oleh toksisitas gosipol yang menyebabkan apoptosis. Induksi gosipol pada sel sertoli menyebabkan vakuolisasi mitokondria sel dan penurunan produksi hormon Androgen-binding protein (ABP) karena sifat gosipol reagen yang sangat reaktif sehingga dapat berikatan dengan protein Connexin-43 (Cx43) pada sel sertoli (Herve, *et al.* 1996). Cx43 merupakan *gap junction protein* yang berfungsi sebagai komunikasi antar sel sertoli. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hu, (2009) gosipol dapat menghambat 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase 3 (17 β -HSD3) pada sel sertoli, enzim yang berfungsi untuk katalisa konversi androstenedione menjadi testosteron pada sel leydig. Gosipol telah dilaporkan dapat menghambat fosforilasi oksidatif

pada mitokondria sel sertoli karena menyebabkan pembengkakan dan vakuolisasi mitokondria, serta degradasi mitokondria cristae (Deng, 2013). Gosipol menginduksi pyroptosis melalui caspase 11 yang mengaktifkan reseptor NLRP3 dalam sel yang selanjutnya akan mengaktifkan caspase 1 (Lin, 2016).

2.4 Aktivasi Caspase

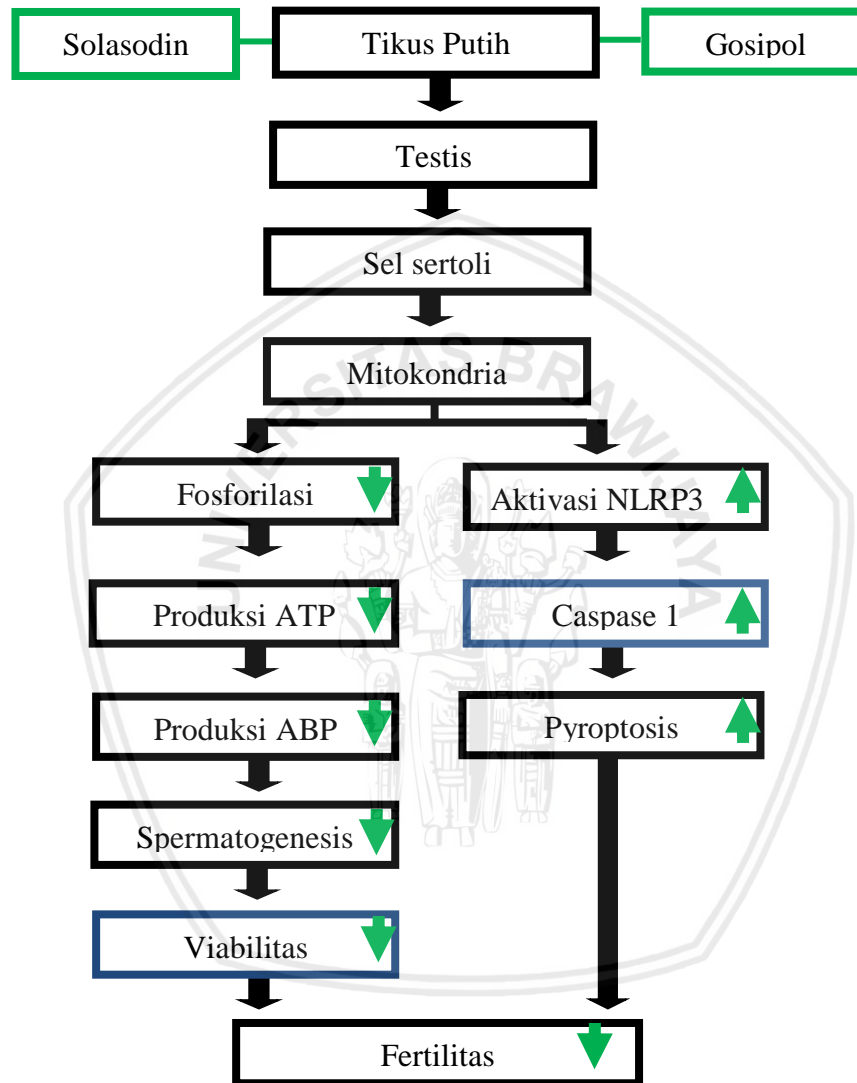
Caspase adalah protease yang menggunakan residu sistein untuk membelah protein target. Caspase dalam bentuk yang tidak aktif berada di sitosol dan diaktifkan oleh pembelahan proteolitik caspase lainnya. Protease ini secara luas diklasifikasikan sebagai apoptosis (Caspase-2, 3, 6, 7, 8, 9, 10) atau inflamasi (Caspase-1, 4, 5, 12). Caspase-1 memproses sitokin interleukin-1b (IL-1b) dan IL-18 dan menginduksi kematian sel pyroptotic. Caspase-4 dan Caspase-5 juga merupakan caspase inflamasi, meskipun fungsinya kurang terdefinisi dengan baik (Caspase-5 tidak ditemukan pada tikus, dan murine Caspase-4 juga dikenal sebagai Caspase-11). Caspase-9 dan Caspase-1 diaktifkan oleh Nod-like receptors (NLRs) membentuk apoptosome dan inflammasome. Aktivasi caspase-1 diatur oleh kompleks protein yang disebut inflammasomes, yang analog dengan apoptosome. Caspase-1 menjadi aktif sebagai respons terhadap berbagai rangsangan yang terdeteksi melalui inflammasome yang berbeda. NLRC4 merespon terhadap cytosolic flagellin atau protein batang T3SS (Miao, 2006), murine NLRP1b merespon terhadap toksin anthrax yang mematikan (Boyden, 2006), AIM2 merespon terhadap DNA cytosolic, dan NLRP3 merespon berbagai

agonis termasuk kristal. Masing-masing sensor ini memicu pyroptosis (Hornung, 2010).

Pyroptosis berasal dari kata 'Pyro' dari kata Yunani untuk api, yang merujuk pada keterlibatan Caspase-1 dan IL-1b dalam demam dan peradangan. 'Ptosis' berasal dari kata Yunani yang jatuh karena digunakan untuk bentuk-bentuk lain kematian sel. Baik pyroptosis dan apoptosis adalah bentuk kematian sel terprogram yang membutuhkan aktivitas Caspase spesifik. Tidak seperti apoptosis, pyroptosis terjadi setelah aktivasi Caspase-1, dan tidak melibatkan caspases apoptosis. Selain itu, protein target seperti PARP1 dan ICAD, yang secara karakteristik dibelah selama apoptosis, tetap utuh selama pyroptosis (Brennan, 2000). Apoptosis dan pyroptosis adalah bentuk-bentuk berbeda dari kematian sel terprogram. Selama pyroptosis, sel-sel mengalami kerusakan DNA. Namun, morfologi inti sel pyroptotic berbeda dari sel apoptosis. Dalam apoptosis, kromatin mengalami pyknosis, kondensasi kromatin ireversibel yang melokalisasi membran nuklir (marginasi). Ini menciptakan profil halfmoon melengkung dari pyknotic chromatin. Nukleus kemudian terpecah dalam proses karyorrhexis (Sivasankari, 2016). Sebaliknya, pemeriksaan nukleus pada sel pyroptotic menunjukkan kondensasi kromatin, tetapi nukleus tetap utuh dan karyorrhexis tidak terjadi (Watson, 2000).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konsep

Keterangan:



: Pemberian ekstrak gosipol dan solasodin



: Variabel yang diamati



: Stimulasi



: Efek Gosipol dan Solasodin

Gugus aldehid dalam gosipol berikatan kovalen dengan gugus amine dalam mitokondria sehingga terbentuknya vakuola-vakuola dan degradasi krista mitokondria (Deng, 2013). Degradasi krista mitokondria menghambat proses fosforilasi oksidatif pada mitokondria sel sertoli. Fosforilasi oksidatif merupakan lintasan metabolisme untuk menghasilkan energi berupa ATP, yaitu dengan menggunakan energi yang dilepaskan oleh oksidasi nutrien. Terganggunya proses fosforilasi oksidatif pada sel sertoli akibat induksi gosipol juga menyebabkan penurunan produksi hormon ABP (Androgen Binding Protein). Testosteron bersama dengan ABP mempunyai fungsi untuk menginduksi proses spermatogenesis. Penurunan produksi ABP dapat mengganggu proses spermatogenesis dan berpengaruh dalam viabilitas spermatozoa. Gosipol dapat menyebabkan distorsi dan lisis dari vesikula dan granula akrosom dalam sistem akrosomal cap spermatid (Creasy, 2013).

Terhambatnya fosforilasi oksidatif dapat menginduksi pyroptosis melalui aktivasi reseptor NLRP3 dalam sel yang selanjutnya akan mengaktifkan caspase 1 (Lin, 2016). NLRP3 berada didalam sitoplasma dan memiliki struktur yang terdiri dari LRR (leucine-rich repeat domain), NACHT, dan PYD (Pyrine domain). NLRP3 berikatan dengan adaptor protein (ASC) yang memiliki struktur PYD domain dan CARD domain. Selanjutnya NLRP3 berikatan dengan procaspase 1 yang memiliki struktur CARD membentuk inflamasome yang menginisiasi aktivasi caspase 1. Caspase 1 menginduksi molekul H_2O masuk kedalam sel dan menyebabkan degenerasi hidropik dan lisis (Miao, 2010). Sehingga mengakibatkan kematian sel spermatozoa.

Solasodin mempunyai sifat toksik yang dapat merusak mitokondria dan menghambat proses metabolisme ATP dari glukosa pada spermatozoa (Wahyuni, 2001). Menurut Li (2016) alkaloid dapat meningkatkan aktivasi inflammasome dan meningkatkan pelepasan caspase-1. Alkaloid pada solasodin mengaktifkan (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome. Alkaloid mengganggu proses pembentukan ATP melalui fosforilasi oksidatif dengan mendegradasi krista mitokondria. NLRP3 berikatan dengan procaspase 1 yang memiliki struktur CARD membentuk inflammasome yang menginisiasi aktivasi caspase 1. Caspase 1 aktif membentuk lubang pada membran sel dan menyebabkan molekul H₂O masuk ke dalam sel, sel membengkak dan lisis (Miao, 2010).

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijabarkan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) secara oral terhadap peningkatan ekspresi caspase 1 testis pada tikus (*Rattus novergicus*).
2. Terdapat perbedaan antara pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) secara oral terhadap penurunan viabilitas spermatozoa pada tikus (*Rattus novergicus*).

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 hingga September 2018. Pemeliharaan, perlakuan hewan coba, dan pengukuran viabilitas spermatozoa dilakukan di Laboratorium Embriologi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan preparat IHK, dan analisis caspase 1 testis dilakukan di Laboratorium Patologi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah sonde, timbangan digital, kandang tikus, spuit 1 mL, cawan petri, mikroskop, gelas ukur, peralatan bedah dan pot organ.

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini diantaranya adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar umur 75-90 hari dengan berat 200-250 gram, makanan dan minuman tikus, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), NaCl fisiologis 0,9%, PBS pH 7,4, H₂O₂ 3%, *object glass*, formalin buffer 70%, antibodi Caspase 1, ekstrak biji kapuk, ekstrak terong cepoka, pewarna Hematoksilin Eosin (HE), akuades, parafin, eter 70%, xylol.

4.3 Sampel Penelitian

Hewan model pada penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar. Hewan coba diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus berikut: (Montgomery dan Kowalsky, 2011)

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

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

p : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

kelompok perlakuan membutuhkan jumlah ulangan minimal 6 kali sehingga dibutuhkan minimal 18 ekor hewan coba untuk 3 kelompok.

4.4 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini subyek dibagi menjadi 3 kelompok secara acak dan tiap kelompok terdiri dari 6 tikus. Kelompok perlakuan pada penelitian ini antara lain:

K (-) : Tikus tidak diberi perlakuan ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) atau biji kapuk (*Ceiba pentandra*).

P1 : Tikus diberi perlakuan ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan dosis 1 g/kg berat badan.

P2 : Tikus diberi perlakuan ekstrak Biji kapuk (*Ceiba pentandra*) dengan dosis 0,1 g/kg berat badan.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel bebas : Dosis terong cepoka (*Solanum torvum*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra*)

Variabel terikat : Viabilitas spermatozoa dan ekspresi Caspase 1 testis

Variabel kontrol : Tikus, jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, kandang

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba tikus yang dipakai dalam penelitian ini terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari dengan pemberian pakan standar. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri 6 tikus yang dihitung berdasarkan rumus Federer.

Pemeliharaan tikus dilakukan dalam kandang kelompok dengan jumlah 6 tikus perkandang. Alas kandang diberi sekam kayu untuk menjaga kelembaban dan kebersihan kandang. Kandang ditempatkan pada tempat yang jauh dari kebisingan dan polutan dengan ventilasi udara yang memadai.

4.6.2 Pembuatan dan Pemberian Ekstraksi Biji Kapuk dan Terong Cepoka

Sesuai dengan metode Pratiwi (2017), proses ekstraksi biji kapuk dan terong cepoka dilakukan melalui pembuatan ekstrak etanol dengan metode maserasi (perendaman). Biji kapuk dan terong cepoka dicuci dengan air yang mengalir kemudian dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari selama

dua hari. Kemudian digerus serta disaring untuk diambil serbuk simplisianya. Serbuk yang didapatkan dimaserasi dengan pelarut etanol 70% hingga serbuk terendam dalam pelarut dengan perbandingan 10:1 (v/w). Setelah dilakukan perendaman selama 2 hari, dilakukan remaserasi dengan pelarut yang sama sehingga diperoleh hasil maserasi serbuk simplisia dengan pengulangan 2 kali (duplo). Selanjutnya hasil maserasi dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C, dengan kecepatan *rotary* 60 rpm, selama 5 jam hingga hasil maserasi menjadi ekstrak pekat. Volume ekstraksi terong cepoka yang didapatkan adalah 2000 mL, dan volume ekstrak biji kapuk yang diperoleh sebanyak 700 mL.

Ekstrak biji kapuk dan terong cepoka diberikan secara oral 1 kali dalam sehari, pagi sebelum tikus diberi makan dengan dosis ekstrak terong cepoka 1 g/kg berat badan dan dosis ekstrak biji kapuk 0,1 g/kg berat badan. Perhitungan dosis dapat dilihat di **Lampiran 6** dan **7**.

4.6.3 Euthanasia dan Pembedahan

Euthanasi pada tikus dilakukan dengan pemberian klorofom inhalasi, dilakukan pada hari ke 11 pemeliharaan. Setelah euthanasi, pembedahan dilakukan dengan insisi pada bagian linea abdominalis, lalu diambil organ testis dan dilakukan pewarnaan eosin untuk melihat viabilitas spermatozoa dan untuk dijadikan preparat immunohistokimia.

4.6.4 Analisis Viabilitas Spermatozoa

Evaluasi spermatozoa yang hidup dilakukan berdasarkan Manual Laboratorium WHO (1999). Satu tetes eosin 2% diteteskan pada ujung gelas obyek kemudian ditambahkan 1 tetes semen tikus (10 μ l), dihomogenkan dan selanjutnya dibuat preparat ulas. Spermatozoa yang hidup dievaluasi di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x dalam 10 lapangan pandang. Jumlah spermatozoa yang hidup dinyatakan dalam persen. Untuk penentuan persentase spermatozoa yang hidup digunakan rumus: Persentase spermatozoa (%) = Jumlah spermatozoa hidup/ jumlah spermatozoa hidup dan mati x 100 %. Spermatozoa yang hidup tidak akan terwarnai oleh zat warna eosin. Spermatozoa yang telah mati akan berwarna merah-keunguan karena rusaknya membran plasma sel spermatozoa. Metode pembuatan preparat viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.6.5 Analisis Ekspresi Caspase 1 Testis dengan Metode Imunohistokimia (IHK)

Pewarnaan IHK diawali dengan perendaman slide preparat pada xylol 1, xylol 2, xylol 3 dan etanol bertingkat (100%, 96%, 90%, 80%, 70%). Slide kemudian dicuci dengan air mengalir selama 3 menit lalu ditetesi dengan 3% H₂O₂ selama 20 menit. Lalu kembali dicuci memakai PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali dan diberikan trypsin selama 15 menit dalam inkubator dengan temperatur 37⁰C. Lalu kembali dicuci memakai PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Kemudian diblok dengan ultra V selama 5 menit pada suhu ruang. Kemudian slide preparat dicuci kembali memakai PBS langsung. Kemudian diinkubasi

dengan antibodi primer anti rat caspase 1 5% yang diencerkan dengan diluent selama 60 menit dan dicuci memakai PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Kemudian diberi biotinylated link (yellow) drops selama 30 menit dan dicuci memakai PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Kemudian diberi streptavidin (red) drops selama 30 menit dan dicuci memakai PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. DAB (diaminbenzidine) chromogen diencer 2% dengan DAB plus substrate 6 hingga 10 menit kemudian dicuci memakai PBS selama 5 menit sebanyak 2 kali. Selanjutnya dilakukan dipping aquades selama 5 menit.

Counterstaining dilakukan menggunakan *Mayer Hematoxylen* selama 10 menit. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir selama 5 menit dan amoniak air selama 3 menit kemudian dibilas dengan akuades lalu dikeringkan. Preparat dimounting dengan entelan lalu ditutup memakai *cover glass*. Pengamatan ekspresi caspase 1 dapat dilakukan pada lima bidang pandang dengan perbesaran 400x. Setelah dilakukan pengambilan gambar, selanjutnya dilakukan pengukuran persentase area ekspresi caspase 1 menggunakan *Immunoratio*. Metode pembuatan preparat immunohistokimia dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

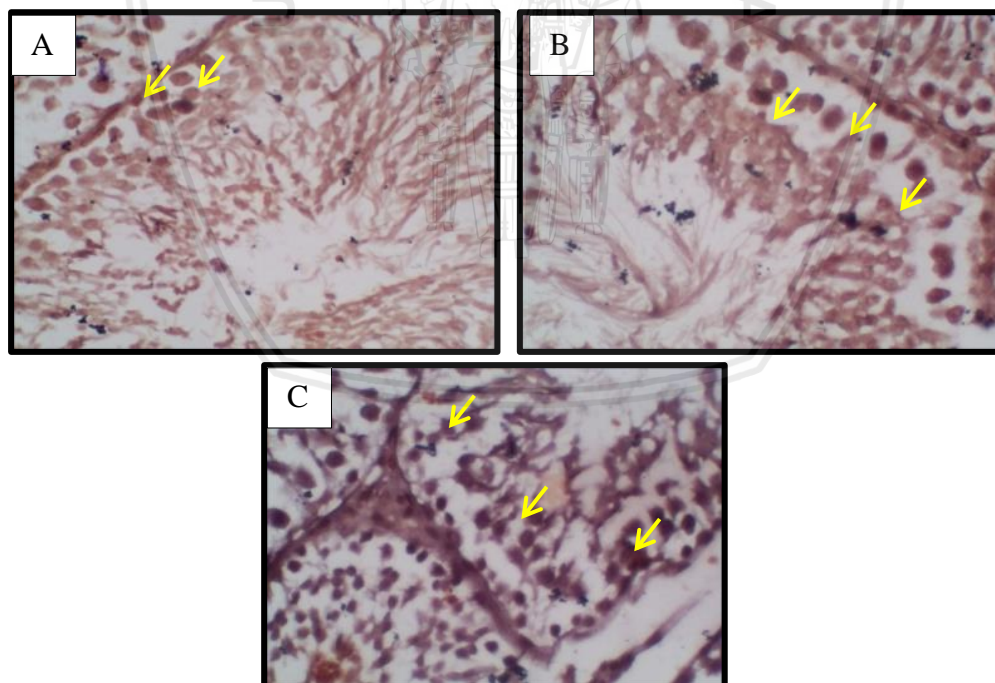
4.6.6 Analisis Data

Data variabel yang diamati dalam penelitian seluruhnya berupa data kuantitatif yang dianalisa dengan uji *one way ANOVA* dan uji *Kruskal-Wallis* pada tingkat kepercayaan 95%, dan dilanjutkan dengan uji Tuckey dan uji Mann-Whitney untuk melihat ada tidaknya perbedaan respon yang bermakna antara ketiga perlakuan.


BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Perbandingan Pengaruh Pemberian Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum*) dengan Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra*) terhadap Ekspresi Caspase 1 Testis

Hasil ekspresi caspase 1 testis pada 3 kelompok penelitian ditunjukkan pada **Gambar 5.2**. Ekspresi caspase 1 testis dilihat menggunakan metode pewarnaan immunohistokimia yang dihitung menggunakan software immunoratio. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, data tidak memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, sehingga data dianalisis dengan Uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan Uji *Mann-Whitney* ($\alpha = 5\%$). Tabel ekspresi Caspase 1 testis dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.



Gambar 5.1 Ekspresi Caspase 1 Testis dengan Perbesaran 400x.

Keterangan **Gambar 5.1** (A) tikus kelompok kontrol negatif, (B) tikus kelompok P1, dan (C) tikus kelompok P2. Tanda panah () menunjukkan ekspresi caspase 1 testis.

Tabel 5.1 Tabel Ekspresi Caspase 1 Testis (%)

Perlakuan	Rata-Rata Ekspresi Caspase 1 testis	Peningkatan Terhadap Kontrol Negatif
K-	17,5±5,98 ^a	-
P1	37,1±27,59 ^a	19,6
P2	80,9±9,69 ^b	63,4

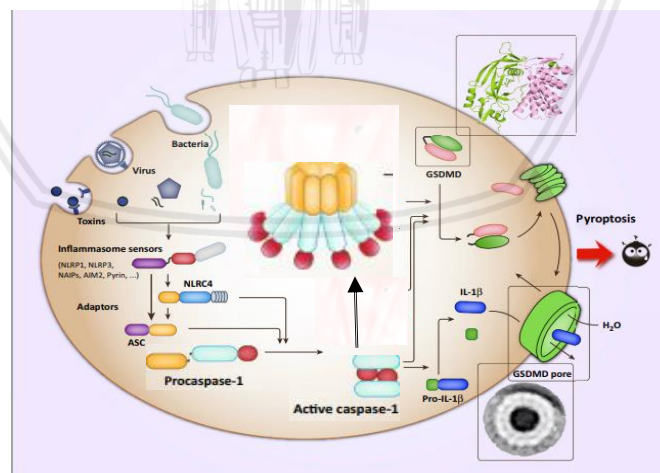
Keterangan : notasi (a,b) menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Hasil ekspresi caspase 1 testis ditunjukkan oleh adanya warna coklat pada tubulus seminiferus testis menggunakan metode imunohistokimia (IHK). Warna coklat yang dihasilkan merupakan reaksi antara enzim streptavidin yang berikatan dengan antibodi dengan kromagen diaminbenzididine (DAB). Pada testis caspase 1 dapat terekspresi pada sel leydig, sel sertoli, dan sel germinal testis (Tanaka, 2012). **Gambar 5.1A** merupakan gambaran imunohistokimia (IHK) testis kelompok kontrol negatif, terdapat ekspresi caspase 1 pada kontrol negatif. Adanya ekspresi caspase 1 pada kelompok kontrol negatif karena secara normal caspase 1 terdapat dalam jumlah relatif sedikit sebagai komponen apoptosis. Selama periode spermatogenesis caspase 1 pada testis dapat menginduksi proses pyroptosis yang merupakan salah satu bentuk dari apoptosis (Miao, 2010).

Hasil analisis statistika pada (**Tabel 5.1**) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pengaruh pemberian ekstrak biji kapuk terhadap peningkatan ekspresi caspase 1 pada testis yang ditunjukkan dengan perbedaan notasi. Peningkatan ekspresi caspase 1 pada kelompok P1 (**Tabel 5.1**) hingga 19,6% lebih banyak dari kelompok kontrol negatif. Peningkatan ekspresi kelompok P1 tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif. Hal ini membuktikan

bahwa kandungan solasodin dalam ekstrak terong cepoka mampu meningkatkan ekspresi caspase 1 testis. Kandungan phenol dalam buah terong cepoka yang bersifat antioksidan sehingga dapat menghambat aktivasi caspase 1. Senyawa yang bersifat antioksidan dalam terong cepoka dapat melindungi membran sel dari lisis (Elsharaky, 2010). Perhitungan statistika ekspresi caspase 1 testis dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

Peningkatan ekspresi caspase 1 pada kelompok P2 (**Tabel 5.1**) mencapai 63,4% lebih banyak dari kelompok kontrol negatif. Peningkatan ekspresi kelompok P2 berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa kandungan gosipol dalam ekstrak biji kapuk dapat meningkatkan presentase caspase 1 testis dengan megaktivasi reseptor NLRP3 dalam sel. Reseptor NLRP3 selanjutnya akan berikatan procaspase 1 yang mengaktivasi caspase 1 (Miao, 2010).



Gambar 5.2 Ilustrasi aktivasi caspase 1 (Shi, 2017).

Keterangan **Gambar 5.2** Domain gasdermin yang dilepaskan oleh caspase 1 berikatan dengan membran plasma untuk menghasilkan pori-pori membran. Pembentukan pori-pori mengganggu tekanan osmotik, mengakibatkan pembengkakan sel dan akhirnya lisis (Shi, 2017).

Sel sertoli merupakan sel yang berfungsi dalam produksi Androgen Binding Protein (ABP). ABP berperan untuk mengikat testosteron yang diproduksi oleh sel leydig dan membawa testosteron masuk kedalam tubulus seminiferus. Kematian sel sertoli akibat terjadinya pyroptosis dapat berpengaruh pada terganggunya proses spermatogenesis dan menurunkan viabilitas spermatozoa (Elsharaky, 2010).

Senyawa gospol dan solasodin merupakan sinyal toksik yang dapat menghambat proses fosforilasi oksidatif pada sel. Terhambatnya proses fosforilasi oksidatif dapat menginduksi reseptor NLRP3 yang memiliki struktur yang terdiri dari LRR (leucine-rich repeat domain), NACHT, dan PYD (Pyrine domain). Struktur ini kemudian berikatan dengan protein adaptor ASC yang memiliki struktur PYD (pyrine domain) dan CARD. NLRP3 dan protein adaptor berikatan procaspase 1 (Miao, 2010). Caspase 1 mengaktifkan gasdermin yang membentuk pori-pori pada membran sel. Sehingga dapat menyebabkan molekul air masuk kedalam sel, mengakibatkan pembengkakan sel dan akhirnya lisis (Shi, 2017).

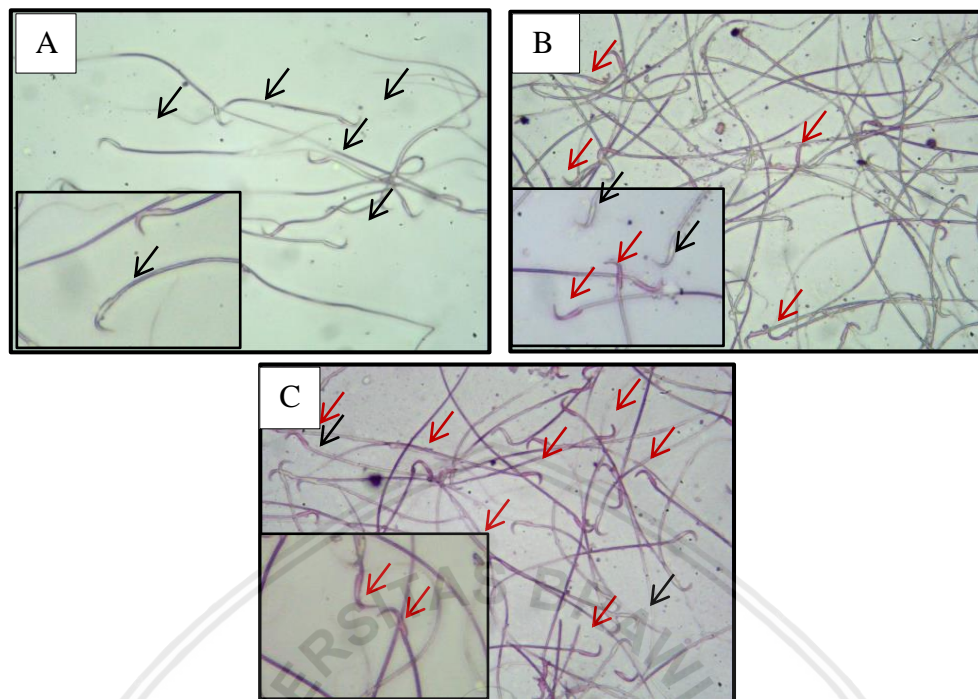
Hasil penelitian Elsharaky, (2010) menunjukkan bahwa gospol mampu menurunkan jumlah spermatozoa karena dapat apoptosis epitel germinal dan spermatosit selama proses spermatogenesis. Pemberian gospol pada reproduksi tikus jantan dapat menyebabkan penurunan jumlah sel leydig dan sel sertoli. Penurunan jumlah sel leydig dan sel sertoli disebabkan oleh toksisitas gospol yang menyebabkan apoptosis. Induksi gospol pada sel sertoli menyebabkan

vakuolisasi mitokondria sel dan penurunan produksi hormon Androgen-binding protein (ABP).

Solasodin mempunyai sifat toksik yang dapat merusak mitokondria dan menghambat proses metabolisme ATP dari glukosa pada spermatozoa. Menurut Li (2016) alkaloid pada solasodin dapat meningkatkan aktivasi inflammasome dan meningkatkan pelepasan caspase 1. Alkaloid pada solasodin mengaktifkan (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome melalui retikulum endoplasmic (RE) stress-mitochondria axis. Alkaloid mengganggu proses pembentukan ATP oksidatif fosforilasi dengan menghambat mitochondrial succinic dehydrogenase dan melepaskan cytochrome C ke sitoplasma (Arinbasarova, 2012). Pada penelitian ini menyimpulkan bahwa kandungan gosipol dan solasodin pada ekstrak biji kapuk dan terong cepoka dapat meningkatkan ekspresi caspase 1 pada testis. Hasil penelitian ini sesuai dengan Miao (2010), Loganayaki (2010) peningkatan ekspresi caspase 1 melalui aktivasi (NOD)-like reseptor NLRP3 inflamosome.

5.2 Perbandingan Pengaruh Pemberian Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum*) dengan Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra*) terhadap Viabilitas Spermatozoa

Pada penelitian ini, presentase viabilitas spermatozoa dilihat menggunakan metode pewarnaan eosin negrosin. Hasil dianalisis dengan Uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan Uji Tuckey ($\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa terdapat secara nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Tabel viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.



Gambar 5.3 Viabilitas Spermatozoa dengan Perbesaran 400x.

Keterangan **Gambar 5.3** (A) tikus kelompok kontrol negatif, (B) tikus kelompok P1, dan (C) tikus kelompok P2. Tanda panah (↘) menunjukkan spermatozoa yang mati dan tanda panah (↙) menunjukkan spermatozoa yang hidup.

Tabel 5.2 Viabilitas Spermatozoa (%)

Perlakuan	Rata-Rata Presentase Viabilitas Spermatozoa	Penurunan Terhadap Kontrol Negatif
K-	$82,67 \pm 6,77^b$	-
P1	$49,00 \pm 12,01^a$	33,67
P2	$51,00 \pm 4,85^a$	31,67

Keterangan : notasi (a,b) menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Gambar 5.3A merupakan gambaran viabilitas spermatozoa kelompok kontrol negatif. Rata-rata presentase viabilitas spermatozoa kontrol negatif adalah 82,67%. Penurunan viabilitas spermatozoa pada kelompok P1 dan kelompok P2 (**Tabel 5.2**) mencapai 33,67% dan 31,67% dari kelompok kontrol negatif.

Penurunan viabilitas spermatozoa kelompok P1 dan P2 berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif, namun tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok P1 dengan P2 ($P > 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa kandungan gosipol dalam ekstrak biji kapuk dapat menurunkan viabilitas spermatozoa. Perhitungan statistika viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

Penurunan viabilitas spermatozoa pada kelompok P1 dan P2 terjadi karena kandungan senyawa solasodin dan gosipol memiliki efek antifertilitas. Senyawa solasodin dan gosipol dapat menurunkan produksi Androgen Binding Protein (ABP) dari sel sertoli. Kurangnya ABP menyebabkan spermatozoa yang dihasilkan mengalami lisis pada vesikula dan granula acrosom dalam sistem *acrosomal cap* spermatid (Creasy, 2013). Kandungan solasodin dalam buah terong cepoka mencapai 5,5% secara empiris telah dijadikan sebagai kontrasepsi herbal (Sirait, 2009). Senyawa gosipol memiliki banyak manfaat diantaranya anti kanker, menghambat pertumbuhan organisme parasit, antivirus, dan agen kontrasepsi pada pria. Konsentrasi gosipol dalam biji kapuk bervariasi diantara spesies kapuk yaitu 0,3% sampai 3,4% (Choubey, 2011).

Androgen Binding Protein (ABP) disintesis oleh sel sertoli dalam testis. ABP mengikat testosteron dan membawa testosteron yang disekresikan oleh sel leydig kedalam tubulus seminiferus. Setelah testosteron dilepaskan oleh ABP, testosteron dirubah menjadi DHT (Dihydrotestosterone). Testosteron merupakan hormon yang sangat penting dalam proses spermatogenesis (Creasy, 2013). Spermatogenesis adalah proses pembentukan dan pematangan sel spermatozoa didalam tubulus seminiferus. Senyawa solasosodine dan gosipol menyebabkan

pyroptosis pada sel sertoli dan menekan sekresi ABP. Senyawa gosipol dapat menekan jumlah produksi spermatozoa dan merusak germinal epitel testis (Elsharaky, 2010). ABP dan testosteron sangat diperlukan untuk proses pembentukan sel spermatozoa. Dengan berkurangnya produksi ABP, maka akan mengganggu proses pembentukan akrosomal cap pada spermatid, mempengaruhi jumlah spermatid yang berkembang menjadi spermatozoa pada proses spermatogenesis. Hormon testosteron berperan dalam menjaga kelangsungan hidup spermatozoa di dalam epididimis, akibatnya kelangsungan hidup spermatozoa di dalam epididimis mengalami penurunan (Ashfahani, 2010). Viabilitas spermatozoa dapat diuji dengan menggunakan pewarnaan eosin. Komponen warna eosin akan masuk ke dalam membran sel yang rusak dan akan mewarnai membran sel menjadi merah ungu. Sel spermatozoa yang memiliki membran utuh tidak menyerap warna yang diberikan sehingga tetap jernih. Keutuhan membran plasma spermatozoa merupakan hal yang sangat mempengaruhi fungsi spermatozoa (Ashfahani, 2010)

Solasodin mempunyai sifat toksik yang dapat merusak mitokondria dan menghambat proses metabolisme ATP dari glukosa pada spermatozoa. Alkaloid pada solasodin mengaktifkan (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome melalui retikulum endoplasmic (RE) stress-mitochondria axis. Alkaloid mengganggu proses pembentukan ATP oksidatif fosforilasi dengan menghambat mitochondrial succinic dehydrogenase dan melepaskan cytochrome C ke sitoplasma (Aribasrova, 2012). Pada penelitian ini menyimpulkan bahwa kandungan gosipol dan solasodin pada ekstrak biji kapuk dan terong cepoka dapat

meningkatkan ekspresi caspase 1 pada testis. Hasil penelitian ini sesuai dengan Miao (2010), Loganayaki (2010) peningkatan ekspresi caspase 1 melalui aktivasi (NOD)-like reseptor NLRP3 inflamosome.



BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dosis 1 g/kg BB dan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) dosis 0,1 g/kg BB meningkatkan ekspresi caspase 1 testis, dengan peningkatan tertinggi sebesar 80,9% oleh pemberian ekstrak biji kapuk dosis 0,1 g/kg BB.
2. Tidak terdapat perbedaan penurunan viabilitas spermatozoa pada pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dosis 1 g/kg BB dan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) dosis 0,1 g/kg BB.

5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian lebih lanjut adalah:

1. Perlu dilakukan uji mengenai efek pemberian ekstrak biji kapuk dan ekstrak terong cepoka dalam jangka waktu lama, serta dilakukan uji toksisitas yang lebih komprehensif.
2. Perlu dilakukan penambahan parameter histopatologi untuk pengamatan secara mikroskopis.
3. Perlu dilakukan uji mengenai efek pemberian ekstrak biji kapuk dan ekstrak terong cepoka pada hewan anjing dan kucing.
4. perlu dilakukan uji in vivo dan in vitro fertilisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadnia, H., M. Ghanbari, M.R. Moradi, and M. Khaje-Dalouee. 2007. *Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats*. Uro. J. 4(3):154-163.
- Arinbasarova, A. Y., A. G. Medentsev, and V. I Krupyanko. 2012. *Gossypol Inhibits Electron Transport and Stimulates ROS Generation in Yarrowia lipolytica Mitochondria*. *The Open Biochemistry Journal*, 6, 11–15
- Ashfahani, E.D., N. Intan., dan A. Sukmaningsih. 2010. *Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (Mus musculus L.) Setelah Pemberian Ekstrak Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe)*. Biologi FMIPA, Universitas Udayana.
- Ax, R.L., M. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, and M.E. Bellin. 2000. *Semen Evaluation*. In *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. B. Hafez and E.S.E. Hafez (Eds). Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Bardin, C.W. 2009. *The Neuroendocrinology of Male Reproduction*. Hosp. Pract. 14 (12): 65 – 75.
- Boyden E.D., W.F. Dietrich. 2006. *Nalp1b controls mouse macrophage susceptibility to anthrax lethal toxin*. Nat Genet; 38:240–244.
- Brennan, M.A. and B.T. Cookson. 2000. *Salmonella induces macrophage death by caspase-1- dependent necrosis*. Mol Microbiol;38:31–40.
- Choubey A. 2011. *In vitro growth and inhibition studies of Ceiba pentandra on Monosodium Urate Monohydrate Crystals*. Pharmacology online 2.
- Deng, S., H. Yuan, J. Yi, Y. Lu, Q. Wei, C. Guo, Z. He, 2013. *Gossypol acetic acid induces apoptosis in RAW264.7 cells via a caspase-dependent mitochondrial signaling pathway*. *Journal of Veterinary Science*, 14(3), 281. Fieser, R and Fieser, B. 2011. *Steroid*. Marasen. Co. Tokyo.
- El-Sharaky, A.S., A.A. Newairy, N.M. Elguindy, and A.A Elwafa. 2010. *Spermatotoxicity, biochemical changes and histological alteration induced by gossypol in testicular and hepatic tissues of male rats*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3354–3361. doi:10.1016/j.fct.2010.09.004
- Ferro, V. A., J. H. Sliwowska, M. Al-Qaraghuli, and M. Alsaadi. 2018. *Methods of Sterilization and Contraception in Mammals*. *Encyclopedia of Reproduction*, 802–811. doi:10.1016/b978-0-12-809633-8.20634-1
- Fink, SL, T. Bergsbaken, B.T. Cookson. 2008. *Anthrax lethal toxin and Salmonella elicit the common cell death pathway of caspase-1-dependent pyroptosis via distinct mechanisms*. Proc Natl Acad Sci USA;105:4312–4317.
- Gordon, Ian. 2005. *Reproductives Technologies in Farm Animals*. UK: Cromwell Press.

- Gong, T., X. Wang, Y. Yang, Y. Yan, C. Yu, R. Zhou, and W. Jiang. 2017. *Plant Lectins Activate the NLRP3 Inflammasome To Promote Inflammatory Disorders*. *The Journal of Immunology*, 198(5), 2082–2092.
- Gupta, RS and R. Sharma. 2006. *A Review on Medicine Plants Exhibiting Antifertility Activity in Males*. *Natural Product Radiance*. 5(5):389-410.
- Hasanah, Ifnaini W. 2009. *Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica) Terhadap Spermatogenesis mencit (Mus musculus)*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas SAINTEK UIN Maliki Malang.
- Hornung V, E. Latz. 2010. *Intracellular DNA recognition*. *Nat Rev Immunol* 2010;10:123–130.
- Hu, G.X., H.Y. Zhou, X.W. Li, B.B. Chen, Y.C. Xiao, Q.Q. Lian, R.S. Ge. 2009. *The (+)- and (-)-gossypols potently inhibit both 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3 in human and rat testes*. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 115(1-2), 14–19
- Kiran C.R., K.V. Rao, D.B. Rao, Y. Madhavi, P.K. Rao, and T.R Rao. 2011. *Antioxidant and Biochemical Analysis of Ceiba pentandra (Kapok) Seeds*. *Int J Current Research* 3(10).
- Li, C.G., L. Yan, Y.Y. Jing, L.H. Xu, Y.D. Liang, H.X. Wei, X.H. He. 2016. *Berberine augments ATP-induced inflammasome activation in macrophages by enhancing AMPK signaling*. *Oncotarget*, 8(1).
- Lin, Q.R., C.G. Li, Q.B. Zha, L.H. Xu, H. Pan, G.X. Zhao, X.H. He. 2016. *Gossypol induces pyroptosis in mouse macrophages via a non-canonical inflammasome pathway*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 292, 56–64.
- Loganayaki, N., Siddhuraju, P., and Manian, S. 2010. *Antioxidant activity of two traditional Indian vegetables: Solanum nigrum L. and Solanum torvum L*. *Food Science and Biotechnology*, 19(1), 121–127. doi:10.1007/s10068-010-0017-y
- Miao E.A, E. Andersen-Nissen, S.E. Warren, A. Aderem. 2007. *TLR5 and Ipaf. dual sensors of bacterial flagellin in the innate immune system*. *Semin Immunopathol*; 29:275–288.
- Miao, E.A., I.A. Leaf, P.M. Treuting, D.P. Mao, M. Dors, A. Aderem. 2010. *Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria*. *Nature Immunology*, 11(12), 1136–1142. doi:10.1038/ni.1960
- Marzouk, Z. I. Chraief, J. Cheriaa, A. Bakhrouf, and K. Boukef. 2005. *Effect of fertilization on growth and solasodine content of four natural Solanum sodomium L. Populations*. Centre National de Transfusion Sanguine Bab Aaadoun-Tunis-Tunisie. *Journal of Food, Agriculture and Environment* Vol.3 (2) : 341-344 .

- Parodi, J. 2013. *Motility, viability, and calcium in the sperm cells*. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(2), 65–71. doi:10.3109/19396368.2013.869273
- Paterson, M., Z.A. Jennings, M. Duin, and R.J. Aitken. 2000. *Immunocontraception with Zona pellucida Proteins*. *Cells Tissues Organs*, 166(2), 228–232. doi:10.1159/000016735
- Rhodes, L. 2016. *New approaches to non-surgical sterilization for dogs and cats: Opportunities and challenges*. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 327–331. doi:10.1111/rda.12862
- Root, K.M. 2012. *Effects of Surgical Sterilization on Canine and Feline Health and on Society*. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 214–222. doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02078.x
- Salazar, R. 2001. *Kapuk randu*. Bandung : Direktorat Pembenuhan Tanaman Hutan
- Shi, J., and F. Shao. 2017. *Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death*. *Trends in Biochemical Sciences*, 42(4), 245–254. doi:10.1016/j.tibs.2016.10.004
- Sirait, N. 2009. *Terong Cepoka (Solanum torvum) Herba yang Berkhasiat sebagai Obat*. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 15 (1) : 11-13.
- Sivasankari, P. A., S. Kaur, and K. S. Suresh. 2016. *Metanuclear Abnormalities in Oral Premalignant and Malignant Lesions*. Medical College Hospital and Research Centre Kattankulathur. ISSN: 0975-8585
- Soehadi, K, dan K.M. Arsyad. 2013. *Analisis Sperma*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Stevens, J.D., J.M.Sosa, D.M. deAvila, J.M. Oatley, K.P. Bertrand, C. Gaskins, and J.J. Reeves. 2005. *Luteinizing hormone-releasing hormone fusion protein vaccines block estrous cycle activity in beef heifers1*. *Journal of Animal Science*, 83(1), 152–159. doi:10.2527/2005.831152x
- Tanaka, H., Fujisawa, M., and Kamidono, S. 2012. *Apoptosis-related proteins in the testes of infertile men with varicocele*. Kobe University: Japan
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta (ID): UGM Pr
- Wahyuni, A. 2001. *Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Mencit (Mus Musculus) Setelah pemberian Solasodin yang Diisolasi dari Terong Kuning (Solanum Khasianum)*. FK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta: Yogyakarta. Vol:1, No:2.
- Watson P.R., A.V. Gautier, S.M. Paulin, A.P. Bland, P.W. Jones, and T.S. Wallis. 2000. *Salmonella enterica serovars Typhimurium and Dublin can lyse*

macrophages by a mechanism distinct from apoptosis. Infect Immun; 68:3744–3747.

WHO. 1999. *Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-cervical Mucus Interaction.* 4th ed. Cambridge University Press, England

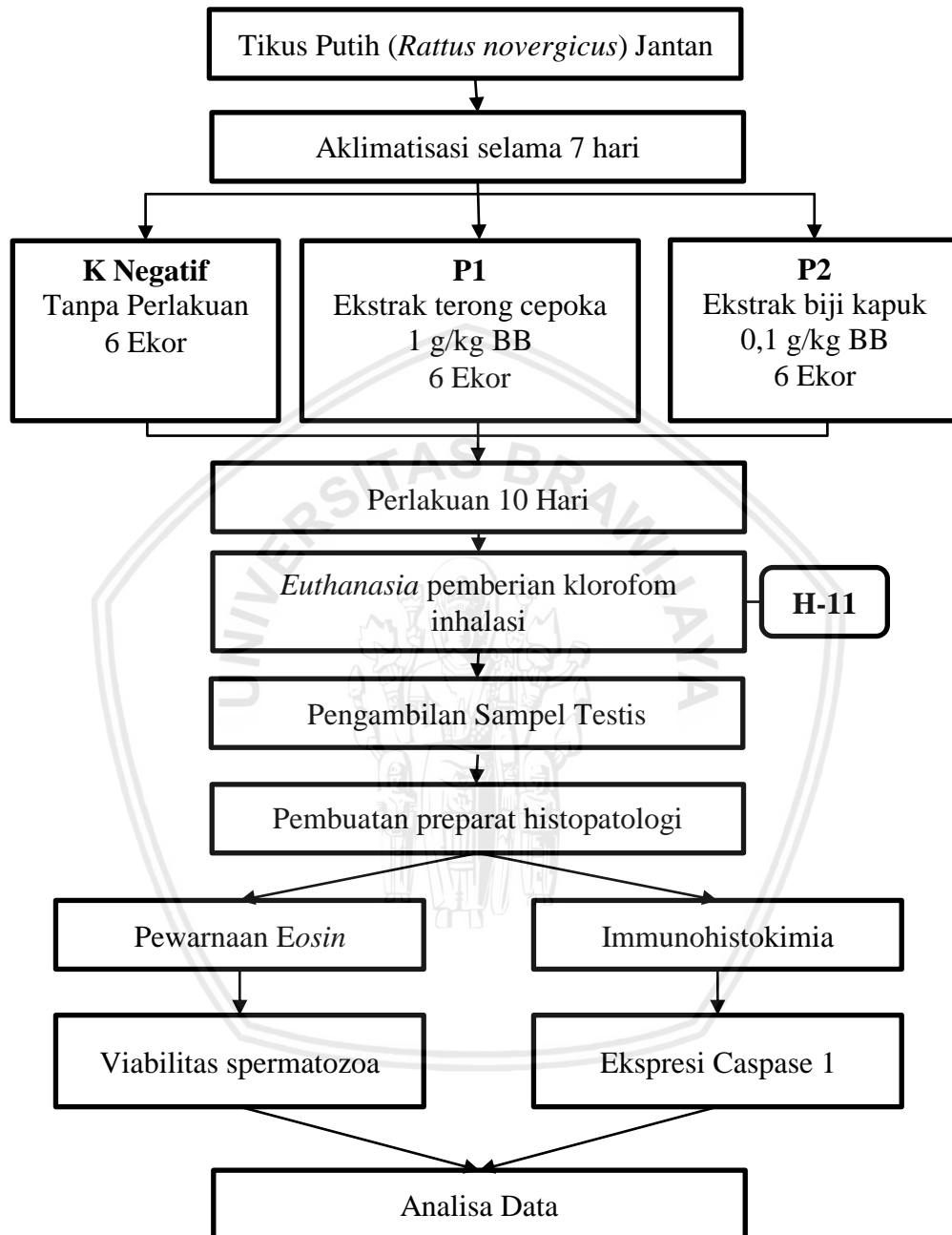
Widodo, F.Y. 2001. *Metode Kontrasepsi Pria.* Jurnal Kesehatan. Surabaya: Universitas Wijaya Kusuma. 4 (6).

Yuanyuan, L.U, L. Jianguang, H. Xuefeng and K. Lingyi. 2009. *Four steroidal glycosides from Solanum torvum and their cytotoxic activities.* Steroids 74: 95–101.



LAMPIRAN



Lampiran 1. Rancangan Operasional

Lampiran 2. Surat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 967-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : POTENSI SENYAWA SOLASODINE DAN GASIPOL
SEBAGAI KANDIDAT KONTRASEPSI PADA HEWAN
MODEL DALAM MENGHAMBAT REPRODUKSI TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA MELALUI
EKSPRESI GROWTH DIFFERENTIATION FACTOR 9,
SIKLUS BIRAH DAN FOLIKULOGENESIS

PENELITI : DESI WULANSARI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 22 Mei 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



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



**Lampiran 3. Surat Keterangan Ekstraksi Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.)
dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.)**



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

SURAT KETERANGAN EKSTRAK
No. 074 / 123C / 102.7 / 2018

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama : LIZA SADDA CAKRAWATI
Nim : 155130100111008
Instansi : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Biji kapuk
Nama latin : *Ceiba pentandra*
Bagian sampel : Biji
Bentuk sampel : Serbuk
Asal sampel : Malang
Jumlah sampel : 3 kilogram
Tanggal penerimaan : -

3. Hasil

No.	Parameter	Hasil
1	Proses	
	a. Metode	Maserasi
	b. Jumlah perlakuan	1 Kali
	c. Pelarut	Etanol 70%
	d. Jumlah pelarut	8000 mL
	e. Waktu evaporasi	2 jam
2	Hasil	
	a. Bentuk sediaan	Cair
	b. Bahan tambahan	-
	c. Jumlah bahan tambahan	-
	d. Berat / volume	700 ml





PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

4. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Terong cepoka
 Nama latin : Solanum torvum
 Bagian sampel : Buah
 Bentuk sampel : Segar
 Asal sampel : Malang
 Jumlah sampel : 5 kilogram
 Tanggal penerimaan : -

5. Hasil

No.	Parameter	Hasil
1	Proses	
	a. Metode	Maserasi
	b. Jumlah perlakuan	1 Kali
	c. Pelarut	Etanol 70%
	d. Jumlah pelarut	10.000 mL
	e. Waktu evaporasi	3 jam
2	Hasil	
	a. Bentuk sediaan	Cair
	b. Bahan tambahan	-
	c. Jumlah bahan tambahan	-
	d. Berat / volume	2000 ml

6. Pustaka

- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

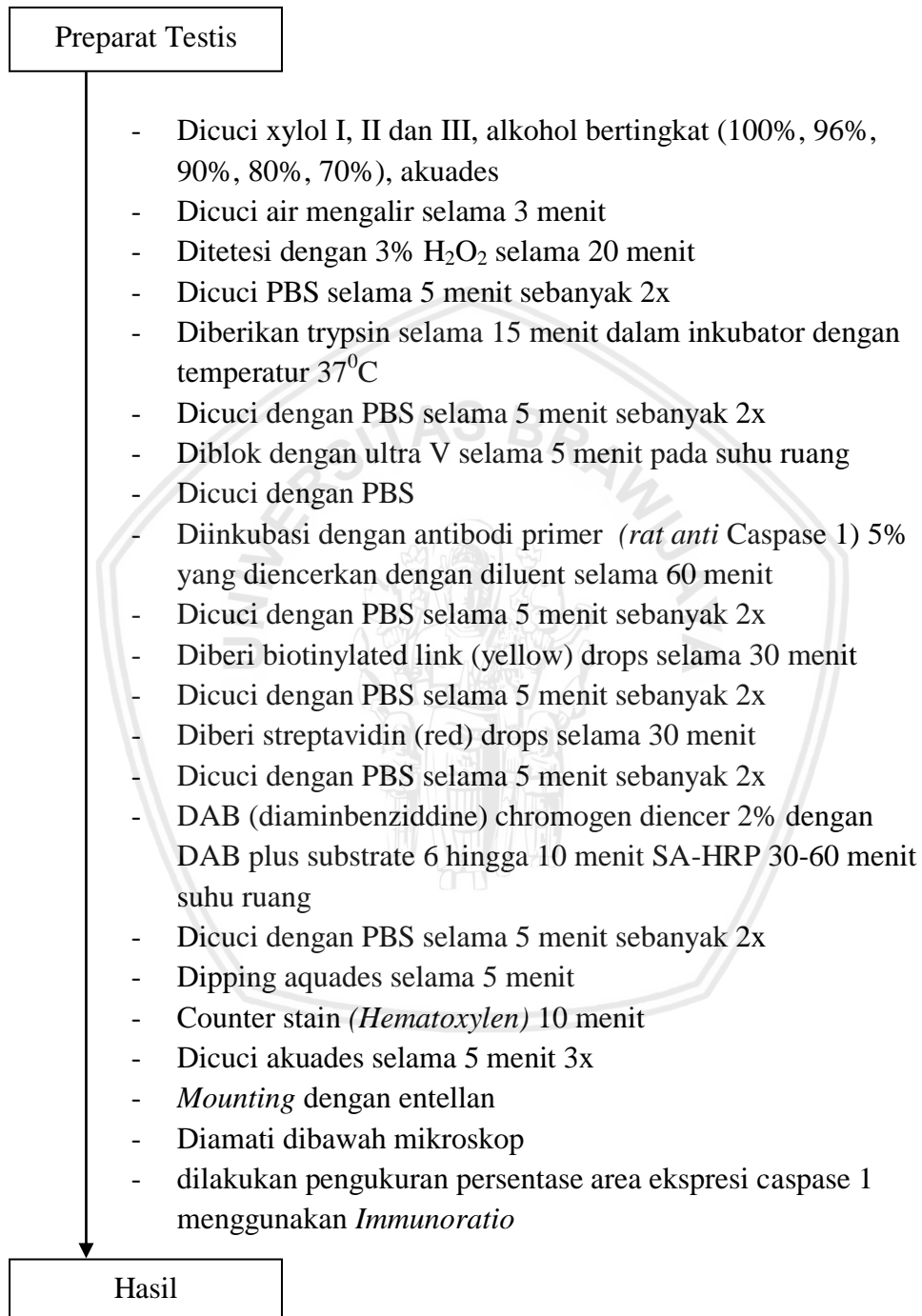
Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

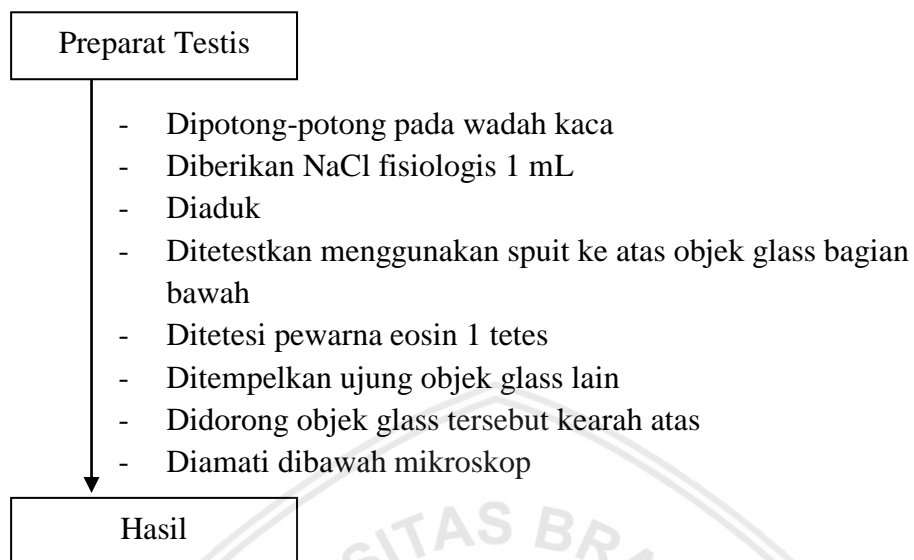
Batu, 2 Agustus 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu


Mallalena
 Dr. Husni RM, Drs., Apt., MKes.
 NIP.19611102 199103 1 003



Lampiran 4. Metode Immunohistokimia untuk Ekspresi Caspase 1 testis



Lampiran 5. Pembuatan Preparat Viabilitas Spermatozoa (WHO, 1999)

Lampiran 6. Perhitungan dosis ekstrak terong cepoka

Dosis terapi = 1 g/kg BB

Berat tikus = 0,2 kg

Dosis yang diberikan = Dosis terapi x berat badan

$$= 1 \text{ g/kg BB} \times 0,2 \text{ kg} = 0,2 \text{ g/ekor}$$

Konsentrasi ekstrak terong cepoka adalah absolut (100 g/ 100mL)

Volume ekstrak yang disiapkan = dosis yang diberikan x konsentrasi x jumlah tikus x lama perlakuan

$$0,2 \text{ g/ekor} \times 1 \text{ g/mL} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 12 \text{ mL}$$

Volume total ekstrak = volume pemberian x jumlah tikus x lama perlakuan

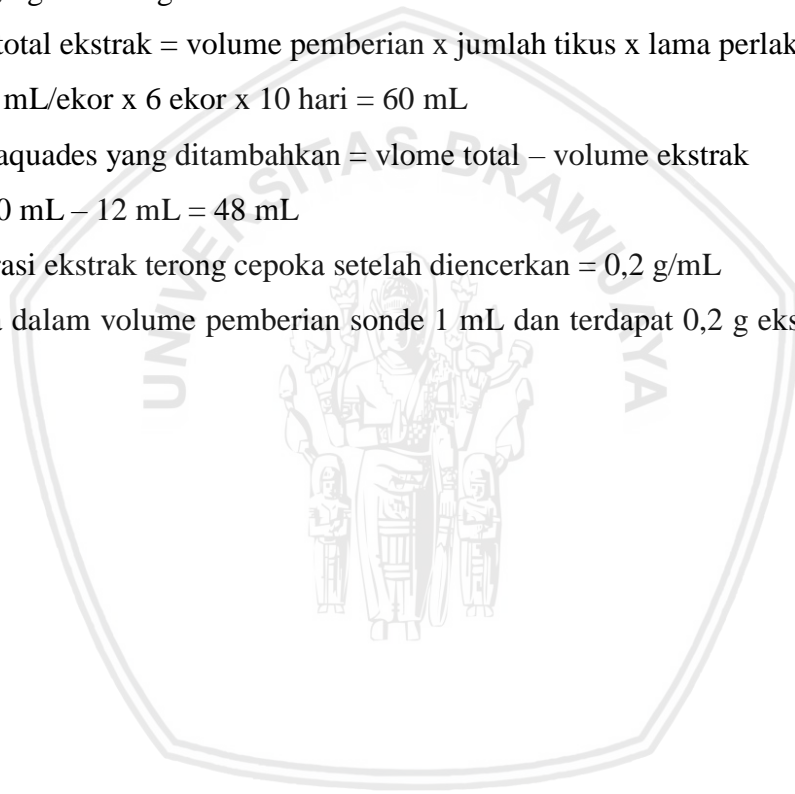
$$1 \text{ mL/ekor} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 60 \text{ mL}$$

Volume aquades yang ditambahkan = volume total – volume ekstrak

$$60 \text{ mL} - 12 \text{ mL} = 48 \text{ mL}$$

Konsentrasi ekstrak terong cepoka setelah diencerkan = 0,2 g/mL

Sehingga dalam volume pemberian sonde 1 mL dan terdapat 0,2 g ekstrak terong cepoka



Lampiran 7. Perhitungan dosis ekstrak biji kapuk

Dosis terapi = 0,1 g/kg BB

Berat tikus = 0,2 kg

Dosis yang diberikan = Dosis terapi x berat badan

$$= 0,1 \text{ g/kg BB} \times 0,2 \text{ kg} = 0,02 \text{ g/ekor}$$

Konsentrasi ekstrak biji kapuk adalah absolut (100 g/ 100mL)

Volume ekstrak yang disiapkan = dosis yang diberikan x konsentrasi x jumlah tikus x lama perlakuan

$$0,02 \text{ g/ekor} \times 1 \text{ g/mL} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 1,2 \text{ mL}$$

Volume total ekstrak = volume pemberian x jumlah tikus x lama perlakuan

$$1 \text{ mL/ekor} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 60 \text{ mL}$$

Volume aquades yang ditambahkan = volume total – volume ekstrak

$$60 \text{ mL} - 1,2 \text{ mL} = 58,8 \text{ mL}$$

Konsentrasi ekstrak biji kapuk setelah diencerkan = 0,2 g/mL

Sehingga dalam volume pemberian sonde 1 mL dan terdapat 0,02 g ekstrak biji kapuk.

Lampiran 8. Perhitungan Statistika Ekspresi Caspase 1 Testis

Tes Normalitas

	Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Casp	K-	.177	6	.200 [*]	.907	6	.419
	P1	.338	6	.031	.767	6	.029
	P2	.173	6	.200 [*]	.951	6	.748

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Casp	Based on Mean	2.001	2	13	.175
	Based on Median	1.965	2	13	.180
	Based on Median and with adjusted df	1.965	2	7.736	.204
	Based on trimmed mean	1.996	2	13	.175

Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	Tikus	N	Mean Rank
Casp	K-	6	4.92
	P1	6	8.42
	P2	6	15.17
	Total	18	

Test Statistics^{a,b}

	Casp
Kruskal-Wallis H	11.442
df	2
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Tikus

Uji Mann-Whitney K- dan P1

Ranks

	Tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Casp	K-	6	4.92	29.50
	P1	6	8.08	48.50
Total		12		

Test Statistics^a

Casp	
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	29.500
Z	-1.524
Asymp. Sig. (2-tailed)	.128
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.132 ^b

a. Grouping Variable: Tikus

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney K- dan P2**Ranks**

	Tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Casp	K-	6	3.50	21.00
	P2	6	9.50	57.00
Total		12		

Test Statistics^a

Casp	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Tikus

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney P1 dan P2

Ranks

	Tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Casp	P1	6	3.83	23.00
	P2	6	9.17	55.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Casp
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-2.562
Asymp. Sig. (2-tailed)	.010
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009 ^b

a. Grouping Variable: Tikus

b. Not corrected for ties.



Lampiran 9. Perhitungan Statistika Viabilitas Spermatozoa

Tes Normalitas

Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% K-	.135	6	.200 [*]	.994	6	.996
P1	.233	6	.200 [*]	.911	6	.441
P2	.252	6	.200 [*]	.932	6	.595

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tes Homogenitas

%		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
		Based on Mean	3.627	2	15
Based on Median	1.992	2	15	.171	
Based on Median and with adjusted df	1.992	2	9.314	.190	
Based on trimmed mean	3.425	2	15	.060	

Uji One-Way ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4280.444	2	2140.222	30.022	.000
Within Groups	1069.333	15	71.289		
Total	5349.778	17			

Uji Tuckey

Tikus	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P1	6	49.0000	
P2	6	51.0000	
K-	6		82.6667
Sig.		.912	1.000