



**PENGARUH REBUSAN DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*(L.) Urban)
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT
(*Mus musculus* L.) Balb-C**

SKRIPSI

Oleh:
FARIDLOTUL MA'RIFAH
NIM. 110210103002

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH REBUSAN DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT
(*Mus musculus* L.) Balb-C**

SKRIPSI

disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh:

**FARIDLOTUL MA'RIFAH
NIM. 110210103002**

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Joko Waluyo M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Bevo Wahono, S.Pd., M.Pd.

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur kepada Allah SWT, atas segala rahmat dan hidayah-Nya, saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Ayahanda Zainal Abidin, Ibunda Mukarti, dan Masku Samsul Hadi, terima
2. kasih yang tak terhingga atas do'a, dukungan dan semangat untuk saya segera bisa menyelesaikan skripsi dengan tepat waktu;
3. Guru-guruku sejak dari Madrasah Ibtidaiyah hingga Perguruan Tinggi yang terhormat, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran dan keihklasan demi mencerdaskanku;
4. Almamater Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

MOTTO

الصَّيْنِ

“Gapailah ilmu meski sampai ke Negeri Cina”

“Barang siapa berjalan untuk menuntut ilmu maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke syurga (HR. Muslim)”

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Faridlotul Ma'rifah

NIM : 110210103002

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : “Pengaruh Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C” adalah benar-benar hasil karya sendiri kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Mei 2015

Yang menyatakan,

Faridlotul Ma'rifah

NIM 110210103002

SKRIPSI

**PENGARUH REBUSAN DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*(L.) Urban)
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT
(*Mus musculus* L.) Balb-C**

Oleh:

FARIDLOTUL MA'RIFAH
NIM. 110210103002

Dosen Pembimbing Utama
Dosen Pembimbing Anggota

: Prof. Dr. Joko Waluyo M.Si.
: Bevo Wahono, S.Pd.,M.Pd.

PERSETUJUAN

**PENGARUH REBUSAN DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)
TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT
(*Mus musculus* L.) Balb-C**

SKRIPSI

disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

Nama Mahasiswa : Faridlotul Ma'rifah
NIM : 110210103002
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2011
Daerah Asal : Trenggalek
Tempat, Tanggal Lahir : Trenggalek, 21 Februari 1992

Disetujui oleh

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Dr. Joko Waluyo M.Si.
NIP. 19571028198503 1 001

Bevo Wahono, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19870526201212 1 002

PENGESAHAN

Skripsi Berjudul “Pengaruh Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatic* (L.) Urban) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C” telah diuji dan disahkan oleh fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 20 Mei 2015

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Sekretaris,

Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si.
NIP. 19571028198503 1 001

Bevo Wahono, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19870526201212 1 002

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Jekti Prihatin, M.Si.
NIP. 19651009 199103 2 001

Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19840223 201012 2 004

Mengesahkan
Dekan FKIP Universitas Jember

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.
NIP. 19540501 198303 1 005

RINGKASAN

Pengaruh Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Balb-C; Faridlotul Ma'rifah; 110210103002; 2015; 47 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Pegagan mengandung beberapa komponen yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Diantara sekian banyak kandungan bahan aktif, bahan utama yang dikandungnya adalah steroid yaitu *triterpenoid glycoside*. Steroid dapat berperan sebagai penghambat spermatogenesis dan bersifat reversibel. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh yang ditimbulkan dari rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C dan mengetahui dosis rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang berpengaruh signifikan untuk menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C.

Jenis penelitian ini penelitian eksperimental dengan RAL yang mendeskripsikan pengaruh pemberian rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C. Penelitian ini dilakukan bulan Januari-Maret 2015 di Laboratorium Biologi Biomedik, Fakultas Farmasi Universitas Jember. Mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C yang digunakan berumur 2-3 bulan dengan kisaran berat 20-30 gram, terdapat 4 variasi perlakuan dalam penelitian ini yaitu kontrol (tanpa perlakuan), perlakuan 1 (4,97 ml/ kg bb), perlakuan 2 (10 ml/ kg BB), dan perlakuan 3 (20 ml/ kg bb). Parameter kualitas spermatozoa yang diukur pada penelitian ini meliputi motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan uji *Anova Univariate* dengan taraf signifikan 5%. Hasil Uji ini dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui letak perbedaan antar perlakuan.

Hasil penelitian parameter rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C dalam tiap perlakuan menunjukkan P3 mempunyai nilai rerata paling rendah sebesar $37,67 \pm 8,214$, dan P0 memiliki nilai rerata tertinggi sebesar $93 \pm 2,53$. Rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C dalam tiap perlakuan menunjukkan P3 mempunyai nilai rerata paling rendah sebesar $33,67 \pm 22,64$ dan P0 memiliki nilai rerata paling tinggi sebesar $59,67 \pm 15,029$. Rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C dalam tiap perlakuan menunjukkan P3 mempunyai nilai rerata paling tinggi sebesar $68,83 \pm 7,41$ sedangkan P0 memiliki nilai rerata paling rendah sebesar $36,17 \pm 11,94$. Hasil uji *Anova Univariate* pengaruh rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan taraf signifikan sebesar $p = 0,000$. Hasil ini menunjukkan H_0 ditolak, H_a diterima sehingga diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *Anova Univariate* pengaruh rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa menunjukkan taraf signifikan sebesar $p = 0,168$. Hasil ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *Anova Univariate* pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi spermatozoa menunjukkan taraf signifikan sebesar $p = 0,000$. Hasil ini menunjukkan bahwa H_0 ditolak, H_a diterima. Data tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan : 1) ada pengaruh rebusan daun pegagan terhadap kualitas spermatozoa mencit meliputi: berpengaruh signifikan terhadap motilitas spermatozoa, berpengaruh tidak signifikan terhadap viabilitas spermatozoa, berpengaruh signifikan terhadap morfologi spermatozoa 2) dosis yang memiliki pengaruh signifikan menurunkan kualitas spermatozoa adalah 20 ml/ kg bb yaitu mampu menurunkan motilitas spermatozoa sebesar 84% dan morfologi spermatozoa sebesar 72%, namun hanya mampu menurunkan viabilitas spermatozoa secara tidak signifikan sebesar 36%.

Hasil penelitian ini dapat diberikan beberapa saran untuk perkembangan penelitian yang selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian yang sejenis namun dengan dosis yang lebih tinggi lagi agar dapat dilakukan suatu perbandingan antara dosis tertinggi pada penelitian ini dengan dosis tertinggi pada penelitian berikutnya, perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba yang lebih besar yaitu tikus, untuk mendapat volume sperma yang lebih banyak.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulisan skripsi dengan judul "Pengaruh Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C" dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian pendidikan S1 pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Ibu Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
3. Bapak Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember
4. Bapak Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Bevo Wahono, S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan tambahan ilmu pengetahuan serta penjelasan yang lebih dalam mengenai isi dari skripsi ini
6. Ibu Dr. Jekti Prihatin, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama sidang skripsi Universitas Jember;
7. Ibu Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Penguji Anggota sidang skripsi Universitas Jember;

8. Ayah, Ibu, kakak, dan segenap keluarga yang selalu memberikan dukungan dan doanya, serta tidak pernah putus asa memberikan semangat kepadaku dalam setiap langkah untuk menuntut ilmu;
9. Bapak Zainal Abidin, Ibu Mukarti, Kakak Samsul Hadi, dan Mas Imron Hamzah yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doanya;
10. Aulia Novita Sari, Icha dan Akmaliatu Nisa' yang telah membantu, memberi semangat, dan berbagi keceriaan, serta membantu dalam penyelesaian penelitian ini;
11. Teman-temanku "BIONIC" angkatan 2011 Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember yang telah memberikan banyak kenangan dan pelajaran tak terlupakan selama ini;
12. Mbak Indri dan Mbak Dini yang selalu membantu penelitian ini di Laboratorium Biomedik Farmasi Universitas Jember di Jubung, Jember;
13. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat sebagaimana mestinya.

Jember, Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Morfologi Tanaman Pegagan(<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban).....	6
2.2 Klasifikasi Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban).....	7
2.3 Kandungan Senyawa Aktif pada Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban)	7

2.4 Sistem Reproduksi Mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C Jantan.....	10
2.4.1 Testis	12
2.4.2 Sistem duktus.....	12
2.4.3 Kelenjar asesori.....	13
2.4.4 Penis.....	13
2.5 Spermatogenesis	14
2.6 Analisis Semen.....	15
2.7 Hipotesis	18
2.8 Landasan Teoritis yang Mendasari Hipotesis	19
2.9 Hipotesis	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu	21
3.3 Rancangan Penelitian.....	21
3.4 Variabel Penelitian.....	22
3.5 Definisi Operasional	22
3.6 Alat dan Bahan.....	23
3.6.1 Alat	23
3.6.2 Bahan	23
3.7 Pelaksanaan Penelitian	23
3.7.1 Pembuatan Rebusan Daun Pegagan.....	23
3.7.2 Persiapan Hewan Coba.....	24
3.7.3 Persiapan Perlakuan.....	24
3.7.4 Kegiatan Penelitian.....	24
3.7.5 Perhitungan Pengamatan Motilitas Spermatozoa	25
3.7.6 Pengamatan Viabilitas Spermatozoa	25
3.7.7 Perhitungan Morfologi	26
3.8 Analisis Data.....	26
3.9 Alur Penelitian	27

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Hasil Penelitian.....	29
4.1.1 Motilitas spermatozoa	29
4.1.2 Viabilitas Spermatozoa	31
4.1.3 Morfologi spermatozoa	33
4.2 Pembahasan	36
4.2.1 Motilitas Spermatozoa	36
4.2.3 Viabilitas Spermatozoa	39
4.3.3 Morfologi Spermatozoa	41
BAB 5. PENUTUP.....	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 3.1 Rancangan penelitian dalam setiap ulangan	22
Tabel 4.1 Rerata pengaruh rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C dalam tiap perlakuan.....	31
Tabel 4.2 Hasil Anava tentang pengaruh rebusan daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) terhadap motilitas spermatozoa	31
Tabel 4.3 Hasil uji BNT tentang pengaruh rebusan daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) terhadap motilitas spermatozoa.....	32
Tabel 4.4 Rerata pengaruh rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb- C dalam tiap perlakuan.....	33
Tabel 4.5 Hasil Anava tentang pengaruh pengaruh rebusan daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) terhadap viabilitas spermatozoa.....	34
Tabel 4.6 Rerata pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C dalam tiap perlakuan	36
Tabel 4.7 Hasil Anava tentang pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C.....	36
Tabel 4.8 Hasil uji BNT tentang pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambar morfologi tumbuhan pegagan.....	7
2.2 Struktur inti triterpenoid.....	8
2.3 Sistem Reproduksi Mencit Jantan.....	11
2.4 Hubungan antara hipotalamus, hipofisis anterior, dan testis.....	12
2.5 Spermatogenesis.....	15
2.6 Morfologi Spermatozoa Mencit Normal dan Abnormal.....	18
2.7 Kerangka Teori.....	19
4.1 Grafik Rata-Rata Viabilitas Spermatozoa Mencit yang Diberi Perlakuan selama 36 Hari	33
4.2 Morfologi Spermatozoa Mencit Normal dan Abnormal.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks penelitian.....	48
B. Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis (spesies) Hewan Uji Menurut Laurence & Bacharah.....	50
C. Perhitungan Penentuan Dosis Mencit	51
D. Perhitungan Jumlah Ulangan Minimal	54
E. Data Hasil Pengamatan	55
F. Uji Motilitas	57
G. Uji Viabilitas	59
H. Uji Morfologi	61
I. Surat Selesai Penelitian	63
J. Lembar Konsultasi Penyusun Skripsi	64
K. Foto Penelitian	66

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Meningkatnya populasi manusia di seluruh dunia utamanya di negara berkembang sangat mempengaruhi sistem tatanan kehidupan. Jumlah penduduk Indonesia berdasarkan sensus penduduk tahun 2010 yaitu mencapai 237 juta jiwa dengan jumlah penduduk berjenis kelamin laki-laki sekitar 50,37% (BPS, 2012). Pria menjadi fokus baru untuk program KB selama ini masih belum banyak diperhatikan. Kontrasepsi pria dapat menjadi harapan perkembangan yang cukup luas di masa datang dengan ditemukannya berbagai hasil penelitian terbaru. *World Health Organization* (WHO) sebagai Badan Kesehatan Dunia telah membentuk *Task Force* untuk mencari dan mengembangkan pengaturan kesuburan pria. Di sisi lain, kajian alat reproduksi terkait pengendalian populasi penduduk dapat diterapkan sebagai program keluarga berencana (Wirda, 2009:1).

Pembuatan kontrasepsi diantaranya dapat dilakukan dengan menggunakan ramuan obat tradisional sebagai salah satu upaya pengobatan dalam rangka *back to nature*. Masyarakat awam lebih memilih alternatif ini karena dianggap relatif lebih murah (dapat terjangkau oleh semua lapisan masyarakat), dan lebih aman dari efek samping dibandingkan dengan obat sintetik. Pemanfaatan bahan-bahan yang berasal dari alam diantaranya dapat diambil dari tumbuh-tumbuhan.

Metode yang sedang dikembangkan untuk menurunkan fertilitas pria dengan penggunaan senyawa yang bersifat antifertilitas, baik yang dapat menurunkan jumlah spermatozoa maupun yang berhubungan dengan pengaturan hormon (Ermayanti, *dkk.* 2005:45-49). Kontrasepsi pria dengan cara pemberian hormon merupakan salah satu alternatif yang banyak diteliti dengan sasaran utama adalah pengendalian proses spermatogenesis melalui poros utama pada bagian hipotalamus-hipofisis-testis. Tujuan kontrasepsi hormonal yaitu mengubah lingkungan endokrin di dalam tubuh manusia sehingga kontrol hormonal untuk spermatogenesis dapat dihambat.

Penelitian penggunaan bahan alam sebagai bahan pengobatan telah banyak dilakukan. Ada beberapa hasil skripsi penelitian yang banyak menggunakan daun pegagan dengan hasil yang berbeda-beda. Penelitian terdahulu dengan menggunakan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) diketahui dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik yang meliputi sel spermatogonium spermatosit dan sel spermatid pada dosis 125 mg/kg BB (Wirda, 2009: 30-35), begitu juga dengan menggunakan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) pada dosis rendah (0,97 gr/kg BB) dapat meningkatkan jumlah folikel pada ovarium betina, sedangkan pada dosis tinggi (1,95 gr /kg BB) dan (3,9 gr /kg BB) pegagan dapat meningkatkan folikel-folikel atresia pada ovarium betina (Fitriyah, 2009:22). Pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang paling efektif untuk menurunkan jumlah folikel primer, sekunder, tertier dan de graff adalah dosis 275 mg /Kg BB (Nur, 2010:67). Pegagan juga mengandung beberapa komponen yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Diantara sekian banyak kandungan bahan aktif, bahan utama yang dikandungnya adalah steroid yaitu *triterpenoid glycoside*. Triterpenoid merupakan kandungan primer dari pegagan yang dipercaya mampu memberikan efek terapeutik dari berbagai masalah seperti penyakit kulit liprosis, lupus, eksim, psoriasis, diare, demam, dan berbagai masalah traktus genitalis betina (Refangga, 2013:1).

Cara kerja senyawa antifertilitas memiliki 2 prinsip yaitu melalui efek sitotoksik atau sitostatik dan melalui efek hormonal dengan cara menghambat laju metabolisme sel sperma sehingga mengganggu keseimbangan sistem hormon. . Partodihardjo (1980:114) menjelaskan bahwa, hipotalamus mensekresikan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormon*) yang merangsang kelenjar hipofisis anterior untuk mensekresikan FSH dan LH. Kedua hormon ini memegang peran utama dalam mengatur fungsi seksual jantan. FSH dibawa melalui darah menuju testis untuk mengawali proses proliferasi spermatogonesis, selanjutnya LH akan mensekresikan testosteron untuk menyelesaikan proses pematangan dan pembentukan spermatozoa. Gangguan pada proses sekresi FSH dan LH menyebabkan proses

pembelahan dan pematangan sel spermatogenik menjadi terhambat. Hormon LH yang dilepaskan oleh hipofisis lalu terikat pada reseptornya di sel-sel interstisial (leydig) pada testis, terbentuknya ikatan antara LH dan reseptornya akan menghasilkan pesan kedua berupa cAMP. Terbentuknya cAMP mengaktifkan protein kinase yang akan mempengaruhi inti sel agar gen yang mengatur biosintesis testosteron menjadi aktif yang akan dimulai sintesis protein. Biosintesis testosteron melibatkan berbagai zat, enzim, dan hormon steroid lainnya.

Adanya bahan aktif pada daun pegagan berupa triterpenoid glikosida, menyebabkan pengaktifan protein kinase jadi terhambat sehingga menyebabkan hormon testosteron dan proses spermatogenesis terhambat (Wirda, 2009:2). Atas dasar potensi yang terdapat dalam daun pegagan serta penelitian yang telah dilakukan tersebut, maka penelitian ingin mengetahui hasil penelitian selanjutnya dengan bahan dan kajian yang sama namun menggunakan cara yang berbeda yaitu tentang pengaruh rebusan daun pegaga (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini adalah :

- a. Adakah pengaruh yang ditimbulkan dari rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C?
- b. Pada dosis rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berapakah berpengaruh signifikan untuk menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

- a. Mengetahui adanya pengaruh yang ditimbulkan dari rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C.
- b. Mengetahui dosis rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang dapat berpengaruh signifikan untuk menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb- C.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi:

- a. Manfaat bagi masyarakat adalah memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang manfaat rebusan berbagai dosis daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa sebagai obat antifertilitas dan memberikan informasi yang bermanfaat dalam pengembangan ilmu reproduksi yang kemudian dapat digunakan sebagai alternatif kontrasepsi pria.
- b. Manfaat bagi peneliti adalah mendapatkan pengalaman dan ilmu pengetahuan dalam memanfaatkan rebusan daun pegagan sebagai alternatif kontrasepsi pria.
- c. Peneliti selanjutnya, hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai acuan atau referensi dalam melakukan penelitian yang sejenis dalam objek kajian yang berbeda berkaitan dengan penggunaan rebusan daun pegagan.

1.5 Batasan Masalah

Agar penelitian ini terarah pada penelitian yang akan diteliti, maka ada batasan masalah sebagai berikut.

a. Hewan Coba

Hewan coba yang dipakai dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) Balb-C jenis kelamin jantan, fertil dengan berat badan rata-rata 20-30 gram, umur 2-3 bulan. Penentuan masa penelitian dilakukan selama 36 hari.

b. Motilitas yang diamati menurut WHO tahun 2010 kategori motilitas sperma dibagi menjadi tiga yaitu; *Progressive motility* (PR); *Non-Progressive*(NP); *Immotility* (IM): tidak ada pergerakan atau mati. Persentase motilitas dihitung dari jumlah kategori PR dari 100 sperma

c. Viabilitas spermatozoa yang hidup ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna *eosin*. Spermatozoa mati, akan menyerap zat warna yang ada disekitarnya sedangkan yang hidup tidak menyerap zat warna. Persentase motilitas dihitung dari jumlah spermatozoa yang terwarnai dari 100 sperma.

d. Morfologi spermatozoa yang dianalisis secara kualitatif yaitu spermatozoa normal dan abnormal dari masing-masing kelompok perlakuan. Spermatozoa normal memiliki kepala dengan ujung menyerupai kait, meruncing dan melengkung dan tidak melingkar. Bentuk spermatozoa normal yang kurang dari 50% disebut teratozoospermia (Nuraini, 2012:12). Sperma yang abnormal dapat diklasifikasi berdasarkan bentuk kepala dan ekornya. Bentuk sperma abnormal pada mencit mulai daribentuk kepala seperti kepala ganda, kepala *amorfi*, kepala mikro, kepala bebas tanpa ekor, ekor membentuk sudut, ekor membentuk *loop*, ekor ganda (Rahmi, 2012: 18). Pengamatan dilakukan dengan membendakan bentuk sperma normal dan abnormal dari setiap 100 sperma yang diamati, hingga diperoleh data bentuk sperma dalam persen.

e. Dosis rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang dipakai pada penelitian ini adalah dosis 4,97 ml/ kg bb, 10 ml/ kg bb, dan 20 ml/ kg bb

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berasal dari Asia Tropik tersebar di Asia Tenggara, India, Cina, Jepang, Australia dan negara-negara lain (Wirda, 2009:5). Pegagan memiliki akar rimpang yang pendek serta mempunyai geragih. Stolon tumbuh dari sistem perakaran, memiliki ukuran yang panjang dan tumbuh menjalar. Pegagan memiliki daun satu helaian yang tersusun dalam roset akar dan terdiri dari 2 – 10 helai daun. Daun berwarna hijau dan berbentuk seperti kipas, buah berbentuk pinggang atau ginjal. Permukaan daun pegagan licin, tepinya agak melengkung ke atas, bergerigi (Nur, 2010:6).

Permukaan daun pegagan hampir bervariasi. Variasi bentuk tepian daun juga ditemukan di India yaitu beringgit (*crenates*), beringgit bergigi (*crenates dentates*) dan bergigi (*dentates*). Pegagan mempunyai akar rimpang yang pendek serta mempunyai geragih akar keluar dari buku dan berupa akar tunggang berwarna putih. Stolon tumbuh dari sistem perakaran, memiliki ukuran yang panjang dan tumbuh menjalar. Setiap buku dari stolon akan tumbuh tunas yang akan menjadi cikal bakal tumbuhan pegagan baru (Nur, 2010:6). Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat dikonsumsi oleh manusia dalam bentuk basah dengan berat 15 gram (LIPI, 2009:26). Tumbuhan pegagan juga berkhasiat tonik, antiinfeksi, antirematik, batuk, mimisan menghentikan pendarahan, membersihkan rahim dari darah nifas dan tekanan darah tinggi. Herba atau berbagai ekstrak pegagan dan salah satu senyawa kandungan tumbuhan ini, asiatikosida digunakan untuk perawatan kulit.



Gambar 2.1 Morfologi tumbuhan pegagan 1) stolon 2) daun 3) batang 4)akar serabut
(Sumber: Wirda, 2009)

2.2 Klasifikasi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*)

Menurut Wirda (2009:6) secara sistematis tentang tanaman pegagan maka klasifikasinya sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledone
Ordo	: Umbilales
Family	: Umbiliferae (Apiaceae)
Genus	: Centella
Species	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban

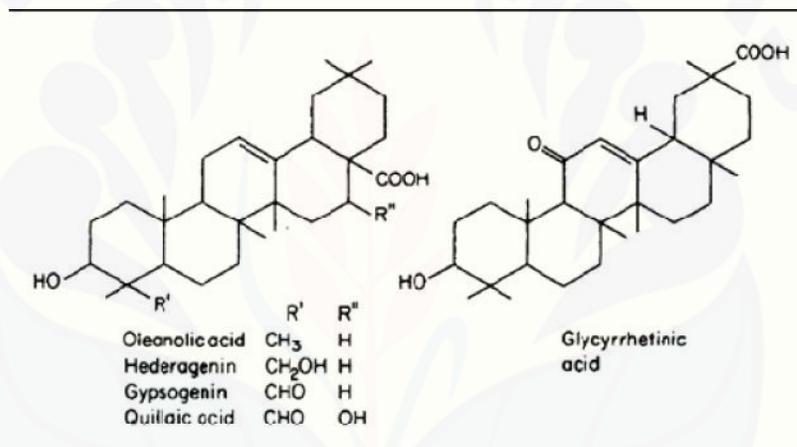
2.3 Kandungan Senyawa Aktif pada Daun Pegagan (*Centella asiatica*)

Pada tanaman pegagan, triterpenoid banyak ditemukan di bagian daunnya. Triterpenoid yang ada pada pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) digolongkan dalam glikosida triterpen memiliki struktur dasar *siklopentan perhidrofenantrena* yang juga dimiliki oleh steroid. Steroid berperan sebagai penghambat spermatogenesis dan bersifat reversibel. Spermatozoa adalah sel haploid, yang berasal dari perkembangan dan diferensiasi sel-sel induk germinal di dalam testis

(Wirda, 2009:6). Secara lengkap zat kimia yang dikandung dalam pegagan diantaranya yaitu.

1) *Triterpenoid Glycoside*

Senyawa glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida merupakan salah satu jenis saponin yang senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Dikenal ada dua jenis saponin yaitu, glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Prasetyo, 2011:14).



Gambar 2.2 Struktur inti triterpenoid
(Sumber: Prasetyo.2011:15)

2) Alkaloid

Alkaloid termasuk senyawa organik bahan alam yang terbesar jumlahnya, baik segi jumlah senyawa maupun sebarannya dalam dunia tumbuhan. Struktur alkaloid beraneka ragam, ada yang sederhana sampai yang rumit. Organ reproduksi jantan cara kerja alkaloid hampir mirip dengan minyak atsiri tidak bekerja pada proses spermatogenesis tetapi pada proses transportasi dapat menguap pada suhu kamar sehingga menyebabkan penggumpalan sperma. Ketika sperma sudah menggumpal,

motilitas dan daya hidup sperma menjadi rendah, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur untuk melakukan pembuahan (Wirida, 2009:6-7).

3) Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu kelompok yang termasuk ke dalam senyawa fenol yang terbanyak di alam, senyawa-senyawa flavonoid ini bertanggung jawab terhadap zat berwarna ungu, merah, biru dan sebagian zat berwarna kuning dalam tumbuhan. Flavonoid dalam tumbuhan mempunyai fungsi sebagai pigmen warna, patologi, aktivasi farmakologi, flavonoid dalam makanan (Nur, 2010:14).

4) Senyawa Terpen

Senyawa terpen, pada awalnya merupakan suatu golongan senyawa yang hanya terdiri dari atom C dan H, dengan perbandingan 5 : 8 dan rumus empiris C_5H_8 (unit isoprena). Senyawa terpen lazim disebut isoprenoid. Terpen dapat mengandung dua, tiga atau lebih. Molekul-molekulnya dapat berupa rantai terbuka atau siklik, mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil atau gugus fungsional lain. Struktur lain yang tidak mengandung unsur C dan H disebut terpenoid. Dewasa ini baik terpen maupun terpenoid dikelompokkan sebagai senyawa terpenoid isoprenoic (Wirida, 2009:9).

5) Steroid

Steroid adalah kelompok senyawa yang mempunyai kerangka dasar *siklopentana perhidrofenantrena*, mempunyai empat cincin terpadu. Senyawa ini mempunyai efek fisiologis tertentu. Berbagai hormon seks yang dihasilkan terutama pada testis dan indung telur adalah golongan steroid. Hormon yang dihasilkan meliputi androgen, estrogen, progesteron dan testosteron. Androgen berperan pada pertumbuhan dan sintesis protein secara umum, khususnya sintesis protein miofibril. Androgen juga memicu pertumbuhan penis, vas deferens, vesikula seminalis,

kelenjar prostat, epididimis dan sifat- sifat kelamin sekunder pada laki-laki (Wirda, 2009:9).

6) Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah segala sesuatu yang terkait dengan bau harum yang berasal dari tumbuhan. Sifat fisik terpenting minyak atsiri adalah sangat mudah menguap pada suhu kamar, sehingga sangat berpengaruh dalam menentukan metode analisis yang akan digunakan dalam penentuan komponen kimia dan komposisinya (Wirda, 2009:9).

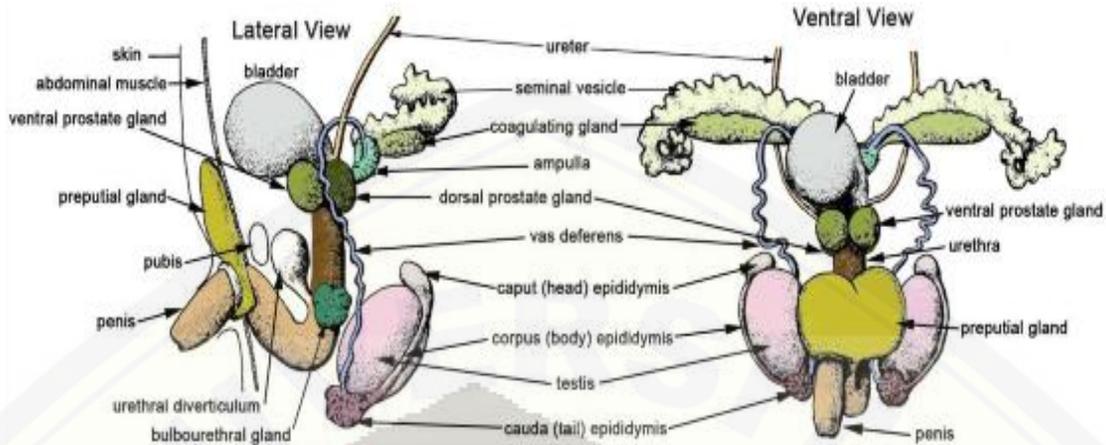
7) Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa *nonvolatile* dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik (Prasetyo, 2011: 12).

Konsentrasi saponin dalam air stabil pada T 30°C selama waktu kurang dari 75 menit, hingga temperatur 40°C, penurunan masih cukup kecil namun padatemperatur di atas 40°C penurunan konsentrasi saponin menjadi sangat signifikan. Hidrolisis saponin dikatalisis pada kondisi basa dan tidak dikatalisis pada kondisi asam (Prasetyo, 2011:15).

2.4 Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Jantan

Sistem reproduksi mencit jantan terdiri atas sepasang testis, epididimis, sistem duktus, kelenjar aksesoris, dan penis (Rugh 1986:7-24; Junquiera & Carneiro 1980:444). Berikut ini gambar sistem reproduksi mencit jantan.

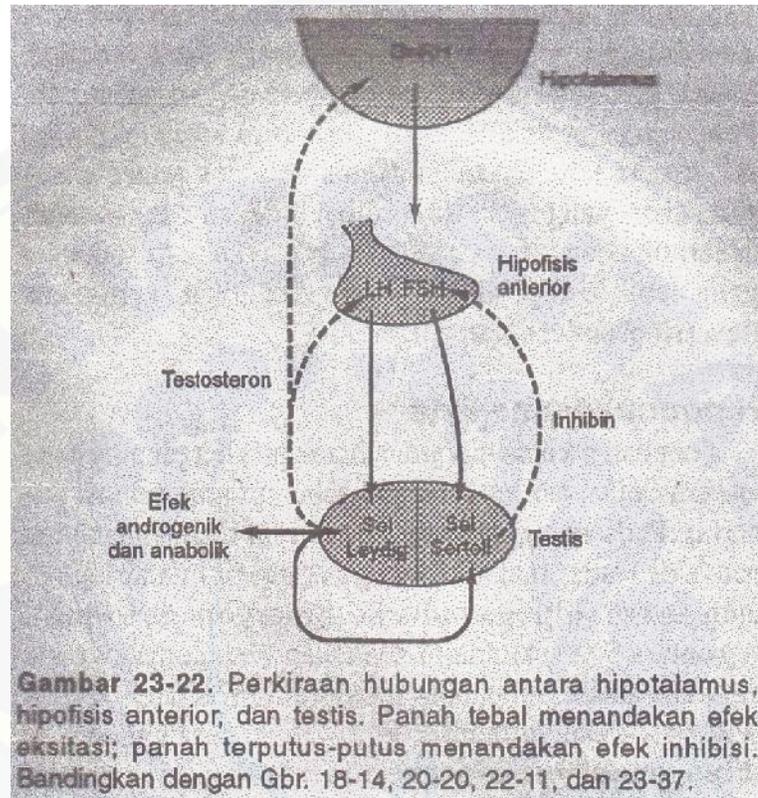


Gambar 2.3 Sistem Reproduksi Mencit Jantan (Sumber: Rugh, 1986:8)

Telah dilaporkan bahwa beberapa sel epitel yang melapisi duktus deferens dan epididymis mencit dapat mensintesis sterol dan aktivitas biosintesis tersebut tergantung kepada androgen. Ada kemungkinan bahwa sterol dan steroid yang ditambahkan kepada spermatozoa di dalam saluran jantan dapat mempunyai pengaruh penting pada metabolisme spermatozoa atau pada perubahan membran yang berkaitan dengan pemasakan (Turner, 1988: 524-530).

Testosteron menghambat sekresi LH dengan bekerja secara langsung pada hipofisis anterior dan dengan menghambat sekresi GnRH dari hipotalamus. Inhibin bekerja secara langsung pada hipofisis anterior untuk menghambat sekresi FSH. Sebagai respon terhadap LH, sebagian testosteron yang disekresikan dari sel Leydig membasahi epitel seminiferus dan memberikan sel Sertoli konsentrasi lokal androgen yang tinggi yang penting untuk spermatogenesis normal. Testosteron diberikan secara sistemis tidak meningkatkan kadar androgen di testis sampai setinggi itu, dan hal ini menghambat sekresi LH. Akibatnya, efek akhir testosteron yang diberikan sistemik secara umum adalah penurunan hitung sperma. Sekarang sedang dijajaki kemungkinan penggunaan inhibin sebagai kontrasepsi pria (Ganong, 1998:425).

Hipotesis mengenai cara pengaturan fungsi testis dengan kerja umpan balik steroid dapat dilihat apa gambar di bawah ini.



Gambar 2.4 Perkiraan hubungan antara hipotalamus, hipofisis anterior, dan testis. Panah tebal menandakan efek eksitasi, panah terputus-putus menandakan efek inhibisi. (Sumber: Ganong, 1998:425).

2.4.1 Testis

Testis disebut sebagai kelenjar ganda karena secara fungsional bersifat endokrin dan eksokrin. Testis bersifat endokrin karena menghasilkan hormon androgen serta bersifat eksokrin karena menghasilkan spermatozoa (Junquiera & Carneiro 1980:444).

2.4.2 Sistem Duktus

Sistem duktus terdiri atas rete testis, duktus deferens, epididimis, dan duktus deferens. Epididimis terletak di bagian dorsolateral testis dan memanjang dari kranial

ke kaudal testis. Epididimis menyalurkan spermatozoa dan cairan dari testis ke duktus deferens (Ratna, 2011:20). Fungsi duktus epididimis ada 4 macam yaitu: transportasi, konsentrasi, pendewasaan dan timbunan spermatozoa (Partodihardjo, 1980: 35). Dalam epididimis cairan testes ini diserap oleh dinding epididimis dan spermatozoa tertumpuk dan mampat.

2.4.3 Kelenjar Aksesoris

Kelenjar aksesoris terdiri atas kelenjar vesikula seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar bulbouretra (cowper) (Campbell *dkk.*, 2004:156). Kelenjar ini berfungsi untuk membuat cairan semen agar sperma dapat bergerak aktif dan hidup dalam waktu tertentu.

Kelenjar vesikula seminalis berjumlah sepasang dan terletak di atas kelenjar prostat. Kelenjar prostat pada mencit terdiri atas sepasang dan terletak di bawah kelenjar vesikula seminalis (Rugh, 1968: 22 & 23). Kelenjar tersebut mensekresikan cairan yang mengandung enzim antikoagulan dan asam sitrat (Campbell *dkk.*, 2004:156).

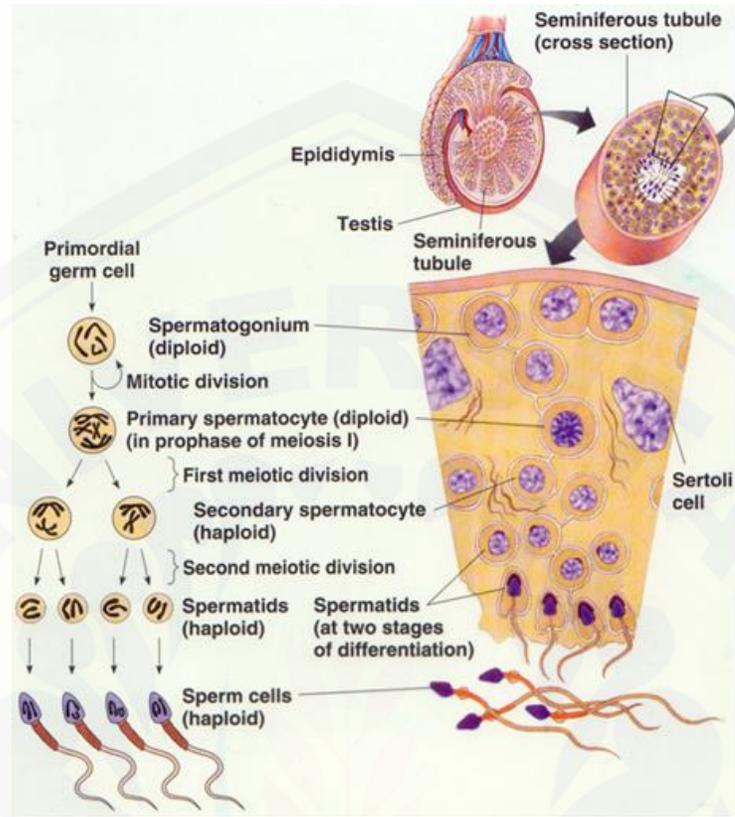
2.4.4 Penis

Organ kopulasi mencit jantan terdiri atas korpus cavernosum, korpora kavernosa, dan kepala penis (*gland penis*). Korpus kavernosum diselubungi oleh tunika albuginea, yaitu suatu selaput fibrosa tebal berwarna putih, dan membentuk badan penis. Kepala penis merupakan bagian ujung dari penis yang ditutupi oleh preputium (Rugh, 1986:23).

2.5 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di dalam tubulus seminiferus testis. Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus testis, melalui beberapa proses, yaitu proliferasi, diferensiasi dan transformasi. Spermatogenesis dapat dibedakan dua tahap, yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis (Roro, 2012). Pada spermatogenesis, *Follicle stimulating hormone* (FSH) memiliki peranan yang penting, yaitu berperan dalam menstimulasi kejadian awal spermatogenesis diantaranya proliferasi, peranan ini ditunjukkan dengan fungsi FSH untuk menstimulasi pertumbuhan sel germinatif dalam tubulus seminiferus. Pada tahap proliferasi, spermatogonium mengalami pembelahan mitosis menjadi spermatogonia tipe A selama tiga mitosis pertama, kemudian menjadi spermatogonia tipe intermediet setelah pembelahan ke empat dan menjadi spermatogonia tipe B setelah pembelahan ke lima. Selama tahap pertumbuhan spermatogonia mengalami penambahan volume. Spermatogonia tipe B kemudian tumbuh membentuk spermatosit I (primer). Pada tahap pematangan, spermatosit primer akan mengalami pembelahan reduksional (meiosis) (Wirda, 2009: 27).

Selama pembelahan meiosis, FSH sangat berpengaruh terhadap kelangsungan pembelahan meiosis. Fitriyah (2005), menjelaskan bahwa pembelahan meiosis yang dialami oleh spermatosit primer dimulai dari meiosis I dilanjutkan ke meiosis II. Dari masing-masing fase pembelahan ini masih dibagi lagi ke dalam beberapa tahap, yaitu: profase, metafase, anafase dan telofase. Tahap profase I meiosis I merupakan tahap yang sangat panjang sehingga dikelompokkan lagi dalam lima stadia, yaitu: leptotene, zigotene, pachitene, diplotene, dan diakinesis (Wirda, 2009: 27). Berikut ini gambar proses spermatogenesis.



Gambar 2.5 Spermatogenesis
(Sumber: Campbell *dkk.*, 2004:161)

2.7 Analisis Semen

Analisis semen terdiri atas pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis antara lain adalah pemeriksaan warna, pengukuran volume, dan pengukuran PH. Semen mengandung beberapa enzim defosforilase yang dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar asesori.

2.5.1 Motilitas Spermatozoa

Motilitas dan fertilisasi sperma dimungkinkan karena gerakan flagel melalui medium cairan dengan kecepatan 1 sampai 4 mm per menit. Menurut WHO tahun 2010 kategori motilitas sperma dibagi menjadi tiga yaitu; *Progressive motility* (PR); *Non-Progressive*(NP); *Immotility* (IM): tidak ada pergerakan atau mati. Sperma

normal cenderung untuk bergerak lurus, garis melingkar daripada dalam pergerakan berputar-putar. Aktivitas sperma lebih meningkat dalam medium netral dan sedikit basa seperti yang terdapat dalam semen ejakulasi, tetapi pada medium yang sangat asam dapat mematikan sperma. Aktivitas sperma sangat meningkat dengan peningkatan suhu, demikian juga kecepatan metabolisme, menyebabkan hidup sperma dapat dipersingkat (Guyton, 1994:312). Ketika sebagian besar sperma mengalami kelainan dalam morfologinya atau ditemukan tidak motil, maka orang tersebut hampir infertil walaupun sisa sperma lainnya terlihat normal (Guyton, 1994:314). Motilitas spermatozoa dapat dikatakan normal jika spermatozoa yang motil lebih dari 50% (Nuraini, 2012:11).

Spermatozoa yang imotil belum tentu spermatozoa tersebut sudah mati. Lingkungan yang tidak sesuai dapat menyebabkan spermatozoa tidak mampu bergerak tetapi jika spermatozoa tersebut berada pada lingkungan yang mendukung maka spermatozoa tersebut akan bergerak kembali (Arsetyo *dkk.*, 2012:61).

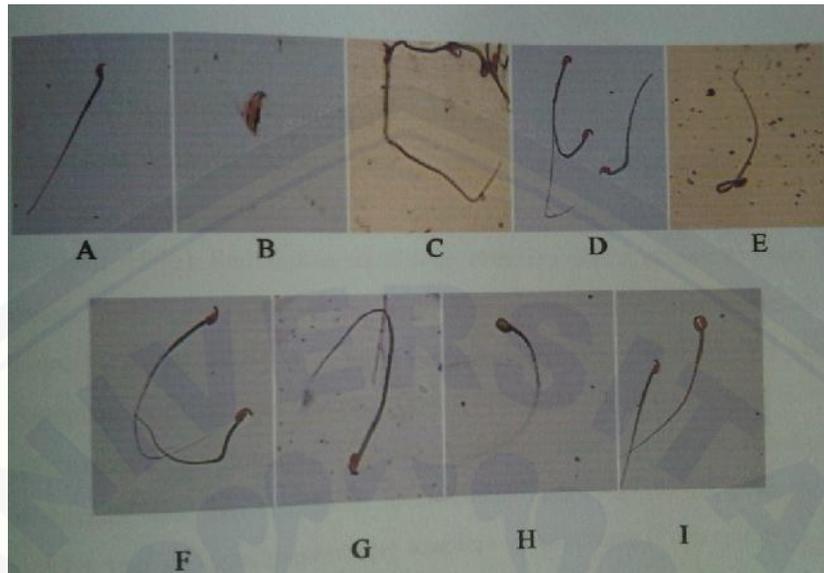
2.5.2 Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan proporsi spermatozoa hidup dalam semen. Uji viabilitas dilakukan dengan pewarnaan supravital yaitu sel mati memiliki membran sel yang rusak sehingga dapat dimasuki zat warna (Nuraini, 2012:12). Persentase spermatozoa yang hidup ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna eosin yang dicampur pada sperma. Apabila spermatozoa mati, akan menyerap zat warna yang ada disekitarnya, karena permeabilitas membrannya meningkat sehingga warnanya berubah menjadi merah gelap, sedangkan yang hidup tidak akan menyerap zat warna. Pada sel yang mati akan terjadi kerusakan membran plasmanya, selanjutnya akan menyerap warna (Arsetyo *dkk.*, 2012:60). Sel yang telah menyerap warna akan terjadi pembengkakan.

2.5.3 Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa terdiri atas kepala yang berisi inti, leher yang menghubungkan antara bagian kepala dan ekor serta ekor yang berperan dalam pergerakan spermatozoa. Penyimpangan morfologi dari spermatozoa normal dianggap sebagai abnormalitas). Bentuk spermatozoa normal yang kurang dari 50% disebut *Teratozoospermia*. Spermatozoa normal memiliki kepala dengan ujung menyerupai kait, meruncing dan melengkung dan tidak melingkar (Nuraini, 2012:12). Sperma yang abnormal dapat diklasifikasi berdasarkan bentuk kepala dan ekornya. Bentuk sperma abnormal pada mencit mulai dari bentuk kepala seperti kepala ganda, kepala *amorfi*, kepala mikro, kepala bebas tanpa ekor, ekor membentuk sudut, ekor membentuk *loop*, ekor ganda (Rahmi, 2012: 18).

Kelainan spermatogenesis dapat dipengaruhi oleh faktor endogen maupun eksogen. Faktor endogen meliputi hormonal, psikologis, dan genetik. Faktor eksogen dapat berupa bahan kimia, obat-obatan, logam berat, suhu, radiasi sinar X, getaran ultrasonik, vitamin, gizi, trauma, dan peradangan (Rezha, 2013:12). Abnormalitas dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer terjadi selama perkembangan spermatozoa di dalam tubulus seminiferus testis. Abnormalitas primer terjadi karena adanya gangguan spermatogenesis karena menurunnya kadar testosteron yang diakibatkan oleh efek radikal bebas yang dapat menurunkan diameter sel Leydig di testis. Abnormalitas sekunder terjadi diduga karena adanya gangguan dalam proses pematangan spermatozoa dalam epididimis (Rahmi, 2012:42). Berikut ini morfologi spermatozoa mencit yang normal dan abnormal dari hasil penelitian terdahulu.

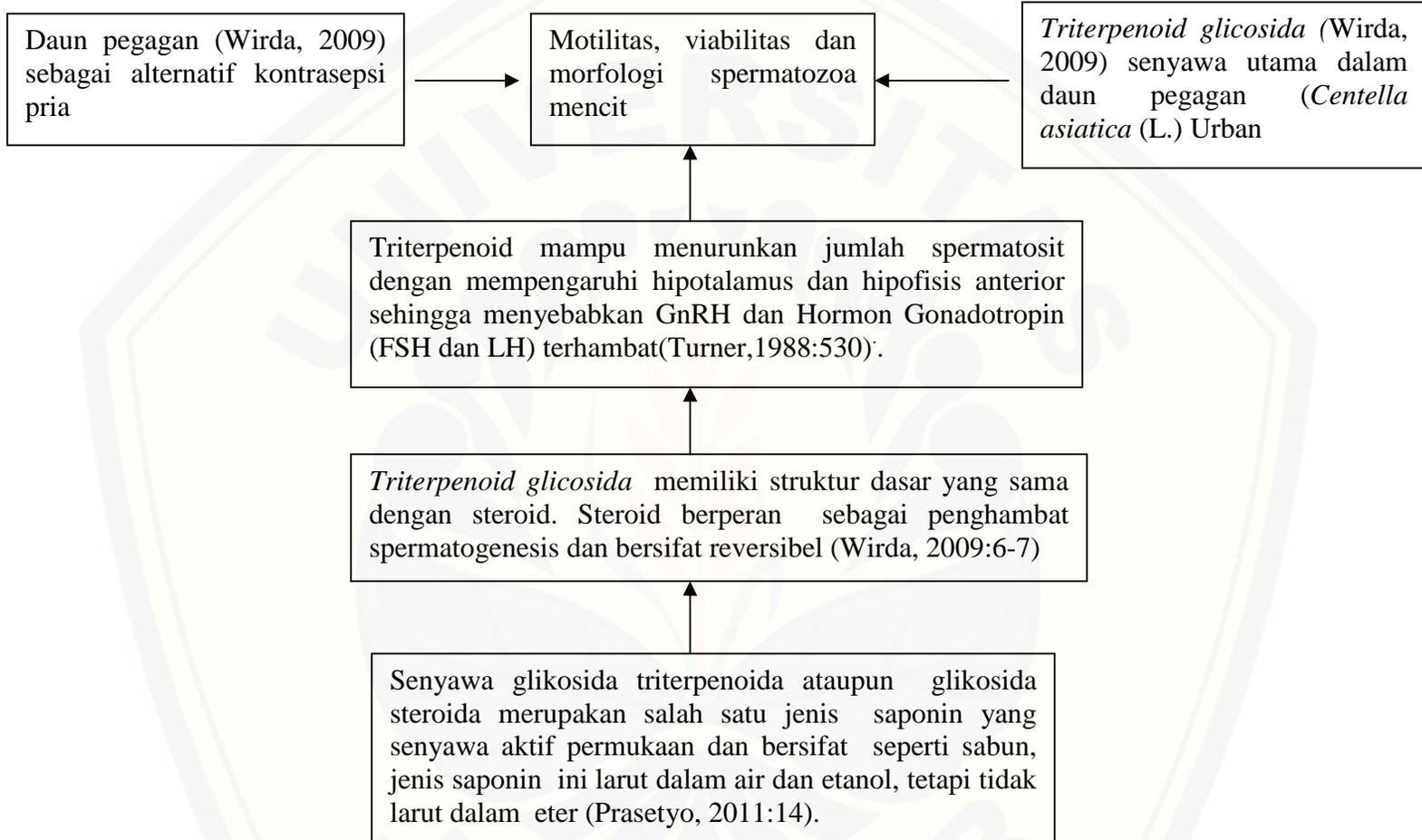


Gambar 2.6 Morfologi spermatozoa mencit normal dan abnormal

(Sumber: Rahmi, 2012: 25)

Keterangan: A. Spermatozoa normal; B. Kepala bebas tanpa ekor; C. Leher melengkung dan ekor membentuk sudut; D. Ekor membentuk sudut; E. Leher melipat; F. Leher melengkung dan ekor membentuk *loop*; G. Spermatozoa membentuk huruf U; H. Kepala mikro; I. Kepala ganda.

2.8 Landasan Teoritis yang Mendasari Hipotesis



Gambar 2.7 Kerangka teoritis

2.9 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini yaitu:

- a. Ada *pengaruh*rebusan daun pegagan terhadap kualitas spermatozoa pada mencit (*Mus Musculus L.*) Balb-C
- b. Dosis yang berpengaruh signifikan dalam menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) Balb-C yaitu pada dosis 20 ml/ kg bb karena dosis tertinggi dari penelitian ini sehingga efek untuk membunuh kualita spermatozoa lebih kuat

Hipotesis statistik penelitian ini yaitu:

Ho: Tidak ada *pengaruh*rebusan daun pegegan terhadap kualitas spermatozoa pada mencit (*Mus Musculus L.*) Balb-C

Ha: Ada *pengaruh*rebusan daun pegegan terhadap kualitas spermatozoa pada mencit (*Mus Musculus L.*) Balb-C

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai bahan penelitian..

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Maret 2015 di Laboratorium Biomedika Farmasi, Universitas Jember.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan di kelompokkan menjadi 4 kelompok dengan 6 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan terdiri dari:

- a. Kelompok P0: Kelompok pembanding tanpa perlakuan sebanyak 6 ekor mencit diberi makan dan minum tanpa perlakuan.
- b. Kelompok P1: Kelompok perlakuan sebanyak 6 ekor mencit yang diberi rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan dosis 4,97 ml/ kg bb, makan dan minum.
- c. Kelompok P2: kelompok perlakuan sebanyak 6 ekor mencit yang diberi rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dosis 10 ml/ kg bb, makan dan minum.
- d. Kelompok P3: kelompok perlakuan sebanyak 6 ekor mencit yang diberi daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan dosis 20 ml/ kg bb, makan dan minum.

Kegiatan pengamatan ini dilakukan secara acak dan lengkap serta dilaksanakan sebanyak 6 kali ulangan sesuai dengan rancangan dalam penelitian. Berikut ini tabel rancangan penelitian dalam setiap ulangan.

Tabel 3.1 Rancangan penelitian dalam setiap ulangan

No.	Ulangan	Jenis Perlakuan			
1.	1	P0	P1	P2	P3
2.	2	P0	P1	P2	P3
3.	3	P0	P1	P2	P3
4.	4	P0	P1	P2	P3
5.	5	P0	P1	P2	P3
6.	6	P0	P1	P2	P3

Keterangan:

P0 = Kelompok kontrol

P1 = Kelompok dengan dosis 4,97 ml/ kg bb,

P2 = Kelompok dengan dosis 10 ml/ kg bb

P3 = Kelompok dengan dosis 20 ml/ kg bb

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Variabel bebas : rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan dosis 4,97 ml/ kg bb, 10 ml/ kg bb, dan 20 ml/ kg bb
- Variabel terikat : motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa mencit yang telah diberikan rebusan daun pegagan dengan berbagai dosis.
- Variabel kontrol : jenis hewan uji coba yaitu mencit jantan, jumlah mencit, umur mencit, berat badan mencit, suhu, makanan standar mencit.

3.5 Definisi Operasional

Agar tidak menimbulkan pengertian ganda, maka peneliti memberikan pengertian untuk menjelaskan operasional penelitian sebagai berikut:

- Kualitas adalah keseluruhan ciri dan karakteristik produk yang kemampuannya dapat memuaskan kebutuhan, baik yang dinyatakan secara tegas maupun tersamar.
- Motilitas spermatozoa adalah ukuran gerak spermatozoa yang meliputi tipe pergerakan dan kecepatan gerak spermatozoa.

- c. Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa hidup dalam semen.
- d. Morfologi spermatozoa adalah struktur tubuh terdiri atas kepala yang berisi inti, leher yang menghubungkan antara kepala dan ekor spermatozoa, pada bagian ekor berperan untuk pergerakan.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan coba (bak plastik), tempat makan dan minum mencit, alat dan papan bedah, botol vial, *cover glass*, *obyek glass*, *beaker glass*, *hot plate*, timbangan hewan, kertas label, kertas tisu, mikroskop *overlup*, alat pencekok oral (sonde), timbangan analitik, kaos tangan, mortal dan pistil.

3.6.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah rebusan daun pegagan, aquades steril, pakan mencit berupa pellet (protein 10%, lemak 3 % serat 8% dan kadar air 12%), eosin Y 1%, NaCL 0,9 %.

3.7 Pelaksanaan Penelitian

3.7.1 Pembuatan Rebusan Daun Pegagan

Pembuatan rebusan daun pegagan dalam bentuk basah mencakup tiga dosis yaitu dosis 4,97 ml/ kg bb, 10 ml/ kg bb, dan 20 ml/ kg bb daun pegagan basah terlebih dahulu ditimbang sebanyak 4,875 gram, kemudian dicuci agar kotoran yang menempel pada daun pegagan tersebut hilang. Daun pegagan basah yang telah dicuci kemudian ditumbuk dengan menggunakan mortal dan pistil lalu dimasukkan dalam gelas beaker berukuran 50 ml untuk merebus dengan menggunakan hot plate. Volume yang digunakan untuk merebus daun pegagan basah sebanyak 50 ml hingga mendidih sampai volumenya mencapai 25 ml. Air hasil rebusan ditampung dalam botol vial sedangkan residu dari daun pegagan dibuang.

3.7.2 Persiapan Hewan Coba

Aklimatisasi pada mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C selama 7 hari kemudian menyiapkan tempat pemeliharaan hewan coba meliputi kandang (bak plastik) berbentuk segi empat, serbuk gergaji, tempat makan dan minum mencit. Pemberian perlakuan pada tikus dilakukan dengan menggunakan 24 ekor mencit jantan yang diberikan 4 variasi perlakuan yang berbeda. Masing-masing perlakuan terdiri atas 4 ekor mencit jantan sebanyak 6 kali ulangan.

3.7.3 Persiapan Perlakuan

Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit jantan yang diberikan 4 variasi perlakuan yang berbeda. Masing-masing perlakuan terdiri atas 4 ekor mencit jantan sebanyak 6 kali ulangan. Rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) diberikan secara oral dengan dosis yang ditentukan. Pemberian rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) per oral dengan menggunakan sonde langsung ke lambung melalui kerongkongan setiap hari sekali. Mencit jantan ditimbang terlebih dahulu sebelum diberi perlakuan. Rebusan daun pegagan yang diberikan secara oral dilakukan dengan menyesuaikan volume air hasil rebusan dengan berat badan dari setiap kelompok perlakuan dan dilakukan selama 36 hari berturut-turut.

3.7.4 Kegiatan Penelitian

Pemberian rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) secara oral menggunakan sonde sesuai dengan dosis yang telah dirancang. Rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) diberikan pada mencit sekali setiap hari yaitu pada pagi hari pukul 09.00 WIB-selesai selama 36 hari. Pada saat selesai perlakuan selama 36 hari, mencit didislokasi leher, kemudian dibedah dan diambil kedua cauda epididimisnya untuk diamati motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (10 X 40) dan difoto.

3.7.5 Perhitungan Motilitas Spermatozoa

Kauda epididimis hewan uji dipotong dengan gunting kemudian dimasukkan dalam cawan petri berisi 1 ml larutan NaCl 0,9% sebagai garam fisiologis untuk menjaga spermatozoa agar suhunya mendekati suhu dalam kauda epididimisnya sehingga tidak langsung mati jika berada di luar lingkungan. Kauda epididimis dipotong-potong dengan gunting tajam kemudian diaduk dengan cara pipeting berulang, selanjutnya satu tetes suspensi diletakkan di atas kaca benda lalu ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan terhadap 100 spermatozoa untuk satu hewan uji dihitung spermatozoa yang motil (dalam %) (Taufiq, 2009:5). Semen yang normal menunjukkan 50% spermatozoa motil atau lebih dengan sebagian besar menunjukkan pergerakan baik sampai sangat baik yang tampak motil. Perhitungan persentase motilita spermatozoa.

$$\% \text{ sperma} = \frac{\text{Jumlah sperma kategori PR}}{100} \times 100\%$$

3.7.6 Perhitungan Viabilitas Spermatozoa

Satu tetes eosin Y 1% ditetaskan pada ujung gelas obyek kemudian ditambahkan 1 tetes semen mencit (10 μ l), dihomogenkan lalu ditutup menggunakan kaca penutup. Viabilitas spermatozoa diukur menggunakan pewarna eosin. Spermatozoa hidup yang memiliki membran sel yang utuh tidak akan menyerap eosin sehingga warnanya tetap dan tidak berubah sedangkan spermatozoa mati akan menyerap zat warna eosin karena permeabilitas membrannya meningkat sehingga warnanya berubah menjadi merah. Banyaknya spermatozoa hidup tetapi tidak motil menunjukkan adanya kelainan struktur pada flagel (Nuraini, 2012:12). Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah sperma sampai 100 sel sperma (mati dan hidup). Nilai viabilitas spermatozoa dinyatakan dalam persen (Rezha, 2013:19-20). Persentase viabilitas spermatozoa.

$$\% \text{ sperma} = \frac{\text{Jumlah sperma yang terwarnai eosin}}{100} \times 100\%$$

3.7.7 Perhitungan Morfologi Sperma

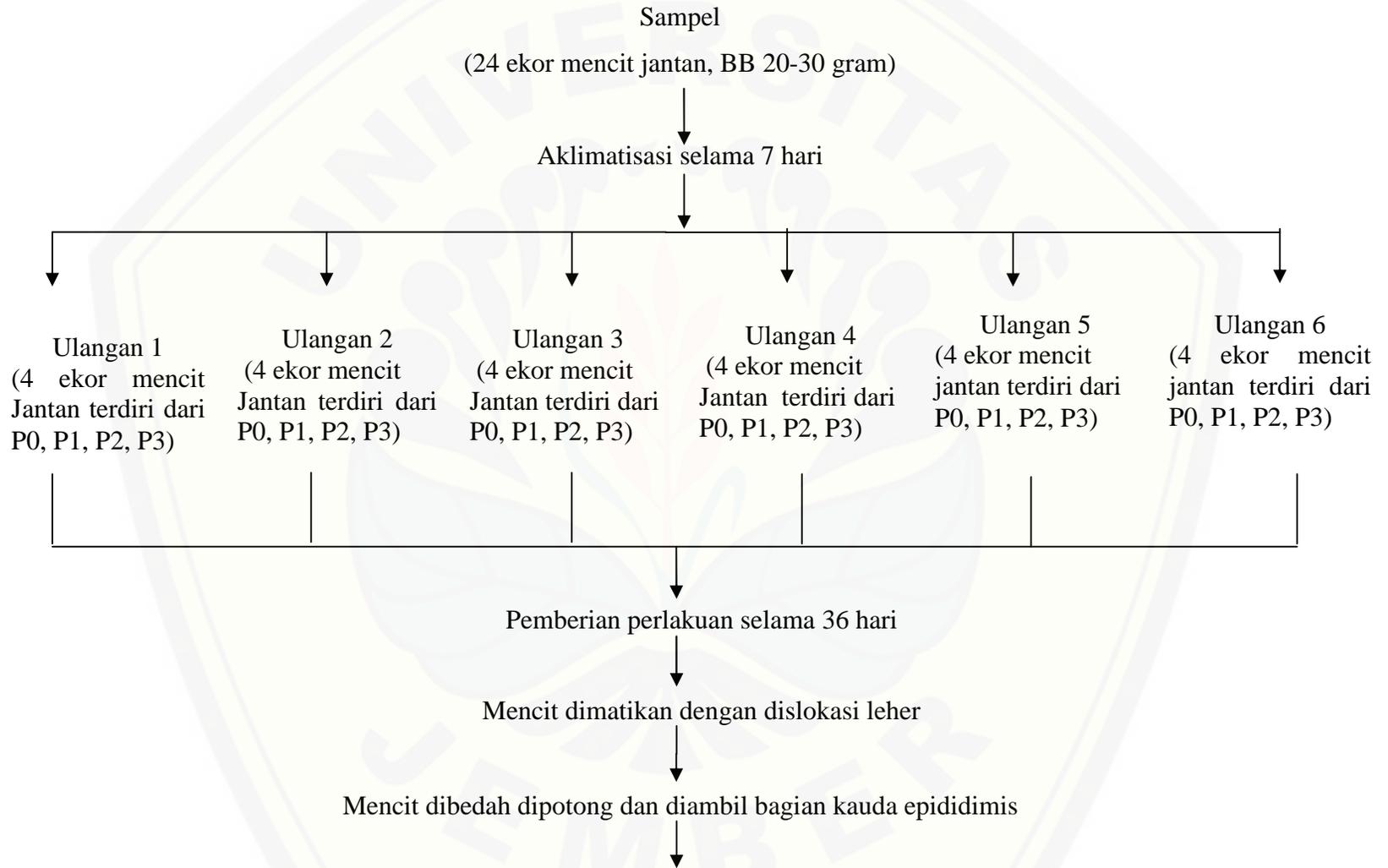
Pemeriksaan morfologi spermatozoa dilakukan dengan membuat suspensi sperma kemudian diwarnai dengan eosin Y 1%, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40. Pengamatan dilakukan dengan membendakan bentuk sperma normal dan abnormal dari setiap 100 sperma yang diamati, hingga diperoleh data bentuk sperma dalam persen. Sperma yang normal, memiliki bagian kepala terkait berbentuk bulan sabit dan bagian ekor panjang tidak bergulung, sedangkan sperma yang abnormal dapat diklasifikasi berdasarkan bentuk kepala dan ekornya. Bentuk sperma abnormal pada mencit dari bentuk kepala seperti kepala ganda, kepala *amorfi*, kepala mikro, kepala bebas tanpa ekor, ekor membentuk sudut, ekor membentuk *loop*, ekor ganda (Rahmi, 2012: 18). Pengamatan ini dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Persentase Morfologi spermatozoa.

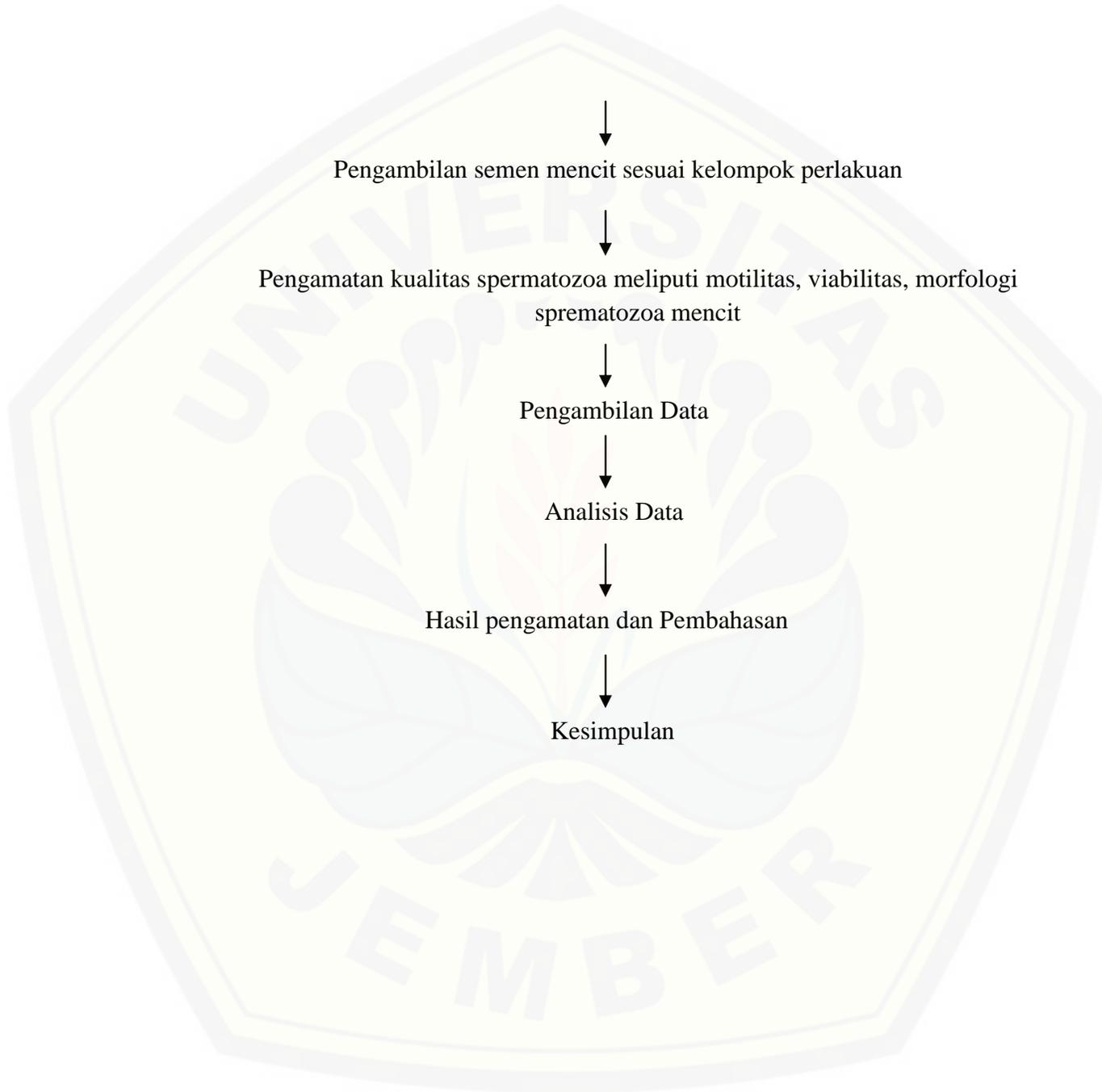
$$\% \text{ sperma} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa normal}}{100} \times 100\%$$

3.8 Analisis Data

Pada penelitian ini data yang diperoleh dari motilitas, viabilitas, dan morfologi spermatozoa dianalisis menggunakan uji Anova *Univariate* untuk menguji pengaruh re busan daun pegagan terhadap kualitas spermatozoa mencit dengan signifikansi 5 %. Dalam uji statistik uji Anova syarat yang harus terpenuhi adalah varian data harus homogen dan data harus terdistribusi normal (Dahlan, 2004: 87). Apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji BNT dengan signifikansi 5%. Semua data dianalisis dengan program SPSS 16.

3.9 Alur Penelitian





BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap kualitas spermatozoa sebagai parameter untuk menentukan pengaruh daun pegagan sebagai alternatif bahan kontrasepsi bagi pria. Kualitas spermatozoa yang diamati meliputi motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa. Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang diberikan pada perlakuan digunakan dalam bentuk sediaan rebusan. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini yaitu kontrol, dosis 4,97 ml/ kg bb, 10 ml/ kg bb, dan 20 ml/ kg bb. Rebusan daun pegagan diberikan kepada mencit secara per oral sesuai dengan dosis masing- masing. Daun pegagan yang diambil yaitu pada helaian ke 4,5 dan 6 karena satu helaian tersusun dalam roset akar dan terdiri dari 2 – 10 helaian daun, pada helaian tersebut daun tergolong tidak terlalu muda ataupun terlalu tua sehingga senyawa yang terkandung dalam daun pegagan masih belum mengalami perombakan yang dilakukan oleh vakuola.

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pengaruh Rebusan Daun Pegagan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa merupakan kualitas gerak spermatozoa yang meliputi tipe pergerakan dan kecepatan gerak spermatozoa. Secara umum spermatozoa terdiri atas kepala yang berisi ini, leher yang menghubungkan anatara kepala dan ekor sedangkan ekor berfungsi untuk pergerakan. Kemampuan spermatozoa mendorong dirinya sendiri maju kemarin karena adanya substansi kontraktile pada bagian tubuh spermatozoa diteruskan ke seluruh bagian ekor. Peningkatan terhadap integritas membran ekor dapat mempengaruhi jalan masuknya kalsium sehingga mengaktifkan aktin dan miosin untuk mendorong terjadinya suatu gerakan. Menurut WHO tahun 2010 kategori motilitas sperma dibagi menjadi tiga yaitu; *Progressive motility* (PR); *Non-Progressive*(NP); *Immotility* (IM): tidak ada pergerakan. Persentase motilitas dihitung dari jumlah kategori PR dari 100 sperma. Berikut ini rerata pengaruh

rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) Balb-C dalam tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rerata pengaruh rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) Balb-C dalam tiap perlakuan

<i>Motility</i>	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>
<i>P0</i>	6	93	2,53
<i>P1</i>	6	82	6,45
<i>P2</i>	6	52,83	19,702
<i>P3</i>	6	37,67	8,214
<i>Total</i>	24	66,38	2,919

Hasil Tabel 4.2 diketahui bahwa rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa mencit pada P0 sebesar $93 \pm 2,53$; P1 sebesar $82 \pm 6,45$; P2 sebesar $52,83 \pm 19,702$; P3 sebesar $37,67 \pm 8,21$. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa P3 mempunyai nilai rerata paling rendah sedangkan P0 memiliki nilai rerata tertinggi. Berdasarkan hasil data tentang motilitas spermatozoa yang telah dianalisis dengan menggunakan *Anova univariate* dapat diamati pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Anava tentang pengaruh rebusan daun pegagan (*Centella asiatica (L.) Urban*) terhadap motilitas spermatozoa

<i>Motility</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	11763,46	3	3921,153	31,143	,000
<i>Within Groups</i>	251,167	20	125,908		
<i>Total</i>	1428,63	23			

df : derajat bebas

F : hasil uji Fisher

P : probabilitas

Hasil data di atas menunjukkan bahwa taraf signifikan yang diperoleh sebesar $p= 0,000$. Nilai ini menunjukkan jika lebih kecil dari α yaitu sebesar 0,05. Hasil ini menunjukkan H_0 ditolak, H_a diterima sehingga diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil yang signifikan ini kemudian dilanjutkan uji BNT. Berikut ini hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji BNT tentang pengaruh rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap motilitas spermatozoa

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P0 (Kelompok kontrol)	93	a
P1 (Dosis 4,97 ml/ kg bb)	82	a
P2 (Dosis 10 ml/ kg bb)	52.83	b
P3 (Dosis 20 ml/ kg bb)	37.67	c

Keterangan:

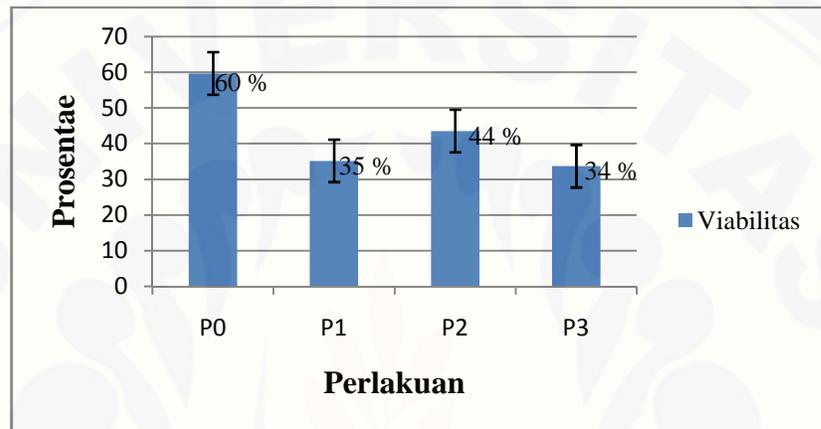
Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil tidak signifikan pada uji BNT dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil dari uji BNT pada Tabel 4.3 menunjukkan adanya perbedaan antara P0 dengan P1 sebesar $p= 0,105$ menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan; sedangkan antara P0 dengan P1 sebesar $p= 0,000$; antara P0 dengan P3 sebesar $p= 0,000$; antara P1 dengan P2 sebesar $p=0,000$; antara P1 dengan P3 sebesar $p= 0,000$; P2 dengan P0 sebesar $p= 0,000$; P2 dengan P1 sebesar $p= 0,000$; antara P2 dengan P3 sebesar $p= 0,030$ menunjukkan ada perbedaan signifikan.

4.1.2 Pengaruh Rebusan Daun Pegagan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan kemampuan spermatozoa hidup dalam semen. Penilaian viabilitas dilakukan dengan prinsip pewarnaan supravital yaitu sel mati memiliki membran sel yang rusak sehingga dapat menyerap zat warna. Pengamatan ini dilakukan dengan cara menghitung jumlah sperma sampai 100 sel sperma (mati dan hidup). Gambar 4.1 dapat dilihat perbandingan viabilitas spermatozoa mencit pada tiap-tiap perlakuan. Sama seperti parameter sebelumnya

terlihat perbedaan nyata pada kelompok P1. Kondisi ini menggambarkan pengaruh rebusan daun pegagan terhadap penurunan viabilitas spermatozoa. Penurunan viabilitas spermatozoa dalam penelitian ini belum menunjukkan pengaruh signifikan namun dari hasil grafik rata-rata viabilitas spermatozoa mencit yang diberi perlakuan selama 36 hari didapatkan 36% mampu menurunkan viabilitas spermatozoa meskipun tidak signifikan.



Gambar 4.1 Grafik Rata-Rata Viabilitas Spermatozoa Mencit yang diberi Perlakuan selama 36 Hari

Hasil pengamatan melalui analisis deskriptif menggunakan SPSS yaitu rerata dari pengaruh pemberian rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap viabilitas spermatozoa diperoleh data pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rerata pengaruh rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C dalam tiap perlakuan

<i>Viability</i>	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>
<i>P0</i>	6	59,67	15,029
<i>P1</i>	6	35,17	26,596
<i>P2</i>	6	43,5	19,927
<i>P3</i>	6	33,67	22,34
<i>Total</i>	24	43	22,56

Hasil Tabel 4.4 diketahui bahwa rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa mencit pada P0 sebesar $59,67 \pm 15,029$; P1 sebesar $35,17 \pm 26,596$; P2 sebesar $43,5 \pm 19,927$; P3 sebesar $33,67 \pm 22,34$. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa P3 mempunyai nilai rerata paling rendah dan P0 memiliki nilai rerata paling tinggi. Berdasarkan hasil data tentang viabilitas spermatozoa yang telah dianalisis dengan menggunakan *Anova Univariate* dapat diamati pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Anava tentang pengaruh rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap viabilitas spermatozoa

<i>Viability</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	2,559,000	3	853,000	1,865	,168
<i>Within Groups</i>	9,147,000	20	457,350		
<i>Total</i>	11,706,000	23			

df : derajat bebas

F : Hasil uji Fisher

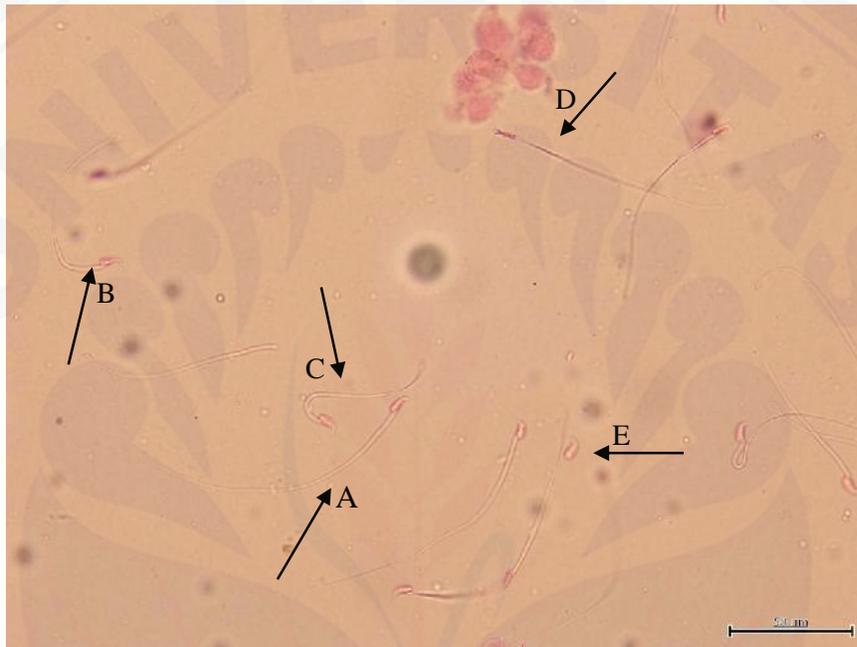
P : probabilitas

Hasil data di atas menunjukkan bahwa taraf signifikan yang diperoleh sebesar $p = 0,168$. Nilai ini lebih besar dari α yaitu sebesar 0,05. Hasil ini menunjukkan bahwa H_0 diterima, H_a ditolak. Artinya, bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

4.1.3 Pengaruh Rebusan Daun Pegagan terhadap Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa secara umum terdiri atas kepala yang berisi inti, leher yang menghubungkan antara kepala dan ekor spermatozoa, pada bagian ekor berperan untuk pergerakan. Penyimpangan morfologi dari spermatozoa normal dianggap sebagai abnormalitas. Abnormalitas primer terjadi selama perkembangan spermatozoa di dalam tubulus seminiferus testis. Abnormalitas primer dikarenakan adanya gangguan spermatogenesis karena menurunnya kadar testosteron sehingga

dapat menurunkan diameter sel Leydig testis, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi karena dapat diduga dari adanya gangguan proses pematangan spermatozoa dalam epididimis (Rahmi, 2012:42). Pengamatan dilakukan dengan membendakan bentuk sperma normal dan abnormal dari setiap 100 sperma yang diamati. Berikut ini foto hasil pengamatan terhadap morfologi spermatozoa antar kelompok perlakuan setelah diberikan rebusan daun pegagan selama 36 hari.



Gambar 4.2 Morfologi Spermatozoa Mencit Normal dan Abnormal

Keterangan: A. Spermatozoa normal; B. Ekor membentuk *loop*; C. ekor melengkung; D. kepala pipih; E. Kepala bebas tanpa ekor

Spermatozoa normal mencit (Gambar 4. 2 A) memiliki kepala dengan ujung menyerupai kait, meruncing dan melengkung pada bagian akrososom serta memiliki ekor panjang dan tidak melingkar. Abnormalitas dapat diklasifikasikan menjadi abnormalitas primer (Gambar 4.2 D, E) dan abnormalitas sekunder (Gambar 4.1 A, B, C). Hasil analisis deskriptif dengan menggunakan SPSS menunjukkan bahwa rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap morfologi spermatozoa mencit dalam tiap perlakuan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Rerata pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C dalam tiap perlakuan

<i>Normal</i>	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>
<i>P0</i>	6	36,17	11,940
<i>P1</i>	6	54,67	3,724
<i>P2</i>	6	65,33	6,947
<i>P3</i>	6	68,83	7,414
<i>Total</i>	24	56,25	15,005

Hasil Tabel 4.6 dapat diketahui bahwa rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit pada P0 sebesar $36,17 \pm 11,940$; P1 sebesar $54,67 \pm 3,724$; P2 sebesar $65,33 \pm 6,947$; P3 sebesar $68,83 \pm 7,414$. Hasil data tersebut dapat dilihat bahwa P3 mempunyai nilai rerata paling tinggi sedangkan P0 memiliki nilai rerata paling rendah. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C. Berdasarkan hasil data tentang morfologi spermatozoa normal yang telah dianalisis dengan menggunakan *Anova Univariate* dapat diamati pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Anava tentang pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C

<i>Normal</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	3880,167	3	1293,389	19,924	,000
<i>Within Groups</i>	1298,333	20	64,917		
<i>Total</i>	5178,5	23			

df: derajat bebas

F : Hasil uji Fisher

p : probabilitas

Hasil data di atas menunjukkan bahwa taraf signifikan yang diperoleh sebesar $p = 0,000$. Nilai ini lebih kecil dari α yaitu sebesar 0,05. Hasil ini menunjukkan bahwa

H₀ ditolak, H_a diterima. Data tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil data yang signifikan ini dilanjutkan dengan uji BNT. Berikut ini hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil Anava tentang pengaruh rebusan daun pegagan terhadap morfologi normal spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) Balb-C

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P0 (Kelompok kontrol)	36.17	a
P1 (Dosis 4,97 ml/ kg bb)	54.67	b
P2 (Dosis 10 ml/ kg bb)	65.33	c
P3 (Dosis 20 ml/ kg bb)	68.83	cd

Keterangan:

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil tidak signifikan pada uji BNT dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji BNT pada Tabel 4.8 menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara P0 dengan P1 sebesar $p= 0,001$; antara P0 dengan P2 sebesar $p= 0,000$; antara P0 dengan P3 sebesar $p= 0,000$; antara P1 dengan P0 sebesar $p= 0,000$; antara P1 dengan P2 sebesar $p= 0,000$; antara P1 dengan P3 sebesar $p= 0,006$; antara P2 dengan P0 sebesar $p= 0,000$; P2 sebesar $p= 0,033$; sedangkan antara P2 dengan P3 sebesar $p= 0,461$ menunjukkan perbedaan tidak signifikan terdapat pada P2 dengan P3 sebesar $p= 0,461$.

4.2 Pembahasan

Kualitas spermatozoa mencit meliputi 3 parameter yaitu motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa. Hasil pemberian rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa sebagai berikut ini.

4.2.1 Pengaruh Rebusan Daun Pegagan terhadap Motilitas Spermatozoa

Menurut WHO tahun 2010 kategori motilitas sperma dibagi menjadi tiga yaitu; *Progressive motility* (PR); *Non-Progressive*(NP); *Immotility* (IM): tidak ada pergerakan atau mati. Berdasarkan uji deskriptif menunjukkan bahwa hasil rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa mencit pada P3 sebesar $37,67 \pm 8,214$ memiliki pengaruh lebih besar daripada P0 sebesar $93 \pm 2,53$, P1 sebesar $82 \pm 6,45$ dan P2 sebesar $52,83 \pm 19,702$. Data tersebut menunjukkan bahwa P3 memberikan pengaruh terhadap motilitas spermatozoa mencit. Setelah uji deskriptif kemudian dilanjutkan uji *Anova Univariate* dengan taraf signifikan 5%. Hasil uji *Anova Univariate* diperoleh nilai bahwa $p = 0,000$, maka H_0 ditolak dan H_a diterima, karena nilai $0,000 < 0,05$, hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan pengaruh rebusan daun pegagan terhadap motilitas spermatozoa dalam menurunkan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) Balb-C. Uji ini kemudian dilanjutkan dengan BNT agar dapat mengetahui letak perbedaan pengaruh antar perlakuan.

Hasilnya yaitu perbandingan antara P0 dengan P1 menunjukkan nilai sebesar $p = 0,105$ yang berarti memiliki pengaruh namun tidak signifikan, hasil yang tidak signifikan ini dapat disebabkan antara P0 dengan P1 rentangnya masih rendah sehingga belum dapat menunjukkan efek yang besar dalam menurunkan motilitas spermatozoa, sedangkan antara P2 dengan P3 menunjukkan nilai p sebesar $0,030$; antara P0 dengan P2 sebesar $p = 0,000$; dan antara P0 dengan P3 sebesar $p = 0,000$ berpengaruh secara signifikan setidaknya terdapat 84% mampu menurunkan motilitas spermatozoa mencit. Persentase motilitas dihitung dari jumlah kategori PR dari 100 sperma.

Hasil yang signifikan seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan disebabkan oleh kandungan senyawa yang ada di dalam daun pegagan. Dosis yang tinggi menyebabkan kandungan senyawa *triterpenoid glicosida* di dalam larutan juga tinggi sehingga efeknya lebih besar dalam menurunkan motilitas spermatozoa mencit. Senyawa aktif dalam daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang lebih maksimal yaitu *triterpenoid glicosida* memiliki struktur dasar yang juga dimiliki oleh steroid. Steroid dapat berperan sebagai penghambat spermatogenesis dan bersifat reversibel (Wirida, 2009:6-7). Ada juga senyawa lainnya yaitu alkaloid yang bekerja pada proses transportasi dapat menguap pada suhu kamar sehingga menyebabkan penggumpalan sperma, ketika sperma sudah menggumpal, motilitas sperma menjadi rendah, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur untuk melakukan pembuahan (LIPI, 2009). Terhambatnya proses spermatogenesis disebabkan oleh terganggunya pada sekresi FSH dan LH menyebabkan proses pembelahan dan pematangan sel spermatogenik menjadi terhambat (Turner, 1988). Kedua hormon ini memegang peran utama dalam mengatur fungsi seksual jantan. FSH yang dihasilkan oleh Sel Sertoli kemudian dibawa melalui darah menuju testis untuk mengawali proses proliferasi spermatogonesis, selanjutnya LH yang dihasilkan oleh Sel Leydig akan mensekresikan testosteron untuk menyelesaikan proses pematangan dan pembentukan spermatozoa (Partodiharjo, 1980). Gangguan pada proses sekresi FSH dan LH menyebabkan proses pembelahan dan pematangan sel spermatogenik menjadi terhambat. Hormon LH yang dilepaskan oleh hipofisis akan terikat pada reseptornya di sel-sel interstisial (leydig) pada testis, setelah terjadi ikatan antara LH dan reseptornya akan terbentuk pesan kedua yang berupa cAMP. Terbentuknya cAMP mengaktifkan protein kinase yang akan mempengaruhi inti sel agar gen yang mengatur biosintesis testosteron menjadi aktif dan akan dimulai sintesis protein. Biosintesis testosteron melibatkan berbagai zat, enzim, dan hormon steroid lainnya. Hadirnya triterpenoid glikosida, menyebabkan pengaktifan protein kinase jadi terhambat sehingga menyebabkan hormon testosteron dan proses spermatogenesis terhambat

Cara kerja testosteron menghambat sekresi LH dengan bekerja secara langsung pada hipofisis anterior dan dengan menghambat sekresi GnRH dari hipotalamus. Inhibin bekerja secara langsung pada hipofisis anterior untuk menghambat sekresi FSH, sebagai respon terhadap LH, sebagian testosteron yang disekresikan dari sel Leydig membasahi epitel seminiferus dan memberikan sel Sertoli konsentrasi lokal androgen yang tinggi yang penting untuk spermatogenesis normal. Testosteron diberikan secara sistemis tidak meningkatkan kadar androgen di testis sampai setinggi itu, dan hal ini menghambat sekresi LH. Akibatnya, efek akhir testosteron yang diberikan sistemik secara umum adalah penurunan kualitas sperma (Ganong,1998).

Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat menyebabkan perubahan struktur histologis testis dengan karakteristik kerusakan berupa edema dan penurunan spermatogenesis (Refangga. 2013:8). Penelitian selanjutnya yang telah dilakukan oleh Nuraini (2012) menunjukkan bahwa hasil fraksi kromatografi benzena dari ekstrak kloroform senyawa *triterpenoid glicosida* pada biji pepaya menunjukkan keberhasilan kontrasepsi tanpa toksisitas yang merugikan melalui penghambatan motilitas sperma.

4.2.2 Pengaruh Rebusan Daun Pegagan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas merupakan parameter yang menunjukkan persentase jumlah spermatozoa yang viabel dari 100 sperma menggunakan eosin sebagai pewarna, yang akan terlihat bila sperma hidup (viabel) di tandai dengan kepala transparan sedangkan yang mati kepalanya berwarna merah atau lebih gelap. Hasil analisis deskriptif bahwa rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa mencit pada P3 yaitu $33,67 \pm 22,34$ memiliki pengaruh lebih besar daripada P1 yaitu $35,17 \pm 26,596$, begitu juga dengan P2 yaitu $43,5 \pm 19,927$ dan P0 yaitu $59,67 \pm 15,029$. Data tersebut menunjukkan bahwa P3 memberikan pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa mencit, setelah uji deskriptif kemudian dilanjutkan uji *Anova Univariate* dengan taraf signifikan 5%.

Hasil uji Anova *Univariate* diperoleh nilai bahwa $p=0,168$, berarti hasil uji Anova *Univariate* menunjukkan H_0 diterima dan H_a ditolak. Artinya, dari hasil uji Anova *Univariate* ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh secara signifikan pemberian rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa pada mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C. Ditinjau dari hasil persentase bahwa pengaruh rebusan daun pegagan terhadap viabilitas spermatozoa hanya mampu menurunkan 34% viabilitas spermatozoa mencit. Ada beberapa hal yang membuat hasil interpretasi dari uji Anova *Univariate* ini tidak signifikan yaitu: ketahanan spermatozoa yang hampir sama meskipun memiliki kecepatan gerak yang berbeda, variasi dosis kurang tinggi sehingga tidak menunjukkan hasil yang signifikan, permeabilitas membran pada kepala spermatozoa yang memiliki tingkat viabilitas yang hampir sama sehingga memungkinkan data yang diperoleh hampir seragam.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Wardoyo (1990: 53) menunjukkan bahwa senyawa *triterpenoid glicosida* pada ekstrak buah Pare dapat mempengaruhi viabilitas dan morfologi spermatozoa tikus percobaan. Semakin tinggi kadar ekstrak buah Pare dan semakin lama pemberiannya, viabilitas spermatozoa semakin rendah. Hal ini disebabkan oleh bahan aktif golongan *triterpenoid glicosida* yang terkandung dalam buah Pare.

4.2.3 Pengaruh Rebusan Daun Pegagan terhadap Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa salah satu parameter yang menentukan kualitas spermatozoa. Spermatozoa yang abnormal dapat mempengaruhi kemampuan sperma dalam bergerak. Persentase morfologi spermatozoa dihitung dari jumlah sperma normal dari 100 sel sperma yang dihitung. Morfologi spermatozoa mencit normal adalah kepala berbentuk 'kait' dengan ukuran normal, ekor panjang tidak melingkar ataupun ganda. Hasil pengamatan morfologi spermatozoa menunjukkan adanya abnormalitas primer pada morfologi spermatozoa mencit seperti kepala pipih dan kepala ganda. Abnormalitas sekunder yang ditemukan yaitu kepala tanpa ekor, ekor menggulung, leher melengkung, ekor membentuk *loop*, leher menggulung.

Hasil analisis deskriptif dari rerata pengaruh pemberian rebusan daun pegagan terhadap morfologi spermatozoa mencit secara berturut-turut yaitu P0 sebesar $36,17 \pm 11,940$, diikuti P1 sebesar $54,67 \pm 3,724$, begitu juga dengan P2 sebesar $65,33 \pm 6,947$ dan P3 sebesar $68,83 \pm 7,414$. Hasil data tersebut dapat dilihat bahwa P3 mempunyai nilai paling tinggi daripada P0, sehingga P3 memberikan pengaruh terhadap kualitas morfologi spermatozoa mencit, setelah uji deskriptif kemudian dilanjutkan ke uji *Anova Univariate*. Berdasarkan hasil uji *Anova Univariate* dengan taraf signifikan 5%, diperoleh nilai $p = 0,000$, maka H_0 ditolak, H_a diterima. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh secara signifikan pemberian rebusan daun pegagan terhadap morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) Balb-C.

Uji ini kemudian dilanjutkan dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) agar dapat mengetahui letak perbedaan pengaruh tersebut. Hasilnya yaitu terletak pada perbedaan antara P2 dengan P3 sebesar $p = 0,461$ yang memiliki pengaruh terhadap morfologi spermatozoa mencit namun secara tidak signifikan. Hasil ini berpengaruh tidak signifikan karena P2 merupakan dosis tengah pada penelitian ini dan kurang tingginya dosis yang diberikan, sehingga belum bisa menunjukkan efek yang besar dalam menurunkan morfologi spermatozoa, sedangkan antara P0 dengan P1 sebesar $p = 0,001$; antara P1 dengan P2 sebesar $p = 0,033$; antara P1 dengan P3 sebesar $p = 0,006$, hasil ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian rebusan daun pegagan morfologi spermatozoa mencit secara signifikan. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan rebusan daun pegagan morfologi spermatozoa mencit sebesar 72%. Hasil signifikan ini dipengaruhi karena dipengaruhi oleh zat *triterpenoid glicosida* yang terdapat pada daun pegagan sehingga dapat mengganggu dalam proses meosis, faktor lain disebabkan karena pada proses spermiogenesis awal sudah mengalami gangguan. Terganggunya proses spermiogenesis awal, maka untuk proses setelahnya juga akan mengalami gangguan. Penyebab menurunnya kualitas morfologi spermatozoa juga bisa disebabkan karena terganggunya transpor senyawa dan ion yang dibutuhkan bagi kehidupan spermatozoa akibat abnormalitas spermatozoa.

Hal ini didukung dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wardjojo (1990: 102) bahwa senyawa *triterpenoid glicosida* dari pemberian ekstrak buah Pare 500 mg/kgbb/hari selama 14 hari ternyata dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa yaitu, terjadinya aglutinasi antar kepala, gerak di tempat dan gerak melingkar. Gerak melingkar dapat disebabkan karena kelainan morfologi, penghantaran energi rotasi tidak ada atau tidak teratur dan keadaan ekor asimetris. Selanjutnya bila diberikan selama 49 hari, didapatkan morfologi spermatozoa menjadi abnormal. Abnormalitas tersebut nampak di bagian leher spermatozoa menggelembung (bengkak). Hal tersebut diduga disebabkan membengkaknya mitokondria. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Dixit, *et al.* (1978) menyimpulkan, bahwa efek ekstrak buah Pare menekan fungsi testis dalam memproduksi spermatozoa, pada dosis 1,75 gram/hari/ekor selama 20 hari, didapatkan 18% tubulus seminiferus tidak ditemukan adanya spermatosit primer dan mengandung 38% spermatid abnormal.

Demikianlah pembahasan mengenai pengaruh rebusan daun pegagan terhadap kualitas spermatozoa mencit, 84% mampu menurunkan motilitas sperma, 36% menurunkan viabilitas sperma dan 72% menurunkan morfologi sperma mencit.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ada pengaruh rebusan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Balb-C meliputi:
 - Berpengaruh signifikan terhadap motilitas spermatozoa sebesar 84%
 - Berpengaruh tidak signifikan terhadap viabilitas spermatozoa sebesar 36%
 - Berpengaruh signifikan terhadap morfologi spermatozoa sebesar 72%
- b. Dosis yang memiliki pengaruh signifikan menurunkan kualitas spermatozoa adalah 20 ml/ kg bb yaitu mampu menurunkan motilitas spermatozoa dan morfologi spermatozoa.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan pada penelitian ini adalah:

- a. Perlu dilakukan penelitian yang sejenis namun dengan dosis yang lebih tinggi lagi agar dapat dilakukan suatu perbandingan antara dosis tertinggi pada penelitian ini dengan dosis tertinggi pada penelitian berikutnya
- b. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba yang lebih besar yaitu tikus, untuk mendapat volume sperma yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsetyo dan Nurlita. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) selama Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 1 (1): 23
- Badan Pusat Statistik. 2012. Persentase Penduduk Menurut Provinsi dan Jenis Kelamin Tahun 2009-2011 [Internet]. [diunduh 30 Agustus 2014]. Tersedia pada: http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php.kata=1 & tabel=1 & daftar = 1 & id_subyek=40¬abel=1
- Campbell, N.A, Reece and Mitchell. 2004. *Biologi*. Terjemahan dari *Biology*, oleh W. Manalu. Penerbit Erlangga, Jakarta: xxi +501 hlm.
- Dahlan, M dan Sopiudin. 2004. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: PT. Arkans
- Dixit VP, Kimna P, Bhargava SK. 1978. Effects of *Momordica charantia L.* Fruit extract on the Testicular Function of Dog. *J. Med. Plant Res.* (1) 34 -280.
- Roro, Eko. 2012. Jumlah Sel Spermiogenesis Tikus Putih yang Diberi Tanin Daun Beluntas (*Pluchea indica*) sebagai Sumber Belajar. *Jurnal Jurusan Biologi*.
- Ermayanti dan Ariani. 2005. Pengaruh Infus Kayu Amargo (*Quassia amara* Linn) Terhadap Testosteron Mencit (*Mus musculus L.*) dan Reversibilitasnya. *Jurnal Biologi IX* (2) : 62-66.
- Fitriyah. 2009. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L) Urban) terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (Mus musculus)*. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim: Malang.
- Ganong, MD, Wiliam F. 1998. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 17*. Alih Bahasa: M. Djauhari Widjajakusuma. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Guyton. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian III*. Alih Bahasa: Ken Ariatata Tengadi. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran

- Ganong, W.F. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. histologis testis dan kualitas sperma mencit. *Sains Malaysiana*. 33 (2): 97- 103.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., dan Kelley, R.O.1995. *Histologi Dasar*. Alih bahasa oleh Jan Tambayong. 1997. Edisi VIII. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- LIPI, 2009. UPT – *Balai Informasi Teknologi LIPI Pangan & Kesehatan*. http://www.bit.lipi.go.id/pangankesehatan/documents/artikel_hipertensi/tanaman_obat.pdf. Diunduh 17 Desember 2014.
- Nur, A. 2010. *Potensi Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) Dosis Tinggi Sebagai Antifertilitas Pada Mencit (Mus musculus) Betina*. <http://lib.uinmalang.ac.id/files/thesis/fullchapter/06530068.pdf> Diunduh pada 17 September 2014
- Nuraini, T. 2012. Penyuntikan Ekstrak Biji *Carica Papaya L.* Varietas Cibinong Pada *Macaca fascicularis L.* dan Kualitas Spermatozoa serta Kadar Hormon Testosteron. *Jurnal Makara, Kesehatan*, 16 (1): 9-16 9
- Partodiharjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara
- Prasetyo. 2011. *Pengaruh Rasio Biji Teh /Pelarut Air dan Temperatur pada Ekstraksi Saponin Biji Teh Secara Batch*. <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=67223&val=3913> Diunduh pada 24 November 2014
- Rahmi, N. 2012. *Pengaruh Pemberian Jus Buah Jambu Biji (Psidium guajava) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa Mencit Jantan yang telah Diinduksi Asap Rokok*. Fakultas Farmasi: Universitas Jember
- Ratna, V. 2011. *Pengaruh Pemberian Infus Simplisia Rosella (Hibiscus sabdariffa) Secara Oral terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus musculus) Jantan Galur DDY*. Departemen Biologi: Universitas Indonesia
- Refangga, I. 2013. *Gambaran Histologis Sel Spermatogenik pada Tikus setelah Pemberian Ekstrak Pegagan (Centella asiatica)*. http://repository.ipb.ac.id/xmlui/bitstream/handle/123656789/66769/B13ire_AFF.pdf?sequence=1 Diunduh pada 3 September 2014
- Rezha. 2013. *Pengaruh Vitamin E terhadap Kualitas Sperma Tikus Putih yang Dipapar Timbal*. Universitas Negeri Semarang: Semarang

- Rugh, R.1968. *The Mouse: Its reproduction and developmental*. Burgess Publishing Company, Minneapolis: iv + 430 hlmn.
- Taufiq, F. 2009. Hubungan Antara Jumlah Leukosit Dengan Motilitas Sperma Pada Hasil Analisa Sperma Pasien Infertilitas Di RSUP DR Kariadi Semarang. *Laporan Akhir Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*
- Turner, Donnel dan Bagnara, Joseph. 1988. *Endokrinologi Umum Edisi Keenam*. Airlangga Widya.
- Wardojo BPE. 1990. *Pengaruh Fraksi Kloroform dan Air Buah Pare terhadap Spermatozoa Epididimis Tikus*. Thesis Fak. Pascasarjana UGM, 53–102.
- WHO (World Health Organization) 2010. *Examination and Processing of Human Semen Fifth Edition*. WHO Library.
- Wirda, I. 2009. *Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica) terhadap Spermatogenesis Mencit (Mus musculus)*. <http://lib.uinmalang.ac.id/files/thesis/fullchapter/05520023.pdf>. (Diunduh pada 28 Agustus 2014)

MATRIKS PENELITIAN

JUDUL	RUMUSAN MASALAH	SUMBER DATA	INDIKATOR	METODE PENELITIAN
<p>PENGARUH REBUSAN DAUN PEGAGAN (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (<i>Mus musculus</i>) Balb-C</p>	<p>a. Bagaimanakah pengaruh yang ditimbulkan dari rebusan daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) terhadap kualitas spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C ?</p> <p>b. Pada dosis rebusan daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) berapakah berpengaruh signifikan untuk menurunkan kualitas spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C?</p>	<p>1. Sampel : Mencit jantan yang fertil sebanyak 24 ekor dengan berat badan rata-rata 20-30 gram, berumur 2-3 bulan.</p> <p>2. Pengamatan langsung setelah diberikan perlakuan meliputi : : pengamatan terhadap motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa mencit (<i>Mus musculus</i>) Balb-C</p> <p>3. Hasil : a. Perhitungan pengamatan motilitas spermatozoa b. Perhitungan viabilitas spermatozoa c. Pengamatan morfologi spermatozoa mencit</p>	<p>a. Spermatozoa pergerakan normal bila 60% atau lebih spermatozoa yang tampak sebaliknya spermatozoa disebut Astenis bila dilakukan terhadap 100 sperma untuk tiap ekor mencit yang telah dipotong bagian kanan dan kiri <i>cauda</i> epididimisnya, sedangkn hasilnya dalam persentase</p> <p>b. Spermatozoa hidup yang tidak akan menyerap eosin sehingga warnanya tetap dan tidak berubah sedangkan spermatozoa mati akan menyerap zat warna eosin. Perhitungan dilakukan terhadap 100 ekor</p>	<p>1. Jenis Penelitian Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan daun pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) sebagai tumbuhan uji.</p> <p>2. Tempat dan Waktu Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Maret 2015 di Laboratorium Biomedika Farmasi.</p> <p>3. Rancangan Penelitian Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan di kelompokkan menjadi 4 kelompok dengan 6 kali ulangan.</p> <p>4. Metode analisis data yang digunakan adalah hasil perhitungan pengamatan terhadap motilitas dan viabilita spermatozoa mencit dengan menggunakan analisis <i>Anova Univariate</i>, jika hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf signifikan. Persentase perubahan</p>

JUDUL	RUMUSAN MASALAH	SUMBER DATA	INDIKATOR	METODE PENELITIAN
			<p>spermatozoa.</p> <p>c. Sperma yang normal, memiliki bagian kepala terkait berbentuk bulan sabit dan bagian ekor panjang tidak bergulung, sedangkan sperma yang abnormal dapat diklasifikasi berdasarkan bentuk kepala dan ekornya.</p>	<p>ditentukan dengan membandingkan perubahan motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa pada kelompok perlakuan dengan kontrol.</p>

LAMPIRAN B. Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis (spesies) Hewan Uji Menurut Laurence & Bacharah, 1984

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmut 400 gr	Kelinci 1,5 gr	Mencit 4 kg	Kera 20 gr	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1,0	7,0	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 gr	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 gr	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,12	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

LAMPIRAN C: Perhitungan Penentuan Dosis Mencit

Dosis daun pegagan yang biasa dikonsumsi oleh manusia adalah 15 gr

Jadi, dari dosis manusia 15 gr /70kg BB dikonversikan dalam 20 gr mencit yaitu

$$0,0026 \text{ adalah } 15 \text{ gr} \times 0,0026 = 0,039 \text{ gr}/20 \text{ gr BB}$$

- Berat badan mencit 1 gram disonde sebanyak 0,01 ml
- Berarti berat badan 20 gr mencit disonde sebanyak $20 \text{ gr} \times 0,01 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$

Jadi, $0,039 \sim 0,2 \text{ ml}$

1. Dasar Penentuan Dosis

$$\frac{0,039 \text{ gr}}{20 \text{ gr}} = \frac{X}{1000 \text{ gr}}$$

$$X = 1,95 \text{ gr/kg BB}$$

Jadi, rentangan dosis yang dibuat adalah 0,97 gr/kg BB, 1,95 gr/kg BB, 3,9 gr/kg BB

2. Perhitungan Dosis 0,97 gr/kg bb dalam rebusan

$$\frac{0,039 \text{ gr}}{0,97 \text{ gr}} = \frac{0,2 \text{ ml}}{X}$$

$$0,039 X = 0,194$$

$$X = 4,97 \text{ ml/ kg bb}$$

Volume yang disondekan:

$$\text{Misal BB} = 25 \text{ gr maka ;}$$

$$\frac{0,97 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} = \frac{X}{25}$$

$$1000 X = 24,25$$

$$1000 X = 24,25$$

$$X = 0,02 \text{ gr}$$

Jadi, **0,97 gr = 0,02 gr**

$$\begin{aligned}
 4,97 \text{ ml} & \quad \mathbf{X} \\
 4,97 \text{ X} & = 0,099 \\
 \text{X} & = 0,1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

3. Perhitungan Dosis 1,95 gr/kg bb

$$\begin{aligned}
 \frac{0,039 \text{ gr}}{1,97 \text{ gr}} & = \frac{0,2 \text{ ml}}{\text{X}} \\
 \text{X} & = 0,394/0,039 = 10 \text{ ml/ kg bb}
 \end{aligned}$$

Volume yang disondekan:

$$\text{Misal BB} = 25 \text{ gr maka ;}$$

$$\begin{aligned}
 \frac{0,039 \text{ gr}}{1000\text{gr}} & = \frac{\text{X}}{25} \\
 \text{X} & = 0,049
 \end{aligned}$$

Jadi, **1,97 gr = 0,049 gr**

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ml} & \quad \mathbf{X} \\
 \text{X} & = 0,25 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

4. Perhitungan Dosis 3,9 gr/kg bb

$$\begin{aligned}
 \frac{0,039 \text{ gr}}{3,9\text{gr}} & = \frac{0,2 \text{ ml}}{\text{X}} \\
 0,039 \text{ X} & = 0,78 \\
 \text{X} & = 20 \text{ ml/ kg bb}
 \end{aligned}$$

Volume yang disondekan:

$$\text{Misal BB} = 25 \text{ gr maka ;}$$

$$\frac{3,9 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} = \frac{X}{25}$$

$$X = 97,5/1000$$

$$X = 0,09 \text{ gr}$$

Jadi, **3,9 gr** = **0,09 gr**

$$\frac{20 \text{ ml}}{X} = \frac{1,8}{3,9}$$

$$X = 0,46 \text{ m}$$

5. Pembuatan Volume Rebusan

Rumus= jumlah mencit setiap perlakuan x volume pemberian x lama perlakuan x banyak pemberian minuman

= 4 x 0,2 x 7x 1 = 4,8 diberikan 50 ml aquades sampai mendidih hingga volumenya pekat menjadi 25 ml.

Jadi, total daun yang akan direbus adalah :

$$\frac{0,2\text{ml}}{25 \text{ ml}} = \frac{0,039 \text{ gr}}{X}$$

$$X = 4,875 \text{ gram}$$

LAMPIRAN D. PERHITUNGAN JUMLAH ULANGAN MINIMAL

$$(t-1)(r-1) = 15$$

Ket: t = jumlah kelompok perlakuan

R = jumlah ulangan

Perhitungan : $(4-1)(r-1) = 15$

$$3 \times (r-1) = 15$$

$$r-1 = \frac{15}{3}$$

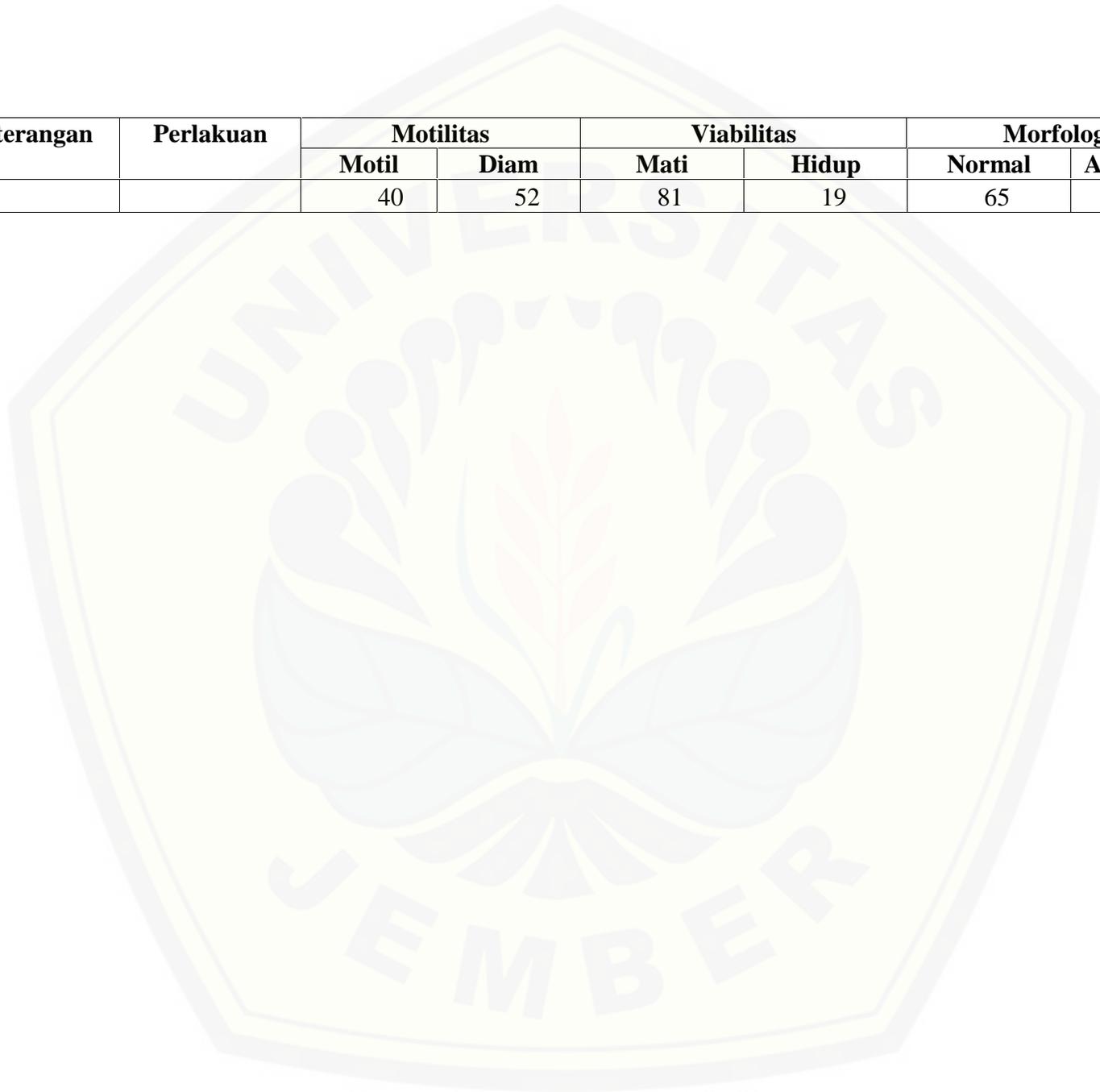
$$r = 5+1$$

$$r = 6$$

LAMPIRAN E. TABEL HASIL PENGAMATAN

Keterangan	Perlakuan	Motilitas		Viabilitas		Morfologi	
		Motil	Diam	Mati	Hidup	Normal	Abnormal
Kontrol	K0	96	4	54	56	38	62
		90	2	11	89	33	67
		93	3	51	46	43	57
		90	51	43	57	55	45
		95	82	42	58	25	75
		94	21	48	52	23	77
Dosis 4,97 ml/ kg bb	K1	70	26	35	15	55	45
		83	11	81	19	53	47
		80	58	38	41	61	39
		87	90	59	80	56	44
		87	22	72	9	50	50
		85	62	47	47	53	47
Dosis 10 ml/ kg bb	K2	91	5	80	20	53	47
		35	9	25	75	63	37
		43	65	65	35	68	32
		45	11	63	28	71	29
		50	57	48	52	72	28
		53	80	49	51	65	35
20 ml/ kg bb	K3	48	3	89	11	65	35
		33	74	33	67	66	34
		34	15	70	30	62	38
		26	17	74	20	73	27
		45	89	45	55	82	18

Keterangan	Perlakuan	Motilitas		Viabilitas		Morfologi	
		Motil	Diam	Mati	Hidup	Normal	Abnormal
		40	52	81	19	65	35



LAMPIRAN F. HASIL ANALISIS DATA
MOTILITAS SPERMATOZOA

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
motilitas	P0	.215	6	.200*	.894	6	.342
	P1	.228	6	.200*	.822	6	.091
	P2	.330	6	.040	.794	6	.052
	P3	.172	6	.200*	.965	6	.858

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptives								
Motil								
		95% Confidence Interval for Mean						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
P0	6	93.00	2.530	1.033	90.35	95.65	90	96
P1	6	82.00	6.450	2.633	75.23	88.77	70	87
P2	6	52.83	19.702	8.043	32.16	73.51	35	91
P3	6	37.67	8.214	3.353	29.05	46.29	26	48
Total	24	66.38	24.919	5.087	55.85	76.90	26	96

ANOVA					
Motil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11763.458	3	3921.153	31.143	.000
Within Groups	2518.167	20	125.908		
Total	14281.625	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Motil
LSD

(I) P	(J) P	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	11.000	6.478	.105	-2.51	24.51
	P2	40.167*	6.478	.000	26.65	53.68
	P3	55.333*	6.478	.000	41.82	68.85
P1	P0	-11.000	6.478	.105	-24.51	2.51
	P2	29.167*	6.478	.000	15.65	42.68
	P3	44.333*	6.478	.000	30.82	57.85
P2	P0	-40.167*	6.478	.000	-53.68	-26.65
	P1	-29.167*	6.478	.000	-42.68	-15.65
	P3	15.167*	6.478	.030	1.65	28.68
P3	P0	-55.333*	6.478	.000	-68.85	-41.82
	P1	-44.333*	6.478	.000	-57.85	-30.82
	P2	-15.167*	6.478	.030	-28.68	-1.65

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN G**Viabilitas Spermatozoa**

Tests of Normality							
perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
viabilitas	P0	.377	6	.008	.766	6	.029
	P1	.228	6	.200*	.905	6	.404
	P2	.168	6	.200*	.954	6	.769
	P3	.232	6	.200*	.885	6	.293

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptives

viabilitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	59.67	15.029	6.136	43.89	75.44	46	89
P1	6	35.17	26.596	10.858	7.26	63.08	9	80
P2	6	43.50	19.927	8.135	22.59	64.41	20	75
P3	6	33.67	22.340	9.120	10.22	57.11	11	67
Total	24	43.00	22.560	4.605	33.47	52.53	9	89

Test of Homogeneity of Variances			
viabilitas			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.083	3	20	.379

ANOVA					
viabilitas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2559.000	3	853.000	1.865	.168
Within Groups	9147.000	20	457.350		
Total	11706.000	23			

LAMPIRAN H

Morfologi Spermatozoa Normal

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
normal	P0	.158	6	.200*	.953	6	.768
	P1	.193	6	.200*	.944	6	.694
	P2	.202	6	.200*	.899	6	.366
	P3	.315	6	.063	.840	6	.130

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptives

normal								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
P0	6	36.17	11.940	4.875	23.64	48.70	23	55
P1	6	54.67	3.724	1.520	50.76	58.57	50	61
P2	6	65.33	6.947	2.836	58.04	72.62	53	72
P3	6	68.83	7.414	3.027	61.05	76.61	62	82
Total	24	56.25	15.005	3.063	49.91	62.59	23	82

Test of Homogeneity of Variances

normal			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.164	3	20	.124

ANOVA					
normal					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3880.167	3	1293.389	19.924	.000
Within Groups	1298.333	20	64.917		
Total	5178.500	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

normal						
LSD						
(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
perlakuan	perlakuan				Lower Bound	Upper Bound
P0	P1	-18.500*	4.652	.001	-28.20	-8.80
	P2	-29.167*	4.652	.000	-38.87	-19.46
	P3	-32.667*	4.652	.000	-42.37	-22.96
P1	P0	18.500*	4.652	.001	8.80	28.20
	P2	-10.667*	4.652	.033	-20.37	-.96
	P3	-14.167*	4.652	.006	-23.87	-4.46
P2	P0	29.167*	4.652	.000	19.46	38.87
	P1	10.667*	4.652	.033	.96	20.37
	P3	-3.500	4.652	.461	-13.20	6.20
P3	P0	32.667*	4.652	.000	22.96	42.37
	P1	14.167*	4.652	.006	4.46	23.87
	P2	3.500	4.652	.461	-6.20	13.20

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN I

Lembar Konsultasi Penyusunan Skripsi Dosen Pembimbing 1



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121

Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475

Laman: www.fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI
Pembimbing I

Nama : Faridlotul Ma'rifah
NIM/Angkatan : 110210103002/2011
Jurusan/Pogram Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*)
Dosen Pembimbing I : Prof. Dr. Joko Waluyo M.Si

Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	Selasa, 5 Agustus 2014	Pengajuan Judul	
2.	Kamis, 7 Agustus 2014	ACC Judul	
3.	Senin, 6 Oktober 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
4.	Senin, 13 Oktober 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
5.	Kamis, 23 Oktober 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
6.	Senin, 22 Desember 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
7.	Jum'at, 6 Januari 2015	Acc Seminar Proposal Skripsi	
8.	Jum'at, 20 Januari 2015	Seminar Proposal Skripsi	
9.	Jum'at, 27 Maret 2015	Konsultasi Bab 4 dan 5	
10.	Kamis, 23 April 2015	Konsultasi dan Revisi Bab 4 dan 5	
11.	Selasa, 28 April 2015	Konsultasi dan Revisi Bab 4 dan 5	
12.	Selasa, 5 Mei 2015	ACC Ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi.
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi.

Lembar Konsultasi Penyusunan Skripsi Dosen Pembimbing 2



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121

Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475

Laman: www.fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI

Pembimbing II

Nama : Faridlotul Ma'rifah
 NIM/Angkatan : 110210103002/2011
 Jurusan/Pogram Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
 Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*)
 Dosen Pembimbing II : Bevo Wahono, S.Pd.,M.Pd

Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	Selasa, 5 Agustus 2014	Pengajuan Judul	
2.	Kamis, 7 Agustus 2014	ACC Judul	
3.	Senin, 6 Oktober 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
4.	Senin, 13 Oktober 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
5.	Kamis, 23 Oktober 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
6.	Senin, 22 Desember 2014	Konsultasi bab 1, 2, dan 3	
7.	Jum'at, 6 Januari 2015	Acc Seminar Proposal Skripsi	
8.	Jum'at, 20 Januari 2015	Seminar Proposal Skripsi	
9.	Kamis, 2 April 2015	Konsultasi Bab 4 dan 5	
10.	Selasa, 28 April 2015	Konsultasi dan Revisi Bab 4 dan 5	
11.	Selasa, 5 Mei 2015	Konsultasi dan Revisi Bab 4 dan 5	
12.	Kamis, 7 Mei 2015	Konsultasi dan Revisi Bab 4 dan 5	
13.	Juma'at, 8 Mei 2015	ACC Ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi.
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi.

LAMPIRAN J. Foto Penelitian



Foto J.1 Kandang pemeliharaan mencit (*Mus musculus*) Balab-C



Foto J.2 Pemberian Rebusan Daun Pegagan Secara Oral



Foto J.3 Proses Pembedahan dan pengambilan kauda epididimis



Foto J.4 Proses pengamatan motilitas spermatozoa