

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA KEMBANG SEPATU  
(*Hibiscus rosa-sinensis* L.) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA  
MENCIT (*Mus musculus* L.) SWISS WEBSTER ALBINO**

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai salah satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains*



**Oleh:**

**WULAN KOMALA SARI  
NIM. 12694**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
2013**

**PERSETUJUAN SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA KEMBANG SEPATU  
(*Hibiscus rosa-sinensis* L.) TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA  
MENCIT (*Mus musculus* L.) SWISS WEBSTER ALBINO**

Nama : Wulan Komala Sari  
NIM/BP : 12694/2009  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Juli 2013

Disetujui Oleh:

Pembimbing I,



Dr. Ramadhan Sumarmin, M.Si  
NIP. 196812161997021001

Pembimbing II,



Dra. Helendra, M.S  
NIP. 196306081987032001

## PENGESAHAN

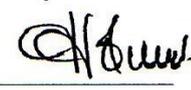
Dinyatakan Lulus setelah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Skripsi Program  
Studi Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu  
Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang

**Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus  
rosa-sinensis* L.) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus  
musculus* L.) Swiss Webster Albino**

Nama : Wulan Komala Sari  
NIM : 12694  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 26 Juli 2013

### Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Ramadhan Sumarmin, M.Si.	1. 
2. Sekretaris	: Dra. Helendra, M.S.	2. 
3. Anggota	: Drs. Sudirman	3. 
4. Anggota	: Dra. Des M., M.S.	4. 
5. Anggota	: Ernie Novriyanti, S.Pd., M.Si.	5. 



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
JURUSAN BIOLOGI**

**SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wulan Komala Sari  
NIM/TM : 12694/2009  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul: **Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster Albino** adalah benar merupakan hasil karya saya dan bukan merupakan plagiat dari karya orang lain. Apabila suatu saat terbukti saya melakukan plagiat maka saya bersedia diproses dan menerima sanksi akademis maupun hukum sesuai dengan hukum dan ketentuan yang berlaku baik di universitas maupun di masyarakat dan negara.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan penuh rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Diketahui oleh:  
Ketua Jurusan Biologi

**Dr. Azwir Anhar, M.Si.**  
NIP. 195612311988031009

Saya yang menyatakan,



**Wulan Komala Sari**  
NIM. 12694

## ABSTRAK

### **Wulan Komala Sari : Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster Albino**

Salah satu tumbuhan berkhasiat obat adalah bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). Bunga kembang sepatu dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah spermatozoa dan meningkatkan jumlah morfologi spermatozoa abnormal pada hewan jantan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak segar bunga kembang sepatu berwarna merah (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap jumlah sperma dan morfologi sperma mencit jantan dewasa (*Mus musculus*, L.).

Subjek penelitian adalah mencit jantan dewasa (*Mus musculus* L.) Swiss Webster albino dewasa fertil berumur 8-10 minggu dengan berat badan 25-30 gram, sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data diperoleh dari hasil pengamatan jumlah dan persentase morfologi sperma abnormal. Data dianalisis dengan uji ANOVA taraf signifikansi 5% dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk jumlah spermatozoa setelah dilakukan uji analisis ragam satu arah (ANOVA), pengaruh perlakuan dengan kontrol tidak berbeda nyata sehingga dosis yang digunakan pada penelitian ini masih belum dapat mempengaruhi jumlah spermatozoa mencit. Hasil penelitian untuk morfologi abnormal berdasarkan hasil uji BNT memperlihatkan bahwa dosis yang paling efektif untuk menyebabkan morfologi sperma mencit menjadi abnormal adalah perlakuan 3 (Dosis 800 mg/kgbb), semakin tinggi dosis yang diberikan kepada mencit lebih menyebabkan abnormalitas pada sperma mencit (*Mus musculus* L.). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga kembang sepatu dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster albino.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster Albino”**. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memahami salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini:

1. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, S.Si.,M.Si selaku pembimbing I yang telah bersusah payah membimbing penulis selama kuliah dan membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Helendra, M.S selaku pembimbing II yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Drs. Sudirman, Ibu Dra. Des M, M.S. dan Ibu Ernie Novriyanti, S.Pd, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak saran untuk kesempurnaan skripsi ini.
4. Semua Bapak dan Ibu Dosen serta staf Jurusan Biologi yang telah banyak membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
5. Kedua orang tua dan keluarga penulis yang selalu memberikan dukungan, semangat dan do'a kepada penulis.

6. Semua teman-teman koloni Biologi yang selalu memberikan semangat kepada penulis.

Mudah-mudahan semua bantuan yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Padang, Juli 2013

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Batasan Masalah.....	4
C. Rumusan Masalah .....	4
D. Tujuan Penelitian .....	4
E. Kegunaan Penelitian .....	4
<b>BAB II KAJIAN TEORI</b>	
A. Kembang Sepatu.....	6
B. Kandungan Kimia Bunga Kembang Sepatu .....	9
C. Hewan Uji.....	10
D. Endokrinologi Sistem Reproduksi Jantan .....	18
E. Kerangka Konseptual .....	21
F. Hipotesis Penelitian .....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	23

B. Waktu dan Tempat.....	23
C. Populasi dan Sampel.....	24
D. Variabel dan Data .....	24
E. Alat dan Bahan .....	24
F. Prosedur Penelitian .....	25
<b>BAB IV HASIL PEMBAHASAN</b>	
A. Deskripsi Data .....	31
B. Analisis Data.....	33
C. Pembahasan .....	36
<b>BAB V PENUTUP</b>	
A. Kesimpulan .....	39
B. Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>43</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pembagian Hewan Percobaan Berdasarkan Perlakuan dan Ulangan.....	23
2. Jumlah Spermatozoa Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) Setelah Pemberian Ekstrak Segar Bunga Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> ) Selama 1 Siklus Spermatogenesis.....	31
3. Jumlah Morfologi Abnormal Spermatozoa Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) Setelah Pemberian Ekstrak Segar Bunga Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> ) Selama 1 Siklus Spermatogenesis.....	32
4. Hasil Uji Analisis Ragam Satu Arah Jumlah Spermatozoa Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	34
5. Hasil Uji Analisis Ragam Satu Arah Jumlah Morfologi Abnormal Spermatozoa Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	34
6. Hasil Uji Lanjut BNT Jumlah Morfologi Abnormal Sperma Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel Laurence dan Bacharach.....	43
2. Penghitungan Konversi Dosis Bunga Kembang Sepatu ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.) dari Manusia ke Mencit.....	44
3. Analisis Statistik Kualitas Jumlah Spermatozoa Mencit.....	45
4. Analisis Statistik Kualitas Morfologi Sperma Abnormal Pada Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.).....	47
5. Dokumentasi Penelitian.....	50

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bunga Kembang Sepatu Bunga ( <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.) .....	7
2. Sistem Reproduksi Mencit Jantan .....	11
3. Morfologi Spermatozoa mencit .....	17
4. Kerangka Konseptual Penelitian .....	21
5. Pipet Shahli .....	28
6. Penampang Hemositometer dan Cara perhitungan Sperma .....	29
7. Grafik Jumlah Spermatozoa Mencit .....	32
8. Grafik Jumlah Morfologi Abnormal Sperma Mencit .....	33

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Banyaknya pilihan alat kontrasepsi bagi wanita dibanding pria membuat seolah-olah KB adalah urusan wanita, hal ini telah menyebabkan terjadinya komplikasi akibat penggunaan alat kontrasepsi pada wanita. Penggunaan kontrasepsi merupakan tanggung jawab bersama antara pria dan wanita sebagai pasangan. Suami dan istri harus saling mendukung dalam penggunaan metode kontrasepsi karena KB dan kesehatan reproduksi bukan hanya urusan pria atau wanita. Peran seorang suami dalam program KB dinilai sangat penting karena biasanya suami lebih dominan sebagai penentu kebijakan keluarga.

Komplikasi akibat penggunaan alat kontrasepsi mulai dari yang ringan hingga yang berat antara lain: mual, muntah-muntah, pening, bercak-bercak darah di antara masa haid, infeksi jamur di sekitar kemaluan, kram dan nyeri saat haid dan pendarahan yang cukup serius (Manuaba, 1998). Dengan demikian keikutsertaan pria dalam ber-KB sangat diperlukan.

Berdasarkan data Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional (2009), angka komplikasi berat akibat penggunaan kontrasepsi pada wanita di seluruh Indonesia terbilang tinggi seperti penggunaan *Intra Uterine Device* (IUD) di Jawa Tengah dengan tingkat komplikasi 165 akseptor (60%), begitu juga implant di Nanggroe Aceh Darussalam sekitar 115 akseptor (88,46%) mengalami komplikasi. Pada provinsi Sumatera Utara, tingkat komplikasi akibat *Intra Uterine Device* (IUD) sebanyak 12 akseptor (42,86%), Metode Operasi

Wanita (MOW) 3 akseptor (10%), implant 13 akseptor (46,43%), dan suntik 18 akseptor (64,29%), sedangkan Metode Operasi Pria (MOP) tidak ada yang mengalami komplikasi berat. Tingginya tingkat komplikasi akibat pemakaian kontrasepsi bagi wanita bisa menjadi alasan untuk pria mengambil alih tanggung jawab menjadi akseptor KB.

Program KB mengutamakan arus gender, data berbagai survey menunjukkan bahwa prevalensi pengguna kontrasepsi pria masih di bawah dua persen, meskipun rendahnya pengguna kontrasepsi berkaitan pula dengan keterbatasan teknik kontrasepsi yang tersedia bagi pria, angka ini menunjukkan bahwa kepedulian pria terhadap keluarga berencana masih rendah. Mengingat upaya penyusutan gender (*gender mainstreaming*) menjadi pendekatan umum pada setiap pembangunan nasional dan global, maka kesetaraan gender dalam pengaturan kelahiran adalah ciri pembaharuan program KB (BKKBN, 2008).

Sejak kesepakatan ICPD 1994 di Kairo, kesetaraan dan keadilan gender dalam keluarga berencana telah menjadi salah satu strategi utama dalam pelaksanaan program KB nasional. Dengan diadopsinya *Millenium Development Goal's* sebagai tujuan pembangunan global, maka masalah kesetaraan dan keadilan gender memperoleh prioritas yang lebih tinggi. Adapun pencapaian MOP di dunia 3,4%, Negara maju 5,3%, Negara berkembang 3,0%, dan di Indonesia 0,4% (Survei Demografi Kesehatan Indonesia, 2007).

Keikutsertaan pria dalam menggunakan kontrasepsi masih rendah yaitu sekitar 6% dari seluruh akseptor keluarga berencana (KB). Rendahnya keikutsertaan pria disebabkan karena terbatasnya pilihan kontrasepsi untuk pria

dan kontrasepsi yang ada masih belum memuaskan. Sehubungan dengan hal tersebut, diperlukan terobosan baru dalam bentuk upaya untuk meningkatkan partisipasi pria dalam KB dan kesehatan reproduksi, diantaranya melalui pencarian metode baru terhadap kontrasepsi bagi pria yang lebih efektif dan tidak menimbulkan komplikasi.

Beberapa tumbuhan di Indonesia telah diketahui memiliki efek antifertilitas yang umumnya memiliki bahan aktif berupa steroid (Djamal, 1993). Beberapa contohnya antara lain pepaya (*Carica papaya*), Mahoni (*Switenia mahagonni*), bunga tahi ayam (*Lantana camara*), Paria (*Momordica sp*) dan Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). Pada penelitian ini yang digunakan yaitu *Hibiscus rosa-sinensis* L. atau Kembang sepatu.

Dari penelitian yang dilakukan oleh Kholkute (1977), diketahui bahwa pemberian ekstrak benzena bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. pada tikus jantan selama 30, 45, dan 60 hari berturut-turut dengan dosis 250 mg/kg berat badan/hari mempengaruhi proses spermatogenesis dan fungsi endokrin testis tikus. Penelitian yang sama juga pernah dilakukan oleh Ida Supriyatni (1987), hasil penelitiannya menunjukkan, tidak ada pengaruh pemberian ekstrak bunga *H. rosa-sinensis* L. dengan dosis 713 mg/kg berat badan/hari selama 21 hari berturut-turut terhadap jumlah dan viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) strain LMR. Diduga, tidak adanya pengaruh pemberian ekstrak tersebut di atas terutama disebabkan oleh dosis pemberian yang masih kurang dan waktu pemberian yang lebih singkat jika dibandingkan dengan dosis dan waktu pemberian pada penelitian Kholkute (1977).

Selain berkhasiat sebagai obat-obat tradisional, bunga kembang sepatu dilaporkan juga memiliki efek antifertilitas pada jantan. Gupta *et al.* (1985) membuktikan bahwa pemberian ekstrak bunga tersebut sebanyak 400 mg/hari/ekor selama 60 hari pada mencit albino jantan menunjukkan penghambatan spermatogenesis, penurunan motilitas spermatozoa, penurunan kadar protein dan asam sialat dalam testis serta peningkatan kadar kolesterol testis.

Sebagai kontrasepsi pria, air rebusan bunga sepatu selain mengganggu keseimbangan hormon reproduksi (progesteron), juga memberikan efek menghambat sperma, mengganggu fungsi endokrin, dan memperkecil ukuran testis. Bunga bergetah ini juga memiliki sifat antiestrogenik yaitu mengganggu aktivitas hormon reproduksi pada kaum ibu maupun kelompok bapak, tetapi pengaruh itu hanya timbul selama pemberian ekstrak berlangsung. Kalau dihentikan, organ reproduksi kembali normal (Susanti, 2007).

Mengingat perlunya pencarian metode kontrasepsi baru bagi pria dan terdapatnya potensi pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan sumber antifertilitas untuk tujuan kontrasepsi, maka penulis melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kembang sepatu terhadap kualitas spermatozoa mencit.

## **B. Batasan Masalah**

Penelitian ini dibatasi dengan mengamati pengaruh antifertilitas ekstrak bagian mahkota bunga berwarna merah pada kembang sepatu (*Hibiscus rosa-*

*sinensis* L.) terhadap jumlah spermatozoa dan jumlah morfologi spermatozoa abnormal *Mus musculus* Swiss Webster.

### **C. Rumusan Masalah**

Apakah ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dapat mempengaruhi jumlah spermatozoa dan jumlah morfologi spermatozoa abnormal pada mencit (*Mus musculus* L.) ?

### **D. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap jumlah spermatozoa dan jumlah morfologi spermatozoa abnormal mencit (*Mus musculus*).

### **E. Kegunaan penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan berguna bagi :

1. Mahasiswa jurusan biologi, sebagai informasi penggunaan zat antifertilitas terhadap jumlah spermatozoa mencit dalam mempelajari mata kuliah struktur hewan, perkembangan hewan, fisiologi hewan dan anatomi fisiologi manusia.
2. Lembaga farmasi, sebagai informasi dalam pemanfaatan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) menjadi bahan kontrasepsi herbal dalam program Keluarga Berencana (KB).
3. Peneliti, meningkatkan kemampuan dan memantapkan keterampilan dalam merealisasi pengetahuan serta teori yang dipelajari selama perkuliahan.

## **BAB II KAJIAN TEORI**

### **A. Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)**

#### **1. Deskripsi Kembang Sepatu**

Tanaman kembang sepatu merupakan perdu hias yang terkenal dengan varietas-varietasnya yang berbunga tunggal dan majemuk dengan beraneka ragam warnanya, tanaman ini tidak tumbuh liar di Indonesia. Pembiakannya dilakukan dengan cara menyetek, karena tanaman ini tidak pernah berbuah (Hayne, 1987).

##### **a. Nama Daerah**

Kembang sepatu adalah tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini juga dikenal di beberapa negara dengan berbagai nama seperti Angharaendi (Arab), Kaungyan (Burma), Fusan (China), Shoe Flower (Inggris), Rose de Chine (Perancis) dan berbagai nama lain.

Tumbuhan ini bisa dijumpai di hampir semua daerah di Indonesia dan dikenal dengan berbagai nama seperti Kembang Wera (Sunda), Wora-wari (Jawa), Bungong Raya (Aceh), Bunga Raya (Melayu), Ulango (Gorontalo), Bunga Riau (Makasar), Waribang (Bali) dan lain-lain (Steenis, 1975).

b. Morfologi Tanaman

Kembang sepatu termasuk tumbuhan jenis perdu, tingginya mencapai 1 – 4 meter. Daunnya bertangkai, berbentuk bulat telur dengan ujung runcing dan tepinya bergerigi. Tangkai bunganya beruas, bunganya berdiri sendiri di ketiak daun. Daun kelopak tambahan berjumlah 6 – 9, berbentuk lanset garis yang hampir selalu lebih pendek dari kelopak bunganya yang berbentuk tabung. Daun mahkotanya berbentuk bulat telur terbalik, panjangnya 5,5 – 8,5 cm, bewarna merah, kuning atau oranye. Tabung benang sari sama panjang dengan mahkota (Steenis, 1975). Bentuk bunga kembang sepatu dapat dilihat pada Gambar 1



**Gambar 1. Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) (Wikipedia.com)**

c. Kegunaan Tanaman

Kembang sepatu biasanya dikenal sebagai tanaman hias. Meskipun demikian, tumbuhan ini juga bisa digunakan untuk

tujuan pengobatan. Daun kembang sepatu mengandung suatu senyawa alkaloid (Ayensu, 1981).

Beberapa khasiat dari kembang sepatu sebagai obat telah dikenal masyarakat. Mereka menggunakan rebusan daunnya untuk mengobati batuk, TBC, sariawan, demam, keguguran dan gonorrhoea (Steenis dan Kruseman, 1957) tapel daunnya dapat digunakan untuk mengompres sakit kepala (Tampubolon, 1981). Bunga kembang sepatu mengandung senyawa hibiscetin (Tampubolon, 1981). Rebusan bunga tersebut berkhasiat sebagai “demulsen” untuk mengobati batuk, bronchitis, rhinitis dan enteritis (Ayensu, 1981).

Selain berkhasiat sebagai obat-obat tradisional, bunga kembang sepatu dilaporkan juga memiliki efek antifertilitas pada jantan. Gupta *et al.* (1985) membuktikan bahwa pemberian ekstrak bunga tersebut sebanyak 400 mg/hari/ekor selama 60 hari pada mencit albino jantan menunjukkan penghambatan spermatogenesis, penurunan motilitas spermatozoa, penurunan kadar protein dan asam sialat dalam testis serta peningkatan kadar kolesterol testis.

Sebagai kontrasepsi pria, air rebusan bunga sepatu selain mengganggu keseimbangan hormon reproduksi (progesteron), juga memberikan efek menghambat sperma, mengganggu fungsi endokrin, dan memperkecil ukuran testis. Bunga bergetah ini juga memiliki sifat antiestrogenik yaitu mengganggu aktivitas hormon

reproduksi pada kaum ibu maupun kelompok bapak, tetapi pengaruh itu hanya timbul selama pemberian ekstrak berlangsung. Kalau dihentikan, organ reproduksi kembali normal (Susanti, 2007).

## 2. Klasifikasi Bunga Kembang Sepatu

Kedudukan tanaman kembang sepatu dalam sistematika tumbuhan menurut Tjitrosoepomo dkk (1977) adalah:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledonae

Ordo : Malvales

Familia : Malvaceae

Genus : *Hibiscus*

Spesies : *Hibiscus rosa – sinensis* L.

### B. Kandungan Kimia Bunga Kembang Sepatu

*Hibiscus rosa sinensis* L. adalah tanaman yang menjanjikan sebagai obat herbal yang bertujuan untuk kontrasepsi. Bunga, daun, batang, dan akar mengandung *hibiscetin glycoside*, suatu agen anti spermatogenesis yang cocok digunakan sebagai kontrasepsi pria (Kholkute, 1977).

Kandungan penting yang terdapat pada kelopak bunga kembang sepatu adalah pigmen antosianin yang termasuk golongan flavonoid yang berperan

sebagai antioksidan. Potensi antioksidan flavonoid didasarkan pada jumlah dan lokasi gugus hidroksilnya. Flavonoid terdiri dari flavonols dan pigmen antosianin. Pada kembang sepatu antosianin berada dalam bentuk glukosida sementara itu flavonols terdiri dari *gossypetin*, *hibiscetin*, dan *quercetin* (Mardiah dkk, 2009).

### **Flavonoid**

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar dan merupakan bagian dari steroid yang dapat ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Mardiah dkk, 2009).

## **C. Hewan Uji**

### **1. Deskripsi Mencit Putih (*Mus musculus L.*)**

Mencit merupakan hewan percobaan yang populer digunakan dalam penelitian laboratorium yang dipelihara secara intensif. Hal ini didukung oleh keunggulan mencit sebagai hewan percobaan yang memiliki siklus hidupnya relatif pendek, variasi sifatnya tinggi, mudah ditangani dan sifat produksi maupun reproduksinya sama dengan hewan mamalia lainnya.

### **2. Klasifikasi Mencit Putih (*Mus musculus L.*)**

Klasifikasi mencit menurut Arrington (1972) yaitu :

Kingdom : Animalia

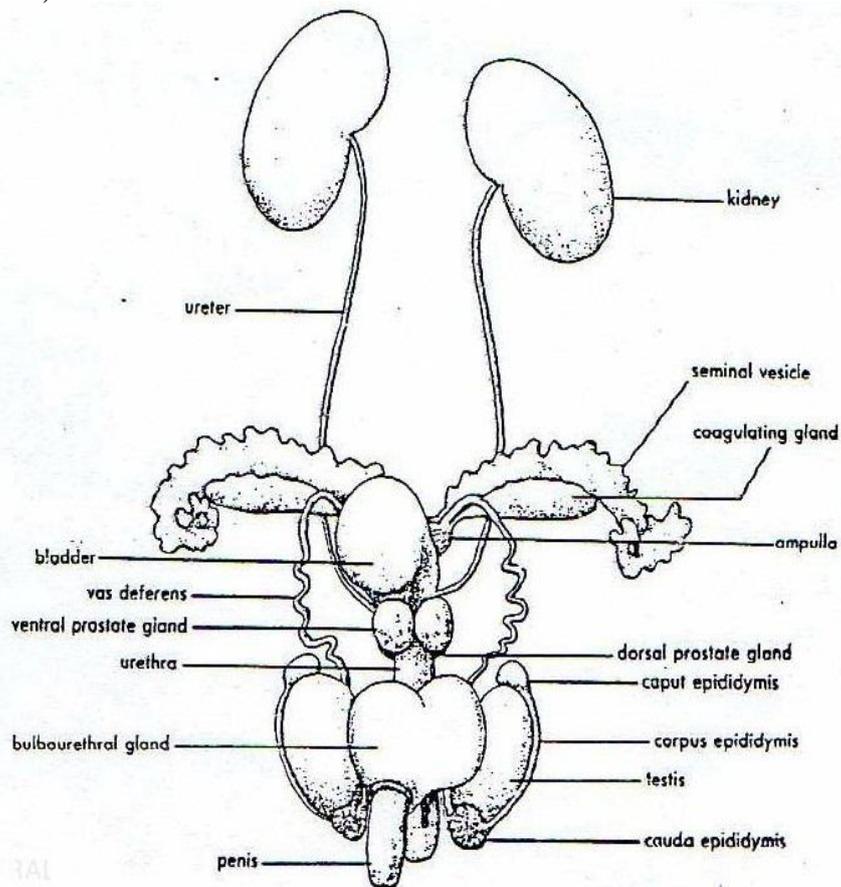
Filum : Chordata

SubFilum : Vertebrata

Class : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Familia : Muridae  
Genus : Mus  
Spesies : *Mus Musculus*

### 3. Sistem Reproduksi Jantan

Sistem reproduksi mencit jantan terdiri atas testis dan kantong skrotum, epididimis, dan vas deferens, kelenjar asesoris, uretra dan penis. Selain uretra dan penis, semua struktur ini berpasangan (Rugh, 1967).



Gambar 2. Sistem reproduksi mencit jantan (Rugh, 1969)

### **a. Testis**

Testis yang berada dalam skrotum ini memiliki kapsul yang terdiri dari 2 lapisan yaitu tunika vaginalis dan tunika albuginea. Tunika vaginalis ialah lapisan terluar kapsul, membentuk kantung testis, berasal dari selaput peritoneum yang melapisi rongga tubuh dan jeroan perut, yang ikut terbawa ketika testis tumbuh menggantung ke dalam skrotum. Lapisan ini terdiri dari selaput sel mesothelium. Tunika albuginea terdiri dari jaringan ikat dan sel-sel otot polos. Dengan tunika vaginalis dipisahkan oleh lamina basalis, yang tumbuh dari jaringan ikat juga. Tunika vasculosa, lapisan jaringan ikat renggang (jaringan ikat aerolar) yang mengandung jalinan pembuluh darah adalah bagian dalam tunika albuginea. Lapisan ini berhubungan dengan jaringan interstitial dalam testis. Lewat lapisan inilah darah keluar masuk testis (Yatim, 1994).

### **b. Histologi Testis**

Setiap testis ditutupi dengan jaringan ikat fibrosa, tunika albuginea, bagian tipisnya atau septa akan memasuki organ untuk membelah menjadi lobus yang mengandung beberapa tubulus disebut tubulus seminiferus. Bagian tunika testis dan bagian arteri testicular yang masuk disebut sebagai hilus. Arteri memberi nutrisi setiap bagian testis, dan kemudian akan kontak dengan vena testikular yang meninggalkan hilus (Rugh, 1967).

Epitel tubulus seminiferus berada tepat di bawah membran basalis yang dikelilingi oleh jaringan ikat fibrosa yang tipis antara tubulus adalah stroma interstisial, terdiri atas gumpalan sel leydig ataupun sel sertoli dan kaya akan darah dan cairan limfe. Sel interstisial testis mempunyai inti bulat yang besar dan mengandung granula yang kasar. Sitoplasmanya bersifat eosinofilik. Diyakini bahwa jaringan interstisial menguraikan hormon jantan testosterone. Epitel seminiferus tidak mengandung sel spermatogenik secara eksklusif, tetapi mempunyai nutrisi yang menjaga sel sertoli, yang tidak dijumpai di tubuh lain. Sel sertoli bersentuhan dengan dasarnya ke membran basalis dan menuju lumen tubulus seminiferus. Di dalam inti sel sertoli terdapat nukleolus yang banyak, satu bagian terdiri atas badan yang bersifat asidofilik di sentral dan sisanya badan yang bersifat basidofilik di perifer.

Sel sertoli diperkirakan mempunyai banyak bentuk tergantung aktivitasnya. Pada masa istirahat berhubungan dekat dengan membran basalis di dekatnya dan inti ovalnya paralel dengan membran. Sel sertoli sebagai sel penyokong untuk metamorfosis spermatid menjadi spermatozoa dan retensi sementara dari spermatozoa matang, panjang, piramid dan intinya berada tegak lurus dengan membran basalis. Sitoplasma dekat lumen secara umum mengandung banyak kepala spermatozoa yang

matang sedangkan ekornya berada bebas dalam lumen (Rugh, 1967).

### **c. Spermatogenesis**

Sel germinal primordial mencit jantan muncul sekitar 8 hari kehamilan, dengan jumlah hanya 100, yang merupakan awal dari jutaan spermatozoa yang akan diproduksi dan masih berada di daerah ekstra gonad. Karena sel germinal kaya akan alkalin fosfatase untuk mensuplai energi pergerakannya melalui jaringan embrio, maka sel germinal dapat dikenal dengan teknik pewarnaan. Pada hari ke 9 dan 10 kehamilan sebagian mengalami degenerasi dan sebagian lain mengalami proliferasi dan bahkan bergerak (pada hari ke 11 dan 12) ke daerah genitalia. Pada saat itu jumlahnya mencapai sekitar 5000 dan identifikasi testis dapat dilakukan.

Proses proliferasi dan differensiasi berlangsung di daerah medula testis. Pada kasus steril, kehilangan sel germinal berlangsung selama perjalanan dari bagian ekstra gonad menuju daerah genitalia. Menuju akhir masa fetus, aktivitas mitosis sel germinal primordial dalam bagian genitalia berkurang dan beberapa sel mulai degenerasi menjelang hari ke-19 kehamilan. Tidak berapa lama setelah kelahiran, sel tampak lebih besar, yaitu spermatogonia. Setelah itu akan ada spermatogonia dalam testis mencit sepanjang hidupnya. Ada 3 jenis spermatogonia: tipe A, tipe intermediate dan tipe B (Rugh, 1967).

Spermatogonia tipe A adalah induk stem cell yang mampu mengalami mitosis sampai menjadi spermatozoa. Spermatogonia tipe A yang paling besar dan mengandung inti kromatin yang mirip partikel debu halus dan nukleolus kromatin tunggal terletak eksentrik. Kromosom metafasanya panjang dan tipis. Dapat meningkat, melalui spermatogonia intermediate menjadi spermatogonia B yang lebih kecil, lebih banyak, dan mengandung inti kromatin serpihan kasar di atas atau dekat permukaan dalam membran inti. Terdapat plasmosom mirip nukleolus yang terletak di tengah. Kromosom metafase biasanya pendek, bulat, dan mirip kacang.

Spermatogonia tipe B membelah dua untuk meningkatkan jumlahnya atau berubah menjadi spermatosit primer, lebih jauh dari membran dasar. Diperkirakan lamanya dari metafase spermatogonia menjadi profase meiosis sekitar 3 sampai 9 hari, menuju metafase kedua selama 4 hari atau kurang, dan menuju spermatozoa imatur selama 7 hari atau lebih. Maka, waktu dari metafase spermatogonia menjadi spermatozoa imatur paling sedikit 10 hari (Rugh, 1967). Sel tipe A pertama kali muncul 3 hari setelah kelahiran. Ketika jumlahnya meningkat, sel germinal primordial yang merupakan asalnya dan kemudian berada di samping membran dasar, akan berkurang jumlahnya.

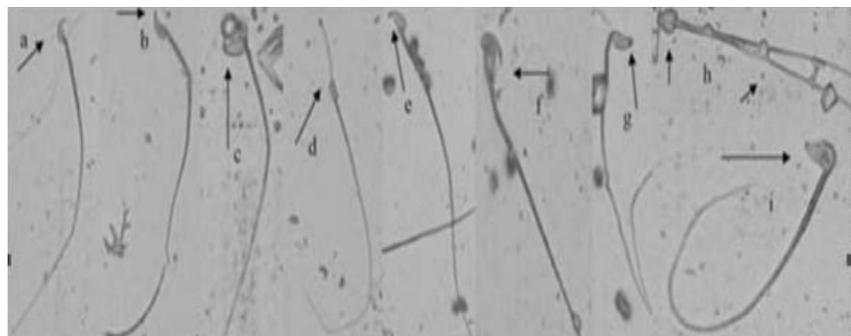
Pembelahan meiosis dalam testis mulai 8 hari setelah kelahiran. Tanda pertama bahwa spermatogonia B akan metamorfosis menjadi spermatisit primer adalah pembesaran dan bergerak menjauhi membran dasar. Spermatisit primer membelah menjadi 2 spermatisit sekunder yang lebih kecil, yang kemudian membelah menjadi 4 spermatid. Mereka mengalami metamorfosis radikal menjadi spermatozoa matur dengan jumlah yang sama, kehilangan sitoplasmanya dan berubah bentuk (Rugh, 1968). Antara tahap spermatisit primer dan sekunder, materi kromatin harus membelah. Sintesa premeiotik DNA terjadi di spermatisit primer selama fase istirahat dan berakhir sebelum onset profase meiosis, rata-rata selama 14 jam. Tidak ada pembentukan DNA terjadi pada tahap akhir spermatogenesis. Proses spermatogenesis mencit pada dasarnya sama dengan mamalia lain. Satu siklus epitel seminiferus selama  $207 \pm 6$  jam, dan 4 siklus yang mirip terjadi antara spermatogonia A dan spermatozoa matur. Produksi spermatozoa matur dari sel spermatogonia berlangsung 5 minggu pada mencit. Testis dan khususnya spermatozoa matur, merupakan sumber hyaluronidase terkaya dan enzim ini efektif membubarkan sel cumulus sekitar ovum matur pada saat fertilisasi.

Setiap spermatozoa membawa enzim yang cukup untuk membersihkan jalan melalui sel cumulus menuju matriks jel ovum. Bahan asam hialuronik semen cenderung bergabung ke sel

granulosa sel cumulus, agar kepala sperma dapat disuplai dengan enzim melimpah (Rugh, 1968). Produksi spermatozoa dewasa dari sel spermatogonial asal di butuhkan waktu 5 minggu pada mencit (Rugh, 1968).

#### d. Spermatozoa

Spermatozoa adalah sel kelamin (gamet) yang diproduksi di dalam tubulus seminiferus melalui proses spermatogenesis. Pengeluaran spermatozoa bersama-sama dengan plasma semen melalui saluran kelamin jantan. Spermatozoa tikus yang normal terdiri atas bagian kepala yang seperti kait, bagian tengah yang pendek dan bagian ekor yang sangat panjang, sedangkan bentuk spermatozoa abnormal dapat diklasifikasikan berdasarkan bentuk kepala dan ekornya. Menurut Washington dkk. (1983), bentuk sperma abnormal pada mencit terdiri dari : bentuk kepala seperti pisang, bentuk kepala tidak beraturan (amorphous), bentuk kepala terlalu membengkok dan sebagai tambahan adalah lipatan-lipatan ekor yang abnormal.



**Gambar 3.** Morfologi spermatozoa mencit. (a) spermatozoa normal, (b) pengait salah membengkok, (c) sperma melipat, (d) kepala terjepit, (e) pengait pendek, (f) kesalahan ekor sebagai alat tambahan, (g) tidak ada pengait, (h) sperma berekor ganda, (i) kepala tidak berbentuk. (Wyrobek AJ & Bruce WR, 1975)

## **D. Endokrinologi Sistem Reproduksi Jantan**

### **1. Hormon Reproduksi Jantan**

Spermatogenesis hampir seluruhnya dalam pengaruh hormon-hormon yang berasal dari hormon-hormon yang berasal dari hipofisa, terutama FSH. Hal ini mirip dengan apa yang terjadi pada ovarium, dimana terjadi pembentukan folikel di bawah pengaruh FSH. Spermogenesis adalah lanjutan spermatogenesis yang berlangsung di bawah peranan LH dan testosterone (Partodihadjo, 1982).

Testis merupakan organ kelamin jantan yang berfungsi sebagai tempat sintesis hormon androgen (terutama testosterone) dan tempat berlangsung proses spermatogenesis. Kedua fungsi testis ini menempati lokasi yang terpisah didalam testis. Biosintesis androgen berlangsung dalam epitel tubulus seminiferus. Hipofisis anterior berperan serta dalam kedua fungsi tersebut melalui sekresi hormon gonadotropin (LH dan FSH). Antara hipofisis dan hipotalamus terdapat hubungan melalui sistem pembuluh darah portal hipofisis. Melalui sistem portal hipofisis ini, berbagai senyawa yang berasal dari hipotalamus, seperti GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) dapat mengendalikan hipofisis anterior (Tadjudin, 1986).

Sasaran dari FSH adalah tubulus seminiferus, juga termasuk sel sertoli. Pada sel-sel sertoli, FSH merangsang sintesa suatu protein yang disebut Protein Pengikat Androgen (PPA). Protein Pengikat Androgen ini berfungsi sebagai pengikat hormon androgen yang dihasilkan oleh

sel leydig untuk dibawa ke reseptor androgen sel-sel germinal di dalam lumen tubulus seminiferus. Sintesa androgen di dalam sel leydig ini dirangsang oleh LH. Di dalam tubulus seminiferus, androgen berfungsi dalam mengontrol proses spermatogenesis pada pembelahan meiosis dan proses spermiogenesis (Bardin, 1986).

## **2. Pengaturan Hormonal pada Spermatogenesis**

Suatu teori yang dikenal dengan nama *Rebound Phenomenon* menunjukkan bahwa hipofisa akan berhenti menghasilkan suatu hormon jika ke dalam hewan yang bersangkutan diberikan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh organ lain akibat rangsangan hormon hipofisa tersebut (Gani, 1988). Partodihardjo (1982) melaporkan bahwa jika androgen dalam dosis tertentu disuntikkan pada hewan jantan, maka kadar LH dan FSH dalam darah menurun.

Pemberian androgen (steroid) dari luar tubuh ditambah dengan produksi hormon androgen oleh sel leydig akan menyebabkan meningkatnya kadar androgen dalam darah. Hal ini akan menyebabkan mekanisme umpan balik negatif terhadap hipofisis sehingga produksi FSH dan LH menurun. Menurunnya kadar FSH dan LH akan menghambat atau mengganggu terjadinya proses spermatogenesis (Syahrin, 1994)

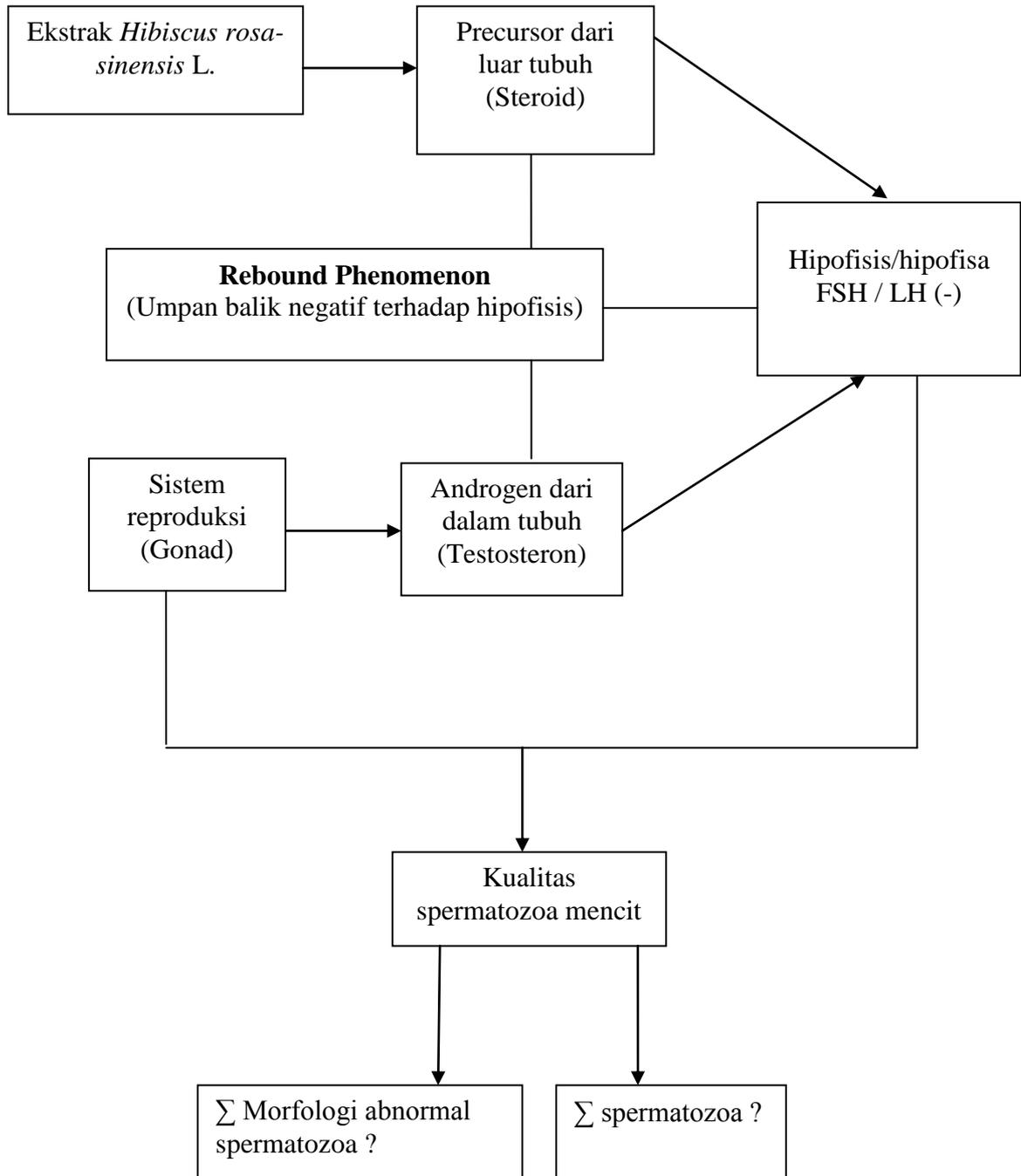
Air rebusan bunga kembang sepatu selain mengganggu keseimbangan hormon reproduksi (progesteron), juga memberikan efek menghambat sperma, mengganggu fungsi endokrin, dan

memperkecil ukuran testis. Bunga bergetah ini juga memiliki sifat antiestrogenik, yaitu mengganggu aktivitas hormon reproduksi pada kaum ibu maupun kelompok bapak (Susanti, 2007)

### **3. Standar Evaluasi Semen**

Secara kuantitatif untuk mengetahui fertilitas spermatozoa yang masih ada dalam ejakulat dilakukan dengan mengetahui jumlah spermatozoa, morfologi spermatozoa dan viabilitas spermatozoa. Secara histologi fertilitas dapat juga dilakukan dengan melihat proses spermatogenesis pada tikus jantan dengan jalan membuat preparat histologi testis (Eliza, 1996). Untuk melihat kualitas spermatozoa dengan melihat jumlah sperma ejakulat mencit dapat dibandingkan dengan jumlah sperma normal sehari-hari yang dikeluarkan pada mencit adalah sebanyak  $2,7 \times 10^6$  sperma per gram testis (Peirce, 2001).

### E. Kerangka konseptual



**Gambar 4. Kerangka Konseptual Penelitian**

## **A. Hipotesis Penelitian**

Pemberian ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dapat menurunkan jumlah spermatozoa dan menyebabkan spermatozoa mencit (*Mus musculus*) menjadi abnormal.

### **BAB III METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian dan Rancangan penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diberikan 4 macam dengan 6 ulangan, sesuai rumus Federer :  $(t-1)(r-1) \geq 15$  dimana  $t =$  Perlakuan,  $r =$  Ulangan (Hanafiah, 1995). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembagian Hewan Percobaan berdasarkan Perlakuan dan Ulangan

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6

Keterangan: A = Kontrol tanpa perlakuan, B = Perlakuan dengan dosis 400 mg/kgbb, C = Perlakuan dengan dosis 800 mg/kgbb, D = Perlakuan dengan dosis 1600 mg/kgbb.

#### **B. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November - Desember 2012 di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

## **C. Populasi dan Sampel.**

### **1. Populasi**

Populasi penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) galur Swiss Webster yang berbadan sehat, umur 8-10 minggu dengan berat badan 25-30 gram.

### **2. Sampel**

Sampel penelitian ini adalah mencit jantan Swiss Webster albino sebanyak 24 ekor yang diambil secara acak.

## **D. Variabel dan data**

### **1. Variabel**

- a. Variabel bebas: ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* dengan dosis 400, 800, 1600 mg/kgbb dan dilengkapi kontrol.
- b. Variabel terikat: jumlah spermatozoa dan jumlah morfologi abnormal spermatozoa mencit jantan.

### **2. Data**

Jenis data dalam penelitian ini adalah data primer yaitu berapa jumlah spermatozoa dan jumlah morfologi sperma abnormal dari mencit jantan albino galur Swiss Webster yang diambil dari vas deferens.

## **E. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang hewan, mortar (lumpang) dan alu porselen, sendok porselen, syringe tuberkulin, jarum gavage, pipet eritrosit (shahli), hemocytometer, kaca objek, kaca

penutup, batang pengaduk, mikroskop cahaya, mikropipet, kamar hitung Neubauer, kaca arloji, pinset, handtally counter dan rak tabung uji.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan, aquadest, NaCl 3% yang mengandung eosin (50 mL aquadest, 2 mL eosin, 1,5 gr NaCl), kertas saring, ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* L., alkohol 70% dan pewarna Giemsa.

## **F. Prosedur Penelitian**

### **1. Persiapan penelitian**

#### a. Pembuatan ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* L.

Bagian bunga lengkap tumbuhan *Hibiscus rosa-sinensis* L. yaitu bagian kelopak, tangkai sari dan putik yang segar dihancurkan sesuai dosis yaitu 400 mg, 800 mg dan 1600 mg dalam 100 mL aquades menggunakan alu dan lumpang porselen, kemudian dilakukan pencekokkan secara oral kepada mencit menggunakan jarum gavage sesuai kapasitas lambung mencit yaitu 0,5 mL. Hal ini dilakukan tanpa ekstraksi menggunakan zat kimia dengan tujuan menghasilkan ekstrak jus murni dari bagian bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.

#### b. Persiapan hewan uji

Mencit yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit albino galur Swiss Webster dengan berat badan 25-30 gram dan umur 8-12 minggu, sebanyak 24 ekor diletakkan dalam kandang sesuai kelompok perlakuan.

c. Penyesuaian hewan uji

Penyesuaian terhadap hewan uji dilakukan selama 2 minggu untuk membiasakan hidup di lingkungan baru.

d. Penentuan dosis

Dosis yang akan diberikan mengacu kepada penelitian yang dilakukan oleh Herrera Arelano dan Flores Romero S (2004) yang melakukan survey mengenai efektifitas dan standarisasi ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* L. dalam ensiklopedia kesehatan menyatakan bahwa secara tradisional ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. digunakan 3-6 gr atau 1-2 sendok makan dan diinfus untuk 1 cangkir sebanyak 3 kali sehari telah dipercaya menjadi obat herbal sebagai antifertilitas pada pria, sehingga setelah dilakukan konversi dosis dari manusia ke mencit berdasarkan tabel Laurence dan Bacharach, (1964) maka pada penelitian ini untuk melihat efek antifertilitas *Hibiscus rosa-sinensis* L. terhadap mencit jantan untuk dosis awal digunakan dosis 400 mg/kgbb, selanjutnya diberikan dosis dua kali lipat pada masing-masing perlakuan, Sehingga dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 400, 800, 1600 mg/kgbb dan kontrol.

**2. Pelaksanaan penelitian**

- a. Pemberian ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* L. secara oral dengan syringe tuberkulin dan jarum gavage pada hewan uji dilakukan setiap hari selama 40 hari mengacu ke lama siklus

spermatogenesis 35,5 hari (Rugh, 1968), maka digenapkan 36 hari.

b. Pembedahan hewan coba

Pembedahan dilakukan pada skrotum mencit.

c. Penghitungan jumlah sperma

1) Memotong vas deferens bagian kiri dan kanan, tempatkan di kaca arloji yang telah diisi dengan 0,5 mL NaCl fisiologis.

2) Mengurut vas deferens dengan menggunakan pinset kecil lalu hisap semennya sebanyak 10 mikron menggunakan mikropipet.

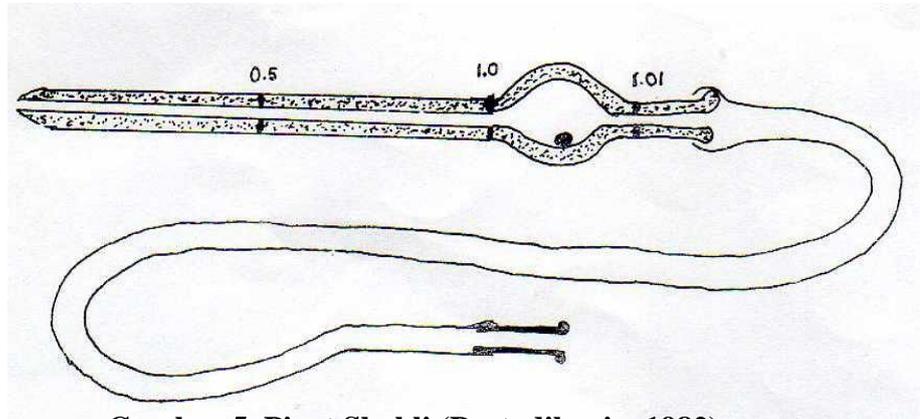
3) Semen digetarkan dengan tangan atau diaduk dengan hati-hati dengan batang gelas supaya homogen.

4) Semen dihisap sebanyak 0,005 mL ke dalam hemocytometer. Petunjuknya ialah bila semen itu telah masuk ke dalam pipet sampai tanda 0,5.

5) Pipet diangkat dari cairan semen, hisap sedikit udara ke dalam pipet (hati-hati sekali, jangan sampai gelembung itu terlalu besar, cukup kecil saja) lalu ujung pipet yang tersentuh semen di bersihkan dengan kertas saring; gelembung kecil itu mencegah supaya semen dalam pipet tidak terhisap oleh kertas penyaring.

6) Setelah ujung pipet itu bersih hisaplah larutan NaCl 3% sampai angka 1.01, di atas bagian pipet yang membesar,

kemudian ujung pipetnya ditutup dengan ujung jari. Dengan demikian semen di encerkan 200 kali.



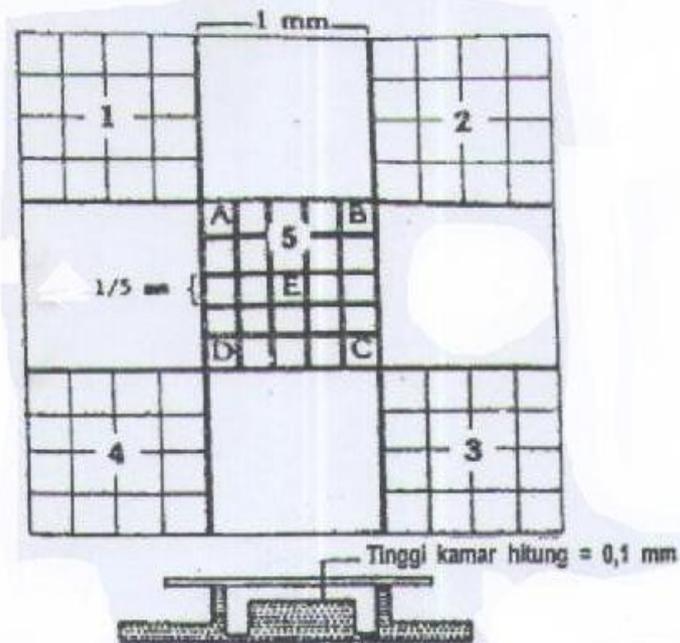
**Gambar 5. Pipet Shahli (Partodiharjo, 1982)**

- 1) Dikocok dengan cara pipet itu diayun-ayunkan membentuk angka 8. Dengan ini dimaksudkan supaya campuran itu homogen dan sperma mati.
- 2) Buang 4 atau 5 tetes dari pipet itu, lalu ujung pipet dibersihkan lagi dengan kertas saring (Partodiharjo, 1982).
- 3) Gelas obyek hemocytometer yang berkotak-kotak telah ditutup dengan gelas penutupnya. Teteskan setetes larutan sperma dari pipet, tepat pada pinggir gelas penutup itu hingga cairan itu menyebar ke seluruh sudut gelas penutup.
- 4) Sperma yang terdapat dihitung dalam 5 kotak, yaitu A, B, C, D dan E dihitung dengan mempergunakan pembesaran 400 kali.

- 5) Hasil perhitungan jumlah spermatozoa kemudian dimasukkan ke dalam rumus penentuan jumlah sperma/mL suspensi sekresi vas deferens sebagai berikut :

$$\text{Jumlah sperma} = N/2 \times 10^5 \text{ sperma/mL}$$

Dimana N = jumlah sperma yang dihitung pada kotak A, B, C, D dan E.



**Gambar 6. Penampang Hemositometer dan Cara perhitungan Sperma (Zaneveld *et al.*, 1986)**

- d. Penghitungan morfologi sperma abnormal
- 1) Diambil sperma dari cauda epididimis tersebut di atas dan dibuat sediaan hapus pada kaca objek, dikeringkan. Kemudian diberi alkohol 70% selama 15 menit, dikeringkan dan diberi pewarnaan Giemsa selama 15 menit. Setelah itu dibilas dengan air kran dan dikeringkan.

- 2) Dengan mikroskop cahaya lakukan penghitungan jumlah morfologi abnormal dengan cara mempersentasekan jumlah sperma abnormal dengan jumlah keseluruhan spermatozoa yang tampak pada satu jarak pandang pengamatan mikroskop.
- 3) Ciri morfologi abnormal spermatozoa dengan indikator kepala seperti pisang, bentuk kepala tidak beraturan (*amorphous*), bentuk kepala terlalu membengkok dan lipatan-lipatan ekor abnormal.
- 4) Selanjutnya terhadap preparat dilakukan pewarnaan spermatozoa dengan eosin.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Deskripsi data

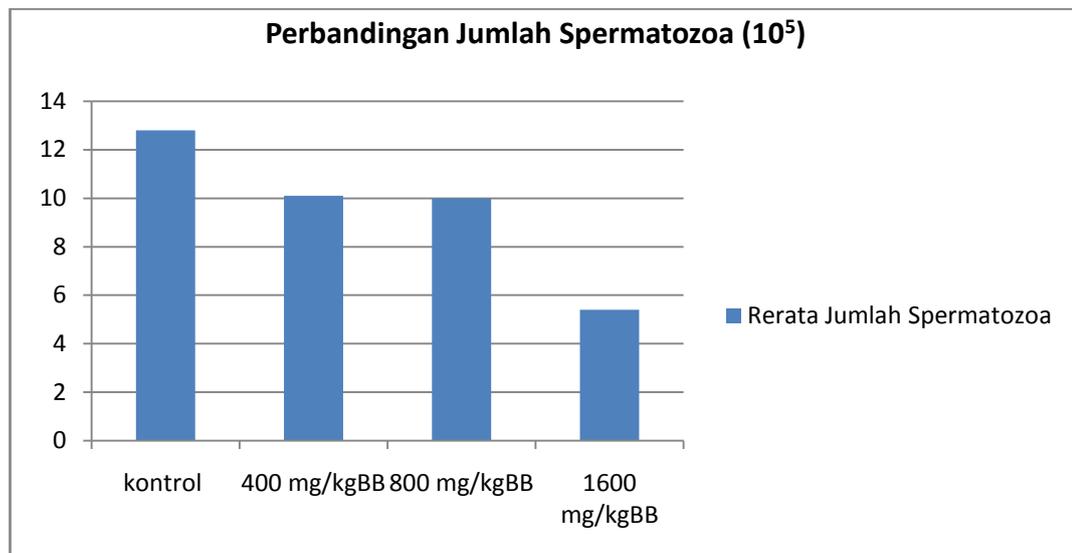
Dari penelitian ini dapat diketahui pengaruh ekstrak segar bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap jumlah spermatozoa dan morfologi abnormal sperma mencit (*Mus musculus* L.) adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Segar Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Selama 1 Siklus Spermatogenesis.

Perlakuan	Ulangan						Jumlah (10 <sup>5</sup> )	Rerata (10 <sup>5</sup> )
	1	2	3	4	5	6		
A	6,5	1	21,5	27,5	7,5	12,8	76,8	12,8
B	19	13,5	4	9	5	10,1	60,6	10,1
C	10,5	12,5	7	5,5	14,5	10	60	10
D	1,5	16,5	4,5	3,5	1	5,4	32,4	5,4

Keterangan: A = Kontrol tanpa perlakuan, B = Perlakuan dengan dosis 400 mg/kgBB, C = Perlakuan dengan dosis 800 mg/kgBB, D = Perlakuan dengan dosis 1600 mg/kgBB.

Data jumlah spermatozoa yang diperoleh dari semen yang terdapat dalam vas deferens mencit menunjukkan angka yang tidak jauh berbeda pada tiap perlakuan, kecuali pada perlakuan D yang memiliki dosis paling tinggi diantara dosis perlakuan lainnya menunjukkan jumlah angka yang paling sedikit dengan jumlah rata-rata paling kecil, sementara pada perlakuan lainnya dapat diperoleh rata-rata jumlah yang hampir sama antara perlakuan A, B dan C. Pada grafik berikut dapat diketahui perbandingan jumlah setiap perlakuan berdasarkan rata-rata setiap perlakuan.



**Gambar 7. Grafik Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*)**

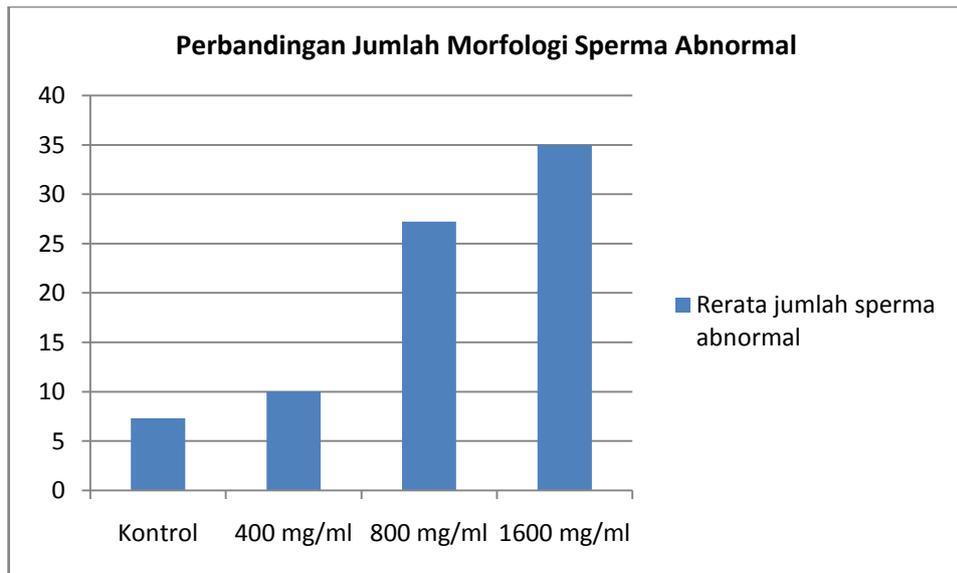
Setelah dilakukan pengamatan terhadap morfologi spermatozoa mencit terdapat morfologi abnormal yang jumlahnya bervariasi dari masing-masing kelompok perlakuan namun menunjukkan kenaikan jumlah dari perlakuan A hingga D, seperti pada tabel berikut.

**Tabel 3. Jumlah Morfologi Abnormal Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Segar Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) Selama 1 Siklus Spermatogenesis.**

Perlakuan	Ulangan						Jumlah	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
A	4,30	7,40	0	14,28	10,30	7,30	43,58	7,3
B	25	6,60	5,88	7,69	13,30	11,70	60,17	10,03
C	42,8	14,30	37,50	25	23,80	20	163,40	27,23
D	40	42,85	22,20	20	50	35	210,05	35

Keterangan: A = Kontrol tanpa perlakuan, B = Perlakuan dengan dosis 400 mg/kgbb, C = Perlakuan dengan dosis 800 mg/kgbb, D = Perlakuan dengan dosis 1600 mg/kgbb.

Pada jumlah morfologi spermatozoa abnormal yang diperoleh berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa kontrol perlakuan menunjukkan jumlah angka paling sedikit dan semakin tinggi dosis perlakuan maka semakin tinggi jumlah angka sperma abnormal yang ditemukan, dapat dilihat pada grafik sebagai berikut.



**Gambar 8. Grafik Jumlah Morfologi Abnormal Sperma Mencit (*Mus musculus L.*)**

## B. Analisis data

### 1. Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*)

Jumlah spermatozoa mencit dianalisis menggunakan analisis ragam klasifikasi satu arah dengan ulangan sama. Dari hasil analisis diketahui bahwa perlakuan berpengaruh secara tidak nyata terhadap jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) pada  $\alpha$  5% dengan  $kk = 69\%$  (lampiran 3). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 4

Tabel 4. Hasil Uji Analisis Ragam Satu Arah Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*).

Sumber Keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel</sub>	
					5%	1%
Perlakuan	3	169,76	56,59	1,3 <sup>tn</sup>	3,10	4,9
Galat	20	872,20	43,61			
Total	23	1041,96				

Keterangan: tn = Perbedaan antar perlakuan tidak nyata

F<sub>hitung</sub> lebih kecil daripada F<sub>tabel</sub> pada taraf 5% dan 1%, perbedaan diantara perlakuan dinyatakan tidak nyata yang berarti tidak ada pengaruh perlakuan terhadap jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) sehingga tidak dilakukan uji lanjut. ( pada hasil F<sub>hitung</sub> ditandai dengan tn).

## 2. Morfologi abnormal sperma mencit

Morfologi abnormal sperma mencit (*Mus musculus L.*) dianalisis menggunakan analisis ragam klasifikasi satu arah dengan ulangan sama. Dari hasil analisis diketahui bahwa perlakuan berpengaruh secara nyata terhadap morfologi abnormal sperma mencit (*Mus musculus L.*) pada  $\alpha$  5% dengan  $kk = 48,7\%$  (lampiran 4). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 5

Tabel 5. Hasil Uji Analisis Ragam Satu Arah Jumlah Morfologi Abnormal Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*).

Sumber Keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel</sub>	
					5%	1%
Perlakuan	3	3235,06	1078,40	11,5 <sup>**</sup>	3,10	4,9
Galat	20	1877,14	93,9			
Total	23	5112,20				

Keterangan: \*\* = Perbedaan antar perlakuan sangat nyata pada taraf 1%

$F_{hitung}$  lebih besar daripada  $F_{tabel}$  pada taraf 5% dan 1% , perbedaan diantara perlakuan sangat nyata yang berarti perlakuan sangat berpengaruh terhadap jumlah morfologi abnormal sperma mencit (*Mus musculus L.*). Untuk mengetahui perbedaan dengan kontrol dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (lampiran 4). Hasil uji lanjut dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Lanjut BNT Jumlah Morfologi Abnormal Sperma Mencit (*Mus musculus L.*)

Dosis	Rerata	Notasi
Kontrol	7,3	c
400 mg/ml	10,03	c
800 mg/ml	27,23	ab
1600 mg/ml	35	a

Ket : Angka- angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama, berbeda nyata pada taraf signifikansi 5% uji lanjut BNT.

Hasil uji lanjut menyatakan bahwa :

1. Pemberian dosis 400 mg/mL berpengaruh tidak berbeda nyata dengan kontrol yang berarti pengaruh dosis 400 mg/mL terhadap jumlah spermatozoa abnormal mencit (*Mus musculus L.*) hampir sama dengan tidak memberikan ekstrak sama sekali.
2. Pemberian dosis 800 mg/mL berpengaruh tidak berbeda nyata terhadap dosis 1600 mg/mL, yang berarti pengaruh dosis 800 mg/mL terhadap jumlah sperma abnormal mencit (*Mus musculus L.*) sama dengan memberikan dosis 1600 mg/mL.

3. Berdasarkan hasil uji dapat disimpulkan bahwa pemakaian dosis 800 mg/mL adalah yang paling efektif untuk menyebabkan sperma mencit (*Mus musculus L.*) menjadi abnormal pada penelitian ini.

### **C. Pembahasan**

Setelah pemberian ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) dengan dosis 400, 800 dan 1600 mg/mL pada mencit (*Mus musculus L.*) selama 36 hari terdapat adanya jumlah spermatozoa yang lebih tinggi dan lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol, terdapat perbedaan hasil namun setelah dilakukan uji statistik terhadap data jumlah spermatozoa yang dipengaruhi oleh ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) tidak berbeda nyata . Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Supriyatni (2000), juga menunjukkan tidak adanya pengaruh pemberian ekstrak benzene bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) dengan dosis 713 mg/kgbb/hari selama 21 hari berturut –turut terhadap jumlah spermatozoa mencit.

Pada penelitian ini penyebab yang mungkin terjadi adalah dosis pemberian yang masih kurang karena pada dosis yang paling tinggi yaitu 1600 mg/mL baru mulai terlihat penurunan jumlah spermatozoa yang signifikan dibanding dengan dosis lainnya dimana pada dosis 400 mg/mL dan 800 mg/mL tidak menunjukkan angka penurunan jumlah spermatozoa yang lebih signifikan dibanding dengan kontrol. Berdasarkan penelitian ini dan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya maka dapat dikatakan bahwa penggunaan ekstrak bunga kembang sepatu yang bertujuan untuk mengurangi jumlah spermatozoa mencit haruslah

menggunakan dosis tinggi apabila diolah secara tradisional tanpa menggunakan pelarut kimia.

*Interstitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH) bekerja pada reseptor spesifik di permukaan sel leydig dan berperan dalam produksi testotestosterone. Testosterone merupakan androgen yang berperan dalam inisiasi dan mempertahankan spermatogenesis serta fertilitas pada pria (Matsumoto, 2001). Pada penelitian ini bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) yang diekstrak secara tradisional yaitu dengan digerus dan dicampur pelarut air dengan dosis 400 mg/mL, 800 mg/mL dan 1600 mg/mL belum dapat menghasilkan steroid yang cukup untuk menempati reseptor testotestosterone. Tujuan diberikan steroid dari ekstrak bunga kembang sepatu adalah untuk menempati reseptor testotestosterone sehingga menimbulkan *feedback* negative terhadap sekresi ICSH sehingga testotestosterone yang dihasilkan oleh sel leydig juga dihambat sekresinya (Tarigan,1980).

Dari pemeriksaan morfologi sperma abnormal pada suspensi vas deferens subjek diperoleh rata-rata persentase morfologi sperma abnormal dosis 400 mg/mL, 800 mg/mL dan 1600 mg/mL lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol dan setelah dilakukan uji lanjut secara statistik terdapat pengaruh perlakuan yang berbeda sangat nyata. Pemberian ekstrak segar bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) menimbulkan morfologi sperma menjadi abnormal diantaranya adalah ada abnormalitas primer dan sekunder. Hasil pengamatan menunjukkan abnormalitas primer yang dijumpai adalah kelainan

pada kepala yaitu kepala tanpa pengait dan kelainan sekunder yang dijumpai adalah patahan pada ekor.

Abnormalitas pada sperma mencit (*Mus musculus* L.) diduga karena adanya gangguan maturasi spermatozoa pada fase spermiogenesis hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Bardin, (1986) bahwa di dalam tubulus seminiferus, androgen berfungsi dalam mengontrol proses spermatogenesis pada pembelahan meiosis dan proses spermiogenesis. Pada penelitian ini steroid yang dihasilkan oleh ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) telah menghambat dihasilkannya androgen, sehingga terjadi gangguan pada fase spermiogenesis. Menurut Sujoko dkk., (2009) bentuk morfologi sel spermatozoa berpengaruh terhadap pembuahan, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka akan menurunkan fertilitasnya.

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) sebagai alat kontrasepsi dengan cara tradisional tidak mempengaruhi jumlah spermatozoa yang dihasilkan namun mempengaruhi morfologi sperma sehingga dapat mempengaruhi fertilitas jantan.

## **BAB V PENUTUP**

### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dengan dosis 400 mg/kgbb, 800 mg/kgbb, 1600 mg/kgbb belum dapat menurunkan jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) tapi sudah dapat menyebabkan abnormalitas pada morfologi sperma mencit (*Mus musculus* L.)
2. Dosis yang paling efektif untuk menyebabkan morfologi sperma mencit (*Mus musculus* L.) menjadi abnormal adalah pada perlakuan 3 dengan dosis 800 mg/kgbb.

Dengan demikian ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terbukti dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.).

### **B. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang fertilitas mencit (*Mus musculus*) yang telah diberi perlakuan oleh ekstrak segar bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*) dengan dosis yang lebih tinggi untuk menurunkan jumlah spermatozoa mencit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arelano, Harrera, dan Flores Romero. 2004. *Encyclopedia of Health*. <http://www.truestarhealth.com.html>. (online). Diunduh tanggal 03 September 2012.
- Arrington, L.R. 1972. *Introductory Laboratory Animal Science, the breeding, Care and Management of Experimental Animal*. The Interstate Printers and Publisher, Inc: Denville.
- Ayensu, E. S. 1981. *Medicinal Plants of The West Indie*. Refference Pub. Inc. Michigan. USA.
- Bardin, C. W., 1986. *Pituitary Testicular Axis Dalam : Reproductive Endocrinology*. (2 nd ed). Edit S. S. C Yen and R. B Jaffe. Philadephia. Saunders. Hal 177-199.
- BKKBN, 2008 dalam . *Pengaruh Karakteristik dan Persepsi Suami Tentang KB Pria Terhadap Partisipasi Dalam ber-KB di Kecamatan Medan Maimun Tahun 2010*. Research Report. USU. Medan.
- BPS. 2007. *Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia*. <http://www.bps.go.id/aboutus.php?info=70>. (on line). Diunduh tanggal 06 Januari 2012.
- Djamal, Rusdi. (1988). *Beberapa Aspek Biologi Sumber Daya Alam Hayati*. Padang : UNAND
- Eliza. 1996. *Proses Spermatogenesis Pada Tikus Jantan Albino Dengan Berat Badan Kurang Dari Normal Yang Disuntik Testosterone Enantat*. (Tesis on line). FK-UI. UI. Jakarta.
- Gani, Y, dkk. (1988). *Pengaruh Sari Kayu Kasai Terhadap Daur Estrus Mencit : dalam Dahlan S. Beberapa Aspek Biologi Sumber Daya Alam Hayati*. Padang : Pusat Penelitian UNAND
- Gupta, I , R. Tank and V.P. Dixit. 1985. *Fertility Regulation In Males : Effects of Hibiscus rosa-sinensis and Malva viscus Flower ; Extract on Male Albimo Rats*. Proc. Nat. Acad. Sci. India 55 (B) IV : 262 – 267.

- Hafez. 1993. *Reproduction in Farm Animal*. Lea & Febringer. Philadelphia: 335-393
- Hanafiah, Kemas Ali. 1995. *Rancangan Percobaan Teori Dan Aplikasi*. UNSRI Press. Palembang.
- Hayne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Badan peneliti dan pengembangan kesehatan. Saranawarna jaya. Jakarta.
- Kholkutte. 1997. *Effects of Hibiscus rosa-sinensis on Spermatogenesis and Assesory Reproduction Organ in Rats*. *Planta medica.*, sumber : jurnal UI Vol. 17, no 3, juli-september 2008.
- Manuaba. (2008). *Pengaruh Karakteristik dan Persepsi Suami Tentang KB Pria Terhadap Partisipasi Dalam ber-KB di Kecamatan Medan Maimun Tahun 2010*. Research Report. USU. Medan.
- Matsumoto AM. (2001). *The Testis, in Endocrinology and Metabolism*: Felig P. & Frohman L A. (eds), 4<sup>th</sup> ed , Mc Graw-Hill, USA, pp. 635 – 705.
- Partodihardjo, Soebadi. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit mutiara. Jakarta.
- Rugh, Robert. 1967. *The Mouse : Its Reproduction and Development*. Burgess publishing company. Minneapolis USA
- Steenis, C. G. G. J Van, dan kruseman. 1975. *Select Indonesian Medical Plant*. Organisation for Science Research in Indonesia. Jakarta
- Supriyatni, Ida. 1987. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Hibiscus rosa sinensis L. Terhadap Jumlah dan Viabilitas Spermatozoa Mus musculus L. strain LMR. (Skripsi on line)*. UI. Jakarta
- Susanti, Ana Dwi. 2007. *Pengaruh berbagai Dosis Filtrat Bunga Sepatu (Hibiscus rosa-sinensis ) Terhadap Jumlah Sel Spermatozoa Tikus Putih Jantan (Rattus novergicus)*. UMM. Malang.
- Syahrin, M, Hatta. (1994). *Reproduksi dan Embriologi dari Satu Sel Menjadi Organisme*. Jakarta : FKUI

- Tadjudin, M. K., 1986. *Cara Keluarga Berencana Hormonal Pada Pria*.  
Prosiding kongres nasional I perkumpulan endokrinologi indonesia, hal  
22-29. Jakarta
- Tampubolon, G. T. 1981. *Tumbuhan Obat*. Bharata Karya. Jakarta
- Tarigan, P. (1980), *Beberapa Aspek Kimia Sapogenin Steroid pada Tumbuhan di  
Indonesia*. Bandung. Alumni.
- Tjitrosoepomo, G. , M. Amin dan Pratignjo. 1977. *Biologi Jilid II*. Departemen  
Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Washington, W, J., R. C. Murthy, a Doye, K. Eugene, D. Brown and J. Bradley.  
1983. *Induction of Morphologically Abnormal Sperm in Rat Exposed to  
Oxylene*. Sarch androl II. hal 233-237
- Yatim, Wildan. 1994. *Repeoduksi dan Embryologi*. Tarsito. Bandung

**Lampiran 1. Tabel Konversi Perhitungan Dosis (Laurence dan Bacharch, 1964)**

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmot 400 gr	Kelinci 1.5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1.0	7.0	12.25	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
Marmot 400 gr	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1.5 kg	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	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.008	0.06	0.1	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 2. Penghitungan Konversi Dosis Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dari Manusia ke Mencit.**

Dosis bunga kembang sepatu yang biasa digunakan sebagai obat herbal untuk kontrasepsi adalah 3 – 6 gram, adapun konversi dosis pada manusia dengan berat rata-rata 70 kg ke mencit dengan berat rata-rata 20 gram adalah 0.0026 (Laurence & Bacharach, 1964).

Penghitungan dosis konversi :

- Untuk dosis 3 gram pada manusia (3 gr = 3000 mg)  
 $3000 \text{ mg} \times 0,0026 \times 1000 \div 20 = 390 \text{ mg/kgbb}$
- Untuk dosis 6 gram pada manusia (6 gr = 6000 mg)  
 $6000 \text{ mg} \times 0,0026 \times 1000 \div 20 = 780 \text{ mg/kgbb}$

Sehingga dosis bunga kembang sepatu untuk mencit setelah dibulatkan adalah antara 400 – 800 mg/kgbb. Dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan akan diencerkan dengan 100 mL air.

### Lampiran 3. Analisis Statistik Kualitas Jumlah Spermatozoa Pada Mencit

Data Pengaruh Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*)

P	Ulangan						Jumlah	Rata
	1	2	3	4	5	6		
1	6,5	1	21,5	27,5	7,5	12,8	76,8	12,8
2	19	13,5	4	9	5	10,1	60,6	10,1
3	10,5	12,5	7	5,5	14,5	10	60	10
4	1,5	16,5	4,5	3,5	1	5,4	32,4	5,4
<b>Total</b>							<b>229,8</b>	<b>38,3</b>

Ket: P 1= kontrol  
P2= Dosis 400 mg/kg bb  
P3= Dosis 800 mg/kg bb  
P4= Dosis 1600 mg/kg bb

#### Derajat Bebas (DB)

$$DB \text{ Total} = r \cdot t - 1 = 6 \cdot 4 - 1 = 23$$

$$DB \text{ Perlakuan} = r - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$DB \text{ Galat} = (r \cdot t - 1) - (t - 1) = (6 \cdot 4 - 1) - (4 - 1) = 20$$

#### Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{r \cdot t} = \frac{229,8^2}{6 \times 4} = 2200,3$$

#### Jumlah Kuadrat

$$JK \text{ Total} = \sum (Y^2_{ij}) - FK = (6,5^2 + 19^2 + 10,5^2 + \dots + 5,4^2) - FK = 3242,26 - 2200,3 = 1041,96$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{Y_1^2 + \dots + Y_t^2}{r} - FK = \frac{(76,8^2 + 60,6^2 + 60^2 + 32,4^2)}{6} - FK = 169,7$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1041,96 - 169,76 = 872,2 \end{aligned}$$

### Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{DB Perlakuan}} = \frac{169,76}{3} = 56,59$$

$$\text{KT Galat} = \frac{\text{JK Galat}}{\text{DB Galat}} = \frac{872,2}{20} = 43,61$$

### F Hitung

$$F \text{ Hitung} = \frac{\text{KT PERLAKUAN}}{\text{KT Galat}} = \frac{56,59}{43,61} = 1,3$$

### Hasil Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F.Hitung	F. Tabel	
					1%	5%
Perlakuan	3	169,76	56,59	1,3 <sup>tn</sup>	4,9	3,10
Galat	20	872,2	43,61	-		
Total	23	1041,96	-	-		

Ket (<sup>tn</sup>) = berbeda tidak nyata

- Pada perlakuan (Konsentrasi)  $F_{hitung} < F_{tabel}$  5% berarti berbeda tidak nyata dan tidak dapat dilakukan uji lanjut

### Koefisien Keragaman

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{9,58} \times 100\% = \frac{\sqrt{43,61}}{9,58} \times 100\% = 69\%$$

**Lampiran 4. Analisis Statistik Kualitas Morfologi Sperma Abnormal Pada Mencit (*Mus musculus*)**

Data Pengaruh Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Terhadap Jumlah Morfologi Sperma Abnormal Mencit (*Mus musculus* L.)

P	Ulangan						Jumlah	Rata
	1	2	3	4	5	6		
1	4,3	7,4	0	14,28	10,3	7,3	43,58	7,3
2	25	6,6	5,88	7,69	13,3	11,7	60,17	10,03
3	42,8	14,3	37,5	25	23,8	20	163,4	27,23
4	40	42,85	22,2	20	50	35	210,05	35
<b>Total</b>							<b>477,2</b>	<b>79,56</b>

Ket: P 1= kontrol  
P2= Dosis 400 mg/kgbb  
P3= Dosis 800 mg/kgbb  
P4= Dosis 1600 mg/kgbb

**Derajat Bebas (DB)**

$$DB \text{ Total} = r \cdot t - 1 = 6 \cdot 4 - 1 = 23$$

$$DB \text{ Perlakuan} = r - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$DB \text{ Galat} = (r \cdot t - 1) - (t - 1) = (6 \cdot 4 - 1) - (4 - 1) = 20$$

**Faktor Koreksi (FK)**

$$FK = \frac{(\sum Y_{ij})^2}{r \cdot t} = \frac{477,2^2}{6 \times 4} = 9488,3$$

**Jumlah Kuadrat**

$$JK \text{ Total} = \sum(Y^2_{ij}) - FK = (4,3^2 + 25^2 + 42,8^2 \dots + 35^2) - FK = 14600,5 - 9488,3 = 5112,2$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{Y_i^2 + \dots + Y_t^2}{r} - FK = \frac{(43,58^2 + 60,17^2 + 163,4^2 + 210,05^2)}{6} - FK = 3235,06$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 5112,2 - 3235,06 = 1877,14 \end{aligned}$$

### Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{DB Perlakuan}} = \frac{3235,06}{3} = 1078,4$$

$$\text{KT Galat} = \frac{\text{JK Galat}}{\text{DB Galat}} = \frac{1877,14}{20} = 93,9$$

### F Hitung

$$F \text{ Hitung} = \frac{\text{KT PERLAKUAN}}{\text{KT Galat}} = \frac{1078,4}{93,9} = 11,5$$

### Hasil Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F.Hitung	F. Tabel	
					1%	5%
Perlakuan	3	3235,06	1078,4	11,5 <sup>**</sup>	4,9	3,1
Galat	20	1877,14	93,9	-		
Total	23	5112,2	-	-		

Ket (<sup>\*\*</sup>) = berbeda sangat nyata

- Pada perlakuan (Kosentrasi)  $F_{hitung} > F_{tabel}$  5% berarti berbeda sangat nyata dan dapat dilakukan uji lanjut

### Koefisien Keragaman

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{19,9} \times 100\% = \frac{\sqrt{93,9}}{19,9} \times 100\% = 48,7\%$$

Dilanjutkan dengan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) pada taraf signifikan 5% karena  $KK > 10\%$

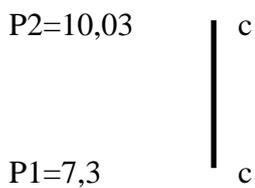
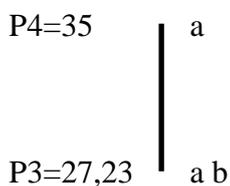
$$\begin{aligned} \text{LSD}_{(\alpha)} &= t_{(\alpha)} (\text{DB galat}) \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\ &= t_{(0,05)} (20) \sqrt{\frac{2(93,9)}{6}} \\ &= 1,72 \times 5,6 = 9,6 \end{aligned}$$

$$|\overline{P4} - \overline{P3}| = |35 - 27,23| = 7,8 < 9,6 \quad ; \text{ maka hasil uji tidak nyata}$$

$$|\overline{P4} - \overline{P2}| = |35 - 10,03| = 24,9 > 9,6 \quad ; \text{ maka hasil uji nyata}$$

$$|\overline{P3} - \overline{P2}| = |27,23 - 10,03| = 17,2 > 9,6 \quad ; \text{ maka hasil uji nyata}$$

$$|\overline{P2} - P1| = |10,03 - 7,3| = 2,7 < 9,9 \quad ; \text{ maka hasil uji tidak nyata}$$



Tabel Uji Lanjut BNT taraf 5 %

Perlakuan	Rerata	Notasi
4	35	a
3	27,23	ab
2	10,03	c
1	7,3	c

Ket: Angka- angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata pada taraf signifikansi 5% uji lanjut BNT.

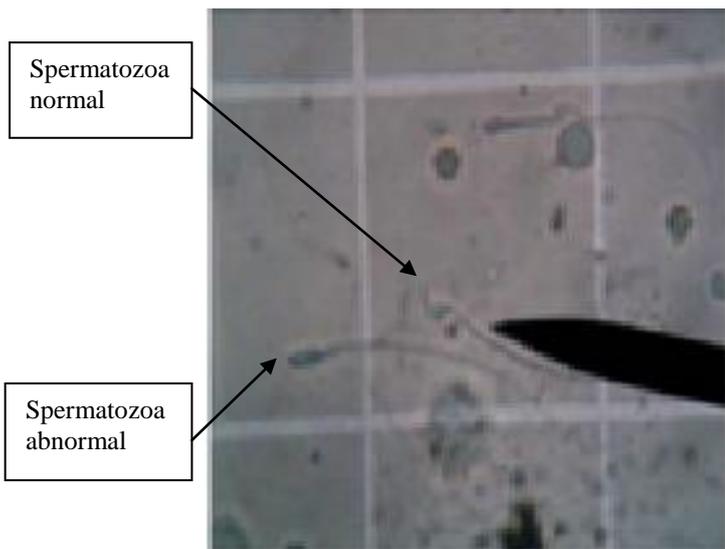
## Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



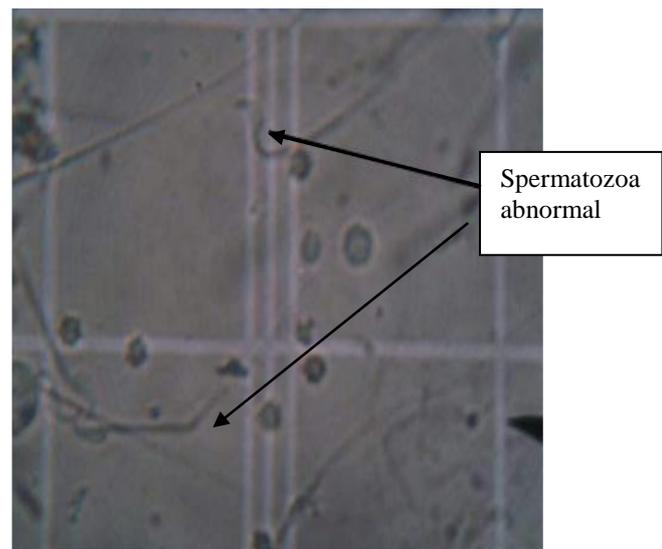
Gambar 3. Pemberian ekstrak



Gambar 4. Mencit



Gambar 5. Spermatozoa normal dan abnormal



Gambar 6. Spermatozoa abnormal