

# **SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE) DAN PERANANNYA PADA ASPEK REPRODUKSI MAMALIA**



**Penulis**  
**Dr. Abdul Gofur, M.Si**



## **Monograf**

SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE) DAN  
PERANANNYA PADA ASPEK REPRODUKSI MAMALIA

## **Penyusun**

Dr. Abdul Gofur, M.Si  
Staf Pengajar Jurusan Biologi,  
Fukultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Negeri Malang

## **Editor**

1. Prof. Dr. agr. Mohamad Amin, S.Pd, M.Si
2. Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si

## **Penerbit**

UM Press  
Cetakan I. Malang 2017



## **KATA PENGANTAR**

Dengan mengucapkan puji syukur syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kekuatan, rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan monograf dengan judul “Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) dan Peranannya Pada Aspek Reproduksi Mamalia”.

Penulisan monograf ini bertujuan untuk memberikan informasi bagi peneliti dan masyarakat yang ingin memanfaatkan susu kambing PE pada aspek reproduksi. Monograf disusun berdasarkan karya-karya hasil penelitian eksperimental penulis di Laboratorium Struktur Perkembangan dan Taksonomi Hewan FMIPA Universitas Negeri Malang. Isi monograf dilengkapi dengan gambar-gambar sehingga menambah pemahaman para pembaca.

Ucapan terima kasih penulis tujukan pada Prof. Dr. agr. Mohamad. Amin, S.Pd, M.Si dan Dr. Sri Rahayu Lestari, M.Si selaku editor monograf, Trio Ageng Prayitno, S.Pd, M.Pd dan Mochammad Fitri Atho'illah, S.Si, M.Si yang membantu persiapan penyusunan monograf, Dr. Hadi Suwono, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA UM dan Dr. Markus Diantoro, M.Si selaku dekan FMIPA UM yang memberikan fasilitas dalam penerbitan monograf, dan semua pihak yang secara aktif mendukung terselesaikannya monograf. Semoga monograf ini bermanfaat bagi para pembacanya.

Malang, Oktober 2017

**Dr. H. Abdul Gofur, M.Si**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	i
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
Latar Belakang .....	1
<b>BAB II SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE)</b> .....	3
<b>BAB III REPRODUKSI MAMALIA</b> .....	9
A. Organ Reproduksi Mencit .....	9
B. Spermatogenesis dan Struktur Spermatozoa .....	13
C. Regulasi Hormon Reproduksi Melalui Aksis Hipotalamus-Hipofisis-Gonad .....	18
<b>BAB IV POTENSI SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE) PADA ASPEK REPRODUKSI MAMALIA</b> .....	45
A. Tahapan Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa dan Kadar Testosteron .....	46
B. Susu Kambing Peranakan Etawa terhadap Konsentrasi Spermatozoa .....	51
C. Susu Kambing Peranakan Etawa terhadap Morfologi Spermatozoa .....	54
D. Susu Kambing Peranakan Etawa terhadap Motilitas Spermatozoa .....	55
E. Susu kambing Peranakan Etawa terhadap Diameter Tubulus Seminiferus dan Kadar Testosteron .....	58
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	61
<b>DAFTAR RUJUKAN</b> .....	63

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Kambing PE Betina .....	3
Gambar 3.1 Anatomi Organ Reproduksi Mencit Jantan .....	13
Gambar 3.2 Proses Spermatogenesis .....	14
Gambar 3.3 Morfologi dan Anatomi Sel Spermatozoa .....	16
Gambar 3.4 Perbandingan antara Spermatozoa Normal dan Spermatozoa Abnormalitas .....	17
Gambar 3.5 Struktur FSH .....	18
Gambar 3.6 Hasil kuantitatif RT-PCR terhadap mRNA FSH dan mRNA LH.....	20
Gambar 3.7 Pengaturan Produksi FSH dan LH.....	21
Gambar 3.8 Mekanisme produksi FSH melalui aktivasi $G\alpha_{q/11}$ .....	23
Gambar 3.9 Perbedaan Konsentrasi Hormon pada siklus menstruasi hari ke-1 sampai ke-4 pada wanita umur 20-25 tahun dan 40-45 tahun. ....	24
Gambar 3.10 Reseptor FSH .....	26
Gambar 3.11 Ilustrasi Penghambatan FSH oleh Inhibin .....	28
Gambar 3.12 Struktur Luteinizing Hormon (LH) .....	29
Gambar 3.13 Aktivasi LH oleh Protein $G\alpha_s$ .....	32
Gambar 3.14 Protein $G\alpha_s$ memicu produksi cAMP .....	33
Gambar 3.15 Umpan Balik Negatif LH .....	34
Gambar 3.16 Ikatan LH dengan reseptor pada domain LRRD .....	35
Gambar 3.17 Kromosom Pengkode Reseptor LH .....	36
Gambar 3.18 Konsentrasi LH meningkat pada tikus yang dikediri ....	37
Gambar 3.19 Struktur Hormon Testosteron .....	38
Gambar 3.20 Biosintesis Testosteron .....	40
Gambar 3.21 Transpor Testosteron sebagai kelompok Hormon Steroid .....	42
Gambar 3.22 Gen Pengkode Reseptor Testosteron .....	42
Gambar 3.23 Struktur Reseptor Testosteron .....	43
Gambar 4.1 Proses Regulasi Hormon pada Peristiwa Spermatogenesis .....	53
Gambar 4.2 Diameter Tubulus Seminiferus pada P1 dengan pembesaran 100X.....	59
Gambar 4.3 Diameter Tubulus Seminiferus pada P2	

	dengan pembesaran 100X.....	59
Gambar 4.4 Diameter Tubulus Seminiferus pada P3		
	dengan pembesaran 100X.....	60

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Gizi pada Susu Kambing PE .....	4
Tabel 3.1 Konsentrasi FSH, LH, dan Testosteron pada Jantan Fertil dan Infertil .....	25
Tabel 4.1 Ringkasan Rancangan Percobaan .....	45
Tabel 4.2 Alat dan Bahan yang Diperlukan dalam Penelitian.....	46
Tabel 4.3 Konsentrasi Spermatozoa dari Mencit yang Diberi Susu Kambing PE.....	52
Tabel 4.4 Morfologi Spermatozoa dari Mencit yang Diberi Susu Kambing PE.....	55
Tabel 4.5 Motilitas Spermatozoa dari Mencit yang Diberi Susu Kambing PE.....	56
Tabel 4.6 Diameter Tubulus Seminiferus dan Kadar Testosteron Mencit yan Diberi Susu Kambing PE.....	59



# BAB I

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Susu merupakan salah satu bahan pangan yang memiliki gizi tinggi didapat melalui pemerahan hewan ternak misalnya kambing, sapi, kerbau, dan jenis mamalia lainnya. Tingkat konsumsi susu oleh masyarakat yang tinggi terutama pada susu yang dihasilkan oleh sapi perah (Disnak, 2013). Beberapa daerah saat ini telah mengembangkan produksi susu selain dari sapi perah. Salah satu ternak penghasil susu yang kini mulai banyak ditemui adalah susu kambing Peranakan Etawa (PE). Keberadaan susu kambing PE belum banyak diketahui oleh masyarakat sehingga belum banyak yang mengonsumsi susu kambing PE (Budiana & Susanto, 2005).

Susu kambing PE memiliki komposisi yang lebih baik dibandingkan dengan susu sapi perah, karena memiliki kadar protein dan asam lemak lebih tinggi bila dibandingkan dengan susu sapi perah (Murtidjo, 1993). Perbandingan protein pada susu kambing PE dengan susu sapi perah adalah sebanyak 4,3% sedangkan susu sapi perah adalah 3,8% (Disnak, 2013).

Susu kambing PE memiliki kandungan gizi yang diperlukan oleh tubuh manusia misalnya: mineral, vitamin, karbohidrat, fosfor, kalsium, magnesium, dan seng yang lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi (Murtidjo, 1993). Konsumsi susu nasional masih didominasi oleh sapi perah. Pada tahun 2014, konsumsi susu per kapita

mengalami peningkatan sebesar 50% bila dibandingkan pada tahun 2013. Kambing PE mulai diminati masyarakat karena memiliki sifat dwiguna, yakni dapat dimanfaatkan daging dan susunya, sehingga diprediksi permintaan susu kambing PE akan ikut meningkat seiring dengan perbaikan manajemen pemeliharaan kambing PE (Disnak, 2013; Ditjennak, 2015).

Sejumlah penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui potensi yang terdapat pada susu kambing PE pada aspek reproduksi jantan antara lain, seperti meningkatkan prekursor testosteron dan konsentrasi spermatozoa (Mahan & Stump, 2004; Hammam, 2008; Fairuz dkk., 2011; Esmielli dkk., 2015). Aspek reproduksi lain yang belum diteliti dan akan menjadi fokus di dalam penelitian adalah viabilitas, morfologi spermatozoa, dan diameter tubulus seminiferus. Aspek reproduksi jantan lain yang diamati dan memiliki keterkaitan, meliputi kadar testosteron dan konsentrasi spermatozoa. Hal lainnya yang menjadi fokus dalam penelitian ini adalah penentuan dosis susu kambing PE yang diharapkan mulai punya pengaruh terhadap aspek reproduksi jantan.

Sebagai kelanjutan dari temuan tersebut maka yang menjadi masalah adalah pada dosis berapa susu kambing PE memiliki pengaruh terhadap kualitas (konsentrasi, morfologi, motilitas) spermatozoa, kadar testosteron, dan diameter tubulus seminiferus melalui mencit (*Mus musculus*) galur *Balb/C* sebagai hewan model.

## **BAB II**

### **SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE)**

Kambing Peranakan Etawa (PE) merupakan hasil persilangan antara kambing Etawa (India) dengan Kambing Kacang (lokal) yang mampu beradaptasi dengan baik di Indonesia. Karakteristik kambing PE antara lain memiliki muka cembung, panjang telinga antara 18-30 cm dan terkulai. Memiliki tanduk yang pendek baik pada jantan maupun betina, memiliki variasi rambut dari krem sampai hitam, memiliki rambut yang tebal pada bagian paha belakang, leher dan pundak serta memiliki dominasi belang coklat. Kambing PE memiliki tinggi sekitar 70-100 cm dan berat badan dewasa antara 40-80 kg untuk jantan dan 30-50 kg untuk betina. Sentra kambing PE terletak di daerah Jawa Tengah (Sutama, 2011). Morfologi kambing PE dapat dilihat pada Gambar 2.1.



**Gambar 2.1** Morfologi Kambing PE Betina. Sumber: Prabowo (2010).

Berdasarkan ciri morfologi dan data biologi yang dimiliki oleh kambing PE dapat diketahui bahwa kambing PE memiliki potensi penting yang mendukung keunggulannya. Dilihat dari segi pemeliharaan, kambing termasuk dapat dikelola dengan kandang dan

tempat yang relatif tidak luas dan dapat dipelihara dengan kondisi pakan yang terbatas (Sinartani, 2011). Sifat selektif yang tinggi pada kambing mendukung kemampuannya dalam hidup dan berkembangbiak lebih luas.

Kambing merupakan salah satu ternak fertil yang memiliki masa generasi dengan interval cukup pendek yakni 5 bulan sehingga produksi susu dapat diperoleh pada umur 15-18 bulan. Kambing PE memiliki keunggulan yaitu, kemampuan adaptifnya pada berbagai kondisi agro-ekosistem di Indonesia, sehingga biogeografinya cepat dan adaptif. Penyebaran yang lebih luas diharapkan dapat membantu meningkatkan kualitas konsumsi gizi masyarakat dengan mengkonsumsi susu kambing PE.

Kandungan gizi pada susu kambing PE dapat dilihat pada Tabel 2.1

**Tabel 2.1 Kandungan Gizi pada Susu Kambing PE**

<b>Komposisi</b>	<b>Susu Kambing</b>
Energi (kkal)	4,6
Karbohidrat (gram)	67
Lemak (gram)	4
Protein (gram)	4,1
Kalsium (mg)	129
Fosfor (mg)	106
Besi (mg)	0,05
Seng (mg)	0,24
Magnesium (mg)	1,3
Vitamin A (IU)	207,4
Vitamin B-1 (mg)	0,04
Vitamin B-2 (mg)	0,01
Vitamin B-3 (mg)	0,19

<b>Komposisi</b>	<b>Susu Kambing</b>
Vitamin B-6 (mg)	0,07
Vitamin B-12 (mg)	0,06
Vitamin C (mg)	1,5
Vitamin D (IU)	2,4
Vitamin E (IU)	0
Asam lemak esensial	4,1

Sumber: Utama (2007)

Kandungan lemak pada susu kambing PE memegang peranan penting pada diet dan sebagai sumber energi serta pembawa vitamin yang larut dalam lemak. Lemak pada susu PE memiliki asam lemak esensial yang penting dari membran sel dan prekursor hormon steroid. Pada spermatozoa dan testis mamalia mengandung atom karbon C<sub>20</sub> dan C<sub>22</sub> asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang dapat disuplai dengan asam lemak yang terkandung pada susu PE (Conquer, 2000).

Lemak merupakan salah satu unsur penting pada spermatozoa karena berperan dalam menjaga kelangsungan hidup, kematangan kesuburan, dan fungsi spermatozoa. Kandungan lemak pada spermatozoa mengandung 70% fosfolipid. Komponen utama membran sel spermatozoa adalah fosfolipid dan kolesterol. Membran sel pada spermatozoa penting bagi keberhasilan pembuahan pada saat reaksi akrosom dan fusi membran spermatozoa dengan oosit. Perubahan kandungan asam lemak pada spermatozoa akan memberikan efek buruk pada sifat biokimia dan fungsinya (Zalata, 1998).

Kandungan lain pada susu PE adalah protein yang berperan penting dalam pematangan spermatozoa. Berdasarkan hasil penelitian

Zambrano (2005) bahwa pembatasan pemberian protein terhadap tikus jantan menyebabkan lambatnya proses spermatogenesis dan pematangan spermatozoa di epididimis serta inisiasi spermatozoatogenesis tertahan sekitar 2,5 – 3 minggu.

Motilitas spermatozoa juga memerlukan kalsium sebagai induksi perkembangan spermatozoa. Kalsium merupakan salah satu unsur yang terkandung dalam susu PE. Motilitas spermatozoa berbanding lurus dengan tingkat kalsium yang ditemukan dalam spermatozoa dari epididimis kauda (Kann dan Serres, 1980).

Zat lain yang terdapat pada susu kambing PE adalah seng (Zn) yang berperan dalam aktivitas enzim ribonuklease selama mitosis dari spermatogonium dan meiosis dari spermatosit. Kekurangan seng akan menyebabkan menurunnya jumlah asam ribonukleat dan asam deoksiribonukleat (Hidiroglou dan Knipfel, 1984). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ZnO menghasilkan volume spermatozoa lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberi ZnO (Liu, 2009).

Diet rendah seng (Zn) selama 3 bulan menunjukkan jumlah spermatozoa yang rendah dan terjadi abnormalitas tubulus seminiferus dengan kekurangan sel germinal dan hanya memiliki sel sertoli (Mason, 1982). Zn juga berperan penting dalam motilitas spermatozoa, bahwa dalam proses katabolisme memberikan kontribusi energi yang dibutuhkan untuk pergerakan spermatozoa, karena berperan dalam mekanisme sistem ATP yang melibatkan kontraksi filamen fibril aksial dan pemanfaatan cadangan energi bagi spermatozoa (Hidiroglou dan Knipfel, 1984).

Kandungan sejumlah vitamin dan mineral pada susu kambing PE memiliki peranan pada spermatozoa, diantaranya vitamin A berperan mengontrol differensiasi spermatid, vitamin B12 berperan dalam spermatogenesis, vitamin C berhubungan dengan kesuburan, jumlah spermatozoa, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa. Kekurangan vitamin B12 menyebabkan terjadinya sel spermatozoa raksasa akibat kegagalan sitokinesis dan penurunan jumlah spermatozoa serta spermatozoa yang abnormal (Abdu, 2008).





## **BAB III**

### **REPRODUKSI MAMALIA**

Mencit (*Mus musculus*) merupakan mamalia yang termasuk kelompok hewan pengerat (*rodentia*) dan banyak digunakan sebagai hewan coba (Tabakoff & Hoffman, 2000). Mencit sering digunakan sebagai hewan coba dengan beberapa alasan yakni memiliki persamaan secara fisiologis dengan mamalia, sehingga mencit sangat cocok digunakan sebagai hewan coba penelitian. Mencit mampu berkembang biak dengan cepat dan masa kebuntingan yang relatif singkat antara 19 sampai 21 hari, tingkat pemeliharaan mudah, memiliki variasi genetik cukup besar, memiliki anatomi dan fisiologi yang terkarakterisasi dengan baik.

Hormon yang berperan dalam sistem reproduksi mencit jantan sama dengan hormon pada pria dewasa (Smith & Mangkoewidjojo, 1988). Mencit jantan memiliki berat badan antara 18 sampai 35 gram dan mencapai kematangan seksual dalam umur 5 sampai 7 minggu (Malole & Pramono, 1989). Organ reproduksi mencit jantan terdiri atas testis, sistem duktus, kelenjar aksesoris, dan penis (Leeson, 1996). Berikut ini adalah penjelasan organ reproduksi mencit jantan.

#### **A. Organ Reproduksi Mencit**

##### **1. Testis**

Testis merupakan organ reproduksi jantan berbentuk oval dan berjumlah dua buah yang berukuran sama besar (Toelihere, 1977).

Testis berkembang di dekat ginjal dan turun dalam skrotum (mengandung sel yang mampu berkontraksi) yang terletak di luar abdomen (Junquera & Carneiro, 1980).

Testis terbagi menjadi 3 bagian, yakni: 1) tunika vaginalis (lapisan terluar yang menutupi permukaan lateral dan anterior testis); 2) tunika albugenia (bagian yang menebal pada permukaan posterior testis dan masuk ke dalam testis yang merupakan bagian tengah/mediastinum); 3) tunika vaskulosa (merupakan lapisan terdalam yang terbenam dalam jaringan ikat karang) (Lesson, 1996).

Mediastinum testis membagi testis menjadi 250 ruang piramidal yang dinamakan lobulus testis, pada tiap lobulus testis terdiri atas 1-4 tubulus seminiferus yang merupakan saluran berkelok-kelok dengan diameter kurang lebih 150-250  $\mu\text{m}$  dan panjang 30-70 cm. Tubulus seminiferus adalah tempat terjadinya spermatogenesis.

Tubulus seminiferus tersusun atas tunika propria fibrosa (merupakan lapisan fibroblas yang terletak di atas lamina basalis). Lamina basalis (terdiri atas sel mioid yang mengubah diameter tubulus seminiferus dan membantu gerakan spermatozoa sepanjang tubulus), dan epitel germativum (memiliki dua jenis sel yakni sel spermatogenik dan sel sertoli. Sel spermatogenik akan mengalami differensiasi menjadi spermatozoa dan sel sertoli berperan dalam memberi nutrisi bagi perkembangan spermatozoa (Junquiera & Carneiro, 1980). Sel leydig terdapat di antara tubulus seminiferus sebagai pengasil hormon testosteron yang berperan dalam spermatogenesis (Yatim, 1988).

## **2. Sistem Duktus**

Sistem duktus terdiri atas, rete testis, duktus eferen, epididimis, dan duktus deferen. Rete testis menghubungkan tubulus seminiferus dengan duktus eferen. Duktus eferen membentuk 3-7 saluran yang menuju epididimis. Hubungan antara duktus eferen dan bagian awal epididimis disatukan dengan kaput epididimis (Rugh, 1968).

Epididimis terdapat pada bagian dorsolateral testis dan memanjang dari kranial ke kaudal testis. Epididimis memiliki dua duktus, yakni duktus eferen dan duktus epididimis. Epididimis terdiri atas tiga bagian, yaitu: kaput (kepala), korpus (badan), dan kauda (ekor). Bagian kaput dan korpus berfungsi sebagai tempat pematangan spermatozoa dan reabsorpsi air, sedangkan bagian kauda berfungsi sebagai penyimpanan spermatozoa sementara (Hafez dan Prasad, 1976).

Epididimis menyalurkan spermatozoa dan cairan dari testis ke duktus deferen (Holstein, 1976). Duktus deferen adalah saluran yang berfungsi mengangkut spermatozoa dari kauda epididimis ke uretra (Moelock, 1994).

## **3. Kelenjar Aksesori**

Kelenjar aksesori terdiri atas kelenjar vesikula seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar bulbouretra (Campbell, 2004). Kelenjar ampula dan kelenjar preputial yang berfungsi membuat cairan semen agar spermatozoa dapat bergerak aktif dan hidup (Nalbandov, 1990).

Kelenjar vesikula seminalis pada mencit berjumlah sepasang dan terletak di atas kelenjar prostat (Rugh, 1968).

Kelenjar tersebut mensekresikan cairan kental berwarna kekuning-kuningan dan bersifat alkalis (basa). Cairan tersebut mengandung fruktosa yang menyediakan sebagian besar energi bagi spermatozoa (Campbell, 2004). Fruktosa juga berfungsi sebagai bahan metabolisme bagi spermatozoa bersama senyawa lainnya seperti glukosa, asam amino, vitamin C, dan prostaglandin (Ross dkk, 1995).

Kelenjar prostat pada mencit berjumlah sepasang dan terletak di bawah kelenjar vesikula seminalis (Rugh, 1968). Kelenjar tersebut mensekresikan cairan yang mengandung enzim antikoagulan dan asam sitrat (Campbell, 2004). Kelenjar bulbouretra pada mencit terdapat di bawah kulit bagian atas penis (Rugh, 1968). Kelenjar tersebut menghasilkan cairan bening dan kental yang mengandung penggumpal, berperan dalam pembentukan sumbat vagina (Eddy, 1988).

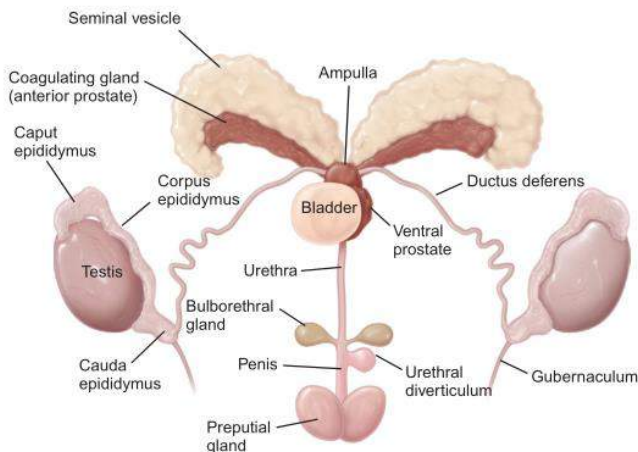
#### **4. Penis**

Pada mencit organ yang digunakan untuk kopulasi adalah penis. Penis berfungsi sebagai alat pengeluaran urin dan peletakan semen ke dalam saluran reproduksi betina (Moeloek, 1994). Semen terdiri dari dua bagian, yakni plasma semen dan spermatozoa. Plasma semen mengandung berbagai senyawa organik antara lain: fruktosa, asam sitrat, sorbitol, gliseril fosforikholin, ergothionin, fosfolipid, prostaglandin, asam amino, dan asam oksalat (Partodiharjo, 1987). Senyawa anorganik dalam plasma semen mengandung bikarbonat,

kalium, dan natrium (Toelihere, 1985). Plasma semen juga mengandung asam askorbat, asam amino, peptida, protein, lipid, asam lemak, enzim dan berbagai hormon (Hafez, 2000).

Penis mencit terdiri atas korpus kavernosum, korpus spongiosum, dan kepala penis. Korpus kavernosum diselubungi oleh tunika albuginea yakni selaput fibrosa tebal berwarna putih dan membentuk badan penis. Kepala penis yaitu bagian ujung penis yang ditutupi oleh preputium (Rugh, 1968).

Anatomi organ reproduksi mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 3.1.



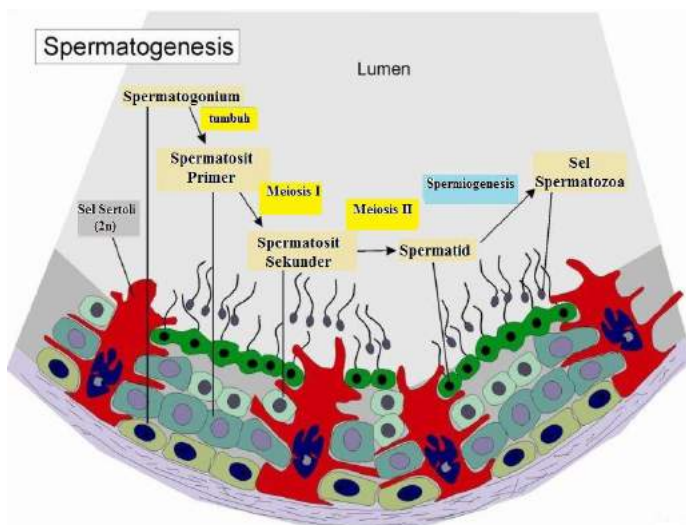
**Gambar 3.1 Anatomi Organ Reproduksi Mencit Jantan.** Sumber: Treuting dkk. (2011).

## **B. Spermatogenesis dan Struktur Spermatozoa**

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan spermatozoa yang berlangsung pada bagian basal menuju lumen tubulus seminiferus (Johnson dan Evereitt, 2007). Mencit membutuhkan waktu 36 hari untuk memproduksi spermatozoa. Terdapat 3 jenis

spermatogonia menciit yakni tipe A, intermediet, dan tipe B (Rugh, 1967). Spermatogonia tipe A terbagi menjadi spermatogonia tipe A<sub>1</sub> yang merupakan *stem cell* yang ketika matang akan membelah menjadi spermatozoa tipe A<sub>2</sub> yang akan membelah menjadi spermatogonia tipe A<sub>3</sub> yang akan menjadi spermatogonia tipe A<sub>4</sub> yang akan berdiferensiasi menjadi spermatogonium intermediet yang membelah secara mitosis menjadi spermatogonia tipe B (Gofur, 2012).

Spermatogonia tipe B akan membelah menjadi spermatosit primer yang masing-masing spermatosit primer akan mengalami pembelahan meiosis pertama menjadi spermatosit sekunder dan membelah secara meiosis menjadi spermatid. Spermatid akan mengalami spermiogenesis yang membuat spermatid menjadi spermatozoa dengan kepala, leher, dan ekor (Gilbert, 2010). Proses spermatogenesis dapat dilihat pada Gambar 3.2.



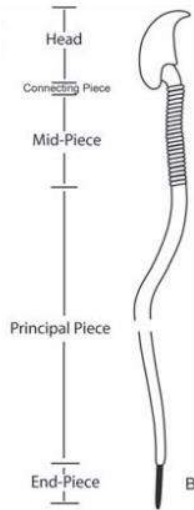
**Gambar 3.2** Proses Spermatogenesis. Sumber: O’Day (2010).

Rugh (1968) menjelaskan spermiogenesis pada mencit memiliki 16 tahapan berdasarkan perubahan pada akrosom dan nukleus. Tahapan tersebut dibagi menjadi 4 fase, yaitu fase golgi (tahap 1-3), fase tudung (tahap 4-7), fase akrosom (tahap 8-12), dan fase pematangan (13-16). Setelah proses spermiogenesis selesai, kemudian dilanjutkan ke tahap spermiasi, yakni proses dilepaskannya spermatozoa ke dalam lumen tubulus seminiferus (Yatim, 1988).

### **1. Struktur Spermatozoa Mencit**

Struktur morfologi spermatozoa normal memiliki kepala dan ekor. Kepala spermatozoa memuat DNA dan akan menyatu dengan sel telur pada saat terjadinya fertilisasi. Ekor spermatozoa memiliki tiga bagian yakni bagian utama, bagian tengah, dan bagian akhir (Johnson dan Everitt, 2007). Morfologi dan anatomi spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 3.3.

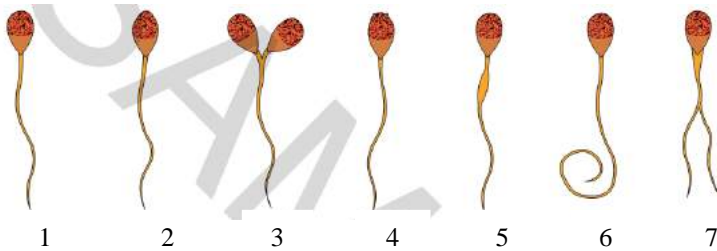
Spermatozoa dikatakan abnormal apabila terjadi penyimpangan pada setiap struktur morfologi spermatozoa. Abnormalitas dapat terjadi pada bagian kepala, bagian tengah, dan ekor. Abnormalitas yang terjadi pada bagian kepala terlihat pada kepala yang mengecil maupun membesar, kepala meruncing, *pyriform*, kepala berbentuk bulat, kepala *amorphus*, dan kepala ganda.



**Gambar 3.3 Morfologi dan Anatomi Sel Spermatozoa Mencit.** Sumber: Schatten & Constantinescu, 2007.

Abnormalitas pada bagian tengah meliputi terlalu tipis maupun menebal. Abnormalitas pada bagian ekor meliputi ekor bengkok, ekor pendek, ekor menggulung, dan ekor ganda (WHO, 2010). Abnormalitas spermatozoa terbagi menjadi dua bagian, yakni abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer ditandai dengan bentuk perubahan yang terjadi pada saat proses spermatozoatogenesis di tubuli seminiferus. Abnormalitas sekunder terjadi setelah spermatozoa meninggalkan tubuli seminiferus (Toelihere, 1993). Perbandingan antara spermatozoa normal dan spermatozoa abnormalitas dapat dilihat pada Gambar 3.4.





**Gambar 3.4 Perbandingan antara Spermatozoa Normal dan Spermatozoa Abnormalitas.** Sumber: CareerTech (2001).

Keterangan: (1) Spermatozoa normal; (2) Spermatozoa abnormal bagian kepala runcing; (3) Spermatozoa abnormal bagian kepala ganda; (4) Spermatozoa abnormal bagian akrosom rusak; (5) Spermatozoa abnormal bagian tengah menggembung; (6) Spermatozoa abnormal bagian ekor melengkung; (7) Spermatozoa abnormal bagian ekor bercabang.

## 2. Kualitas Spermatozoa

Kualitas spermatozoa meliputi 3 aspek yakni konsentrasi spermatozoa, morfologi spermatozoa, dan motilitas spermatozoa. Jumlah normal spermatozoa per ejakulat adalah 40 juta atau lebih. Fertilisasi dapat terjadi apabila konsentrasi spermatozoa dalam semen cukup. Seorang pria dianggap memiliki semen yang normal jika konsentrasi spermatozoa lebih dari 20 juta per ml dan apabila kurang dari 20 juta per ml maka dikatakan infertil atau oligozoospermia.

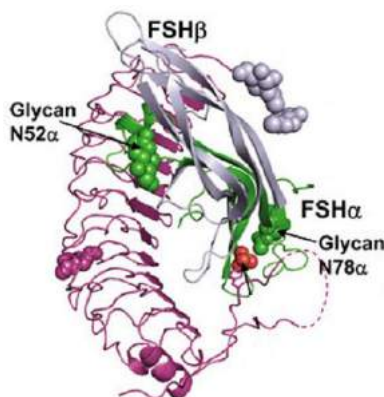
Morfologi spermatozoa dapat dilihat dari 2 aspek yakni normal atau abnormal, dan persentasenya. Morfologi spermatozoa normal memiliki kepala (berbentuk bulan sabit dan memiliki kait), leher, badan, dan ekor. Abnormalitas spermatozoa dapat dihitung dari jumlahnya yakni dengan menghitung spermatozoa abnormal dari 100 spermatozoa pada setiap ulangan. Bentuk spermatozoa normal yang jumlahnya kurang dari 50% disebut dengan teratozoospermia (WHO, 2010).

Motilitas spermatozoa merupakan salah satu aspek yang menentukan kualitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa dipengaruhi bentuk morfologi spermatozoa yang abnormal. Motilitas spermatozoa dapat dikatakan normal apabila jumlah spermatozoa yang motil lebih dari 50%. Perhitungan jumlah persentase motilitas spermatozoa dapat dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang motil dari 100 spermatozoa pada setiap ulangnya.

### C. Regulasi Hormon Reproduksi Melalui Aksis Hipotalamus-Hipofisis-Gonad

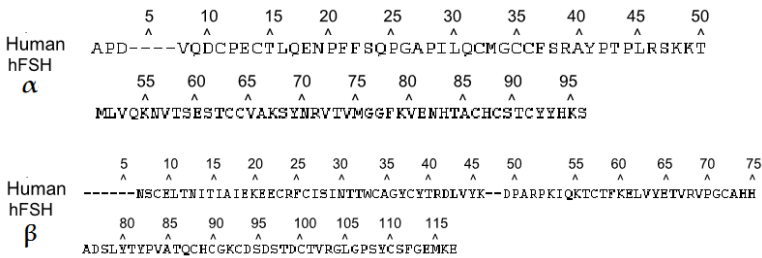
#### 1. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

FSH memiliki struktur heterodimer, yaitu dua sub unit berupa glikoprotein yang dihubungkan dengan ikatan non kovalen. Dua sub unit FSH yaitu sub unit  $\alpha$  dan  $\beta$ . Masing-masing sub unit memiliki oligosakarida yang terikat dengan ikatan hidroksil oksigen pada asam amino serine, threonine dan asparagin. Struktur FSH tertera pada Gambar 3.5.



**Gambar 3.5 Struktur FSH.** FSH terdiri atas sub unit  $\alpha$  (warna hijau) dan  $\beta$  (warna abu-abu) yang sedang berikatan dengan reseptornya (warna ungu).  
Sumber: Jiang dkk. (2014).

Struktur asam amino yang menyusun sub unit  $\alpha$  dan  $\beta$  pada manusia adalah sebagai berikut.



Sub unit  $\alpha$  memiliki jembatan disulfida pada residu sistein. Sedangkan pada sub unit  $\beta$  ada 12 residu sistein. Sub unit  $\alpha$  pada FSH memiliki kesamaan dengan sub unit  $\alpha$  pada LH, sedangkan sub unit  $\beta$  bersifat spesifik untuk hormon tertentu. Jadi yang membedakan struktur FSH dengan LH adalah sub unit  $\beta$ .

Aktivitas spesifik yang dimiliki hormon juga ditentukan oleh sub unit  $\beta$ . Pada FSH, sub unit  $\alpha$  disusun oleh 96 asam amino dan  $\beta$  disusun oleh 117 asam amino (lebih pendek dibanding LH).

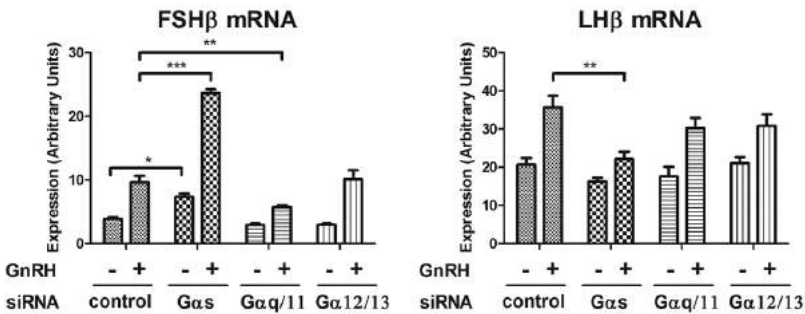
**a) Fungsi umum**

FSH berfungsi dalam gametogenesis, siklus menstruasi dan mendukung produksi spermatozoa. Target FSH adalah sel sertoli (untuk pembentukan ABP/ Androgen Binding Protein), sel leydig (untuk perkembangan), sel folikel (untuk pematangan dan pertumbuhan sel folikel serta proses ovulasi) dan sel granulosa (untuk pertumbuhan).

**b) Pengaturan produksi FSH dibandingkan produksi LH**

FSH diproduksi oleh kelenjar pituitary anterior. Pengaturan GnRH untuk memproduksi FSH melalui konsentrasi GnRH dan mengaktifkan protein  $G\alpha_{q/11}$ . Pada mamalia, ada empat macam  $G\alpha$ , yaitu:  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{q/11}$ ,  $G\alpha_{12/13}$  dan  $G\alpha_{i/o}$ . Masing-masing  $G\alpha$  yang aktif akan memicu efektor yang berbeda. Pada produksi FSH,  $G\alpha$  yang aktif adalah  $G\alpha_{q/11}$ .

Penelitian Choi dkk. (2012) secara in vitro menggunakan sel L $\beta$ T2 yang dibedakan dalam beberapa kelompok yaitu kontrol, sel yang ditekan ekspresi  $G\alpha_s$ , sel yang ditekan ekspresi  $G\alpha_{q/11}$ , sel yang ditekan ekspresi  $G\alpha_{12/13}$ . Sel kemudian diberi 1 nM GnRH lalu dianalisis dengan kuantitatif RT-PCR untuk melihat responnya dalam memproduksi LH maupun FSH (Gambar 3.6).

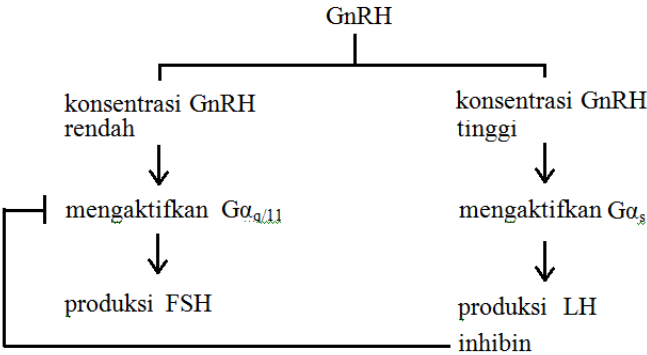


**Gambar 3.6 Hasil kuantitatif RT-PCR terhadap mRNA FSH dan mRNA LH.** Penelitian dilakukan pada empat kelompok sel yaitu kelompok kontrol, kelompok  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{q/11}$  dan  $G\alpha_{12/13}$  (Choi dkk., 2012).

Hasil penelitian menunjukkan kelompok sel L $\beta$ T2 yang ditekan ekspresi  $G\alpha_s$  mengurangi produksi mRNA LH sebesar 52%. Kelompok sel L $\beta$ T2 yang ditekan ekspresi  $G\alpha_{q/11}$  dan  $G\alpha_{12/13}$  tidak ada efek terhadap produksi mRNA LH. Kelompok sel L $\beta$ T2 yang

ditekan ekspresi  $G\alpha_{q/11}$  mengurangi produksi mRNA FSH sebesar 60% tetapi kelompok sel L $\beta$ T2 yang ditekan ekspresi  $G\alpha_{12/13}$  tidak ada efek terhadap produksi mRNA FSH. Oleh karena itu, produksi LH ditentukan oleh aktifnya  $G\alpha_s$  dan produksi FSH ditentukan oleh aktifnya  $G\alpha_{q/11}$ .

Pengaturan produksi FSH dan LH tertera pada Gambar 3.7.



**Gambar 3.7 Pengaturan Produksi FSH dan LH.**

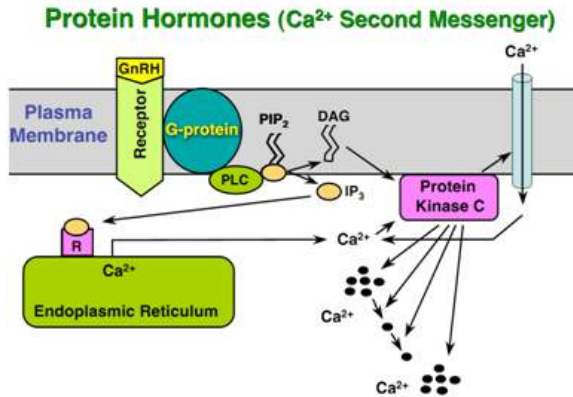
Ketika GnRH pada konsentrasi rendah akan menghasilkan FSH, sedangkan konsentrasi GnRH yang tinggi akan menghasilkan LH. Pengaturan ini terjadi karena pada konsentrasi yang berbeda, protein  $G\alpha$  yang aktif juga berbeda. Pada konsentrasi GnRH rendah, mengaktifkan  $G\alpha_{q/11}$  (yang memicu produksi FSH) dan konsentrasi inhibin berkurang. Pada konsentrasi GnRH tinggi dapat mengaktifkan  $G\alpha_s$  (untuk produksi LH) dan memproduksi inhibin berupa 12-O-tetradekanoilforbol 13-asetat yang mampu menekan produksi FSH.

Penelitian Bernard dkk. (2010) memperkuat pernyataan bahwa GnRH pada konsentrasi rendah memicu produksi FSH. GnRH yang berupa rangkaian peptida diproduksi lambat (setiap 2-4 jam) akan

memicu produksi FSH, sedangkan produksi GnRH setiap ½ jam akan memicu produksi LH. Frekuensi tersebut menjelaskan transisi produksi FSH dan LH selama siklus menstruasi. Pada frekuensi produksi setiap ½ jam maka dihasilkan GnRH lebih banyak sehingga memicu produksi LH.

Pengaturan produksi FSH dan LH berperan penting dalam proses dalam tubuh, termasuk proses reproduksi. Kelenjar pituitari anterior memproduksi FSH untuk menstimulus perkembangan spermatosit pada testis (pada jantan) dan perkembangan folikel pada ovarium (pada betina). Konsentrasi FSH yang tinggi dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel folikel. Sedangkan LH digunakan untuk memicu perkembangan oosit sehingga mengalami pembelahan meiosis menghasilkan oosit primer dan badan kutub. LH juga digunakan untuk diferensiasi sel teka dan sel granulosa menjadi sel luteal dari korpus luteum (disebut proses luteinisasi).

Mekanisme produksi FSH melalui aktivasi  $G\alpha_{q/11}$  sehingga mengaktifkan phospholipase C- $\beta$  (PLC) yang mampu memproduksi diacylglycerol (DAG) dan inositolphosphate sehingga konsentrasi  $Ca^{2+}$  meningkat dan akhirnya memicu produksi FSH. Lebih detail, reseptor GnRH merupakan kelompok *G-protein coupled receptors* (GPCRs) dengan 7 domain transmembran. Ketika GnRH diproduksi dalam konsentrasi tinggi berikatan dengan reseptor maka protein  $G\alpha_{q/11}$  aktif lalu memicu aktivasi Phospholipase C- $\beta$  (PLC). PLC bertugas untuk menghidrolisis  $PIP_2$  (fosfatidinositol 4,5-bifosfat) menjadi  $IP_3$  (inositol 1,4,5-trifosfat) dan bertugas untuk mengaktifkan DAG (1,2 -diasilgliserol) (Gambar 3.8).



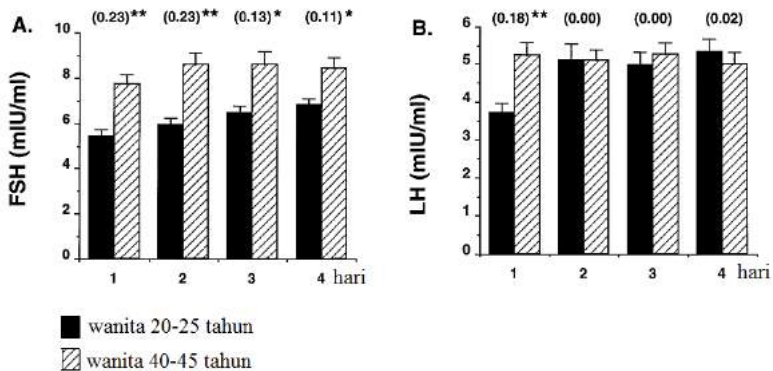
**Gambar 3.8.** Mekanisme produksi FSH melalui aktivasi  $G\alpha_{q/11}$ . Protein  $G\alpha_{q/11}$  memicu aktivasi PLC, DAG, dan  $IP_3$  mengakibatkan  $Ca^{2+}$  di sitoplasma meningkat. Sumber: Bernard dkk. (2010).

$IP_3$  yang terbentuk dapat berikatan dengan reseptor pada membran retikulum endoplasma (RE) sehingga memicu pengeluaran  $Ca^{2+}$  dari RE ke sitoplasma. DAG (1,2-diacylglycerol) mampu mengaktifasi protein kinase C (PKC) yang dapat memicu masuknya  $Ca^{2+}$  dari luar sel melalui protein transmembran. Reaksi-reaksi berturutan tersebut untuk menambah konsentrasi  $Ca^{2+}$  melalui  $IP_3$  dan protein kinase C. Tingkat konsentrasi  $Ca^{2+}$  meningkat sampai 1.000 kali semula.  $Ca^{2+}$  terikat pada *intermediet cytosolic calcium binding protein*, yaitu kalmodulin. Aktifnya kalmodulin (16 kDa) memicu inti sel untuk memproduksi hormon. Akhirnya terjadi pengeluaran FSH.

**c) Penelitian terkait produksi hormon FSH**

Konsentrasi FSH dan LH pada wanita mengalami perubahan ketika umur bertambah (Kim dkk., 2010), hal inilah yang mendasari penelitian tentang kaitan hormon dengan masa menopause pada

wanita. Penelitian Kim dkk. (2010) membuktikan bahwa pada wanita umur 40-45 tahun memiliki konsentrasi FSH lebih tinggi dibanding wanita umur 20-25 pada hari ke-1 sampai ke-4 di awal siklus menstruasi. Perbedaan konsentrasi FSH berkisar antar 1-3 mIU/ml menyebabkan fase folikuler awal terjadi lebih cepat pada wanita menopause (hari ke-1 sampai ke-4 di awal siklus menstruasi). Konsentrasi LH tidak ada perbedaan nyata antara wanita umur 40-45 tahun dengan wanita umur 20-25 tahun, kecuali pada hari pertama siklus menstruasi terjadi perbedaan LH sebesar 1 mIU/ml. Hasil penelitian tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.9.



**Gambar 3.9. Perbedaan Konsentrasi Hormon pada siklus menstruasi hari ke-1 sampai ke-4 pada wanita umur 20-25 tahun dan 40-45 tahun.** (A) Konsentrasi FSH dan (B) Konsentrasi LH. Sumber: Kim dkk. (2010).

Wanita berumur 40-45 tahun mulai kehilangan fungsi ovarium dalam efisiensi ovulasi, sekresi hormon, dan jumlah sel telur yang terus berkurang setiap siklus menstruasi. Penelitian Kim dkk. (2010) membuktikan bahwa konsentrasi hormon FSH meningkat di fase awal



folikuler menunjukkan wanita mulai memasuki tahap menopause. Pengaruh FSH adalah meningkatkan pertumbuhan dan pematangan sel folikel.

Perubahan konsentrasi FSH dan LH juga terjadi pada mamalia jantan. Penelitian Babu *et al.* (2004) membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi FSH dan LH di atas normal dapat menyebabkan pejantan mengalami infertil/tidak berfungsi normal pada proses spermiogenesis maupun mengubah bentuk spermatozoa sehingga tidak berfungsi optimal. Pada jantan infertil yang mengalami azospermia, oligozoospermia dan varicocele memiliki hormon yang lebih tinggi berkisar 4-12 mIU/ml FSH dan 5-8 mIU/ml LH. Perbedaan tersebut menyebabkan kegagalan fungsi testis yang memicu infertil pada jantan. Data konsentrasi FSH, LH dan testosteron pada jantan fertil dan infertil tertera pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Konsentrasi FSH, LH dan Testosteron pada Jantan fertil dan Infertil.

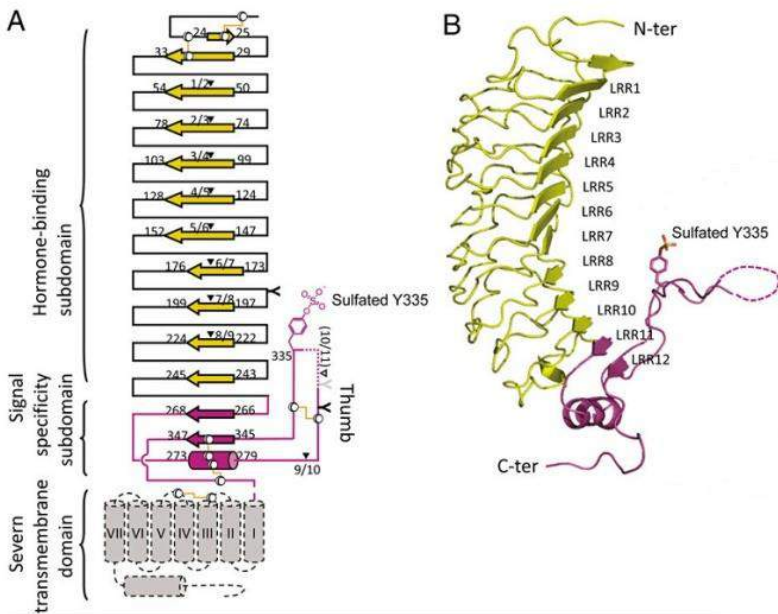
No	Kelompok	Jumlah subjek	Rerata kadar hormon ± SD		
			FSH (miu/ml) (kisaran)	LH (miu/ml) (kisaran)	Testosteron (ng/ml) (kisaran)
1.	Pria fertil (kontrol)	35	8,50 ± 5,46 (3,21-22,80)	7,88 ± 3,63 (3,21-18,45)	5,01 ± 1,31 (3,18-8,27)
2.	Pria infertil				
a.	Azoospermia	35	12,60 ± 12,19* (3,08-22,80)	12,42 ± 9,86* (2,09-46,75)	4,94 ± 0,98 (2,96-6,78)
b.	Oligozoospermia	35	12,96 ± 9,36* (3,94-42,64)	15,05 ± 9,28* (3,90-42,11)	4,89 ± 0,95 (2,91-7,25)
c.	Varikokel	11	20,29 ± 3,80* (4,29-21,59)	12,98 ± 7,36* (4,08-30,61)	5,07 ± 0,09 (3,88-6,82)

\* $p < 0,05$

Sumber: Babu dkk. (2004)

**d) Reseptor FSH pada sel target.**

Reseptor FSH berada di ovarium, tepatnya di permukaan sel granula dan di testis, tepatnya di permukaan sel sertoli. Reseptor FSH berupa protein transmembran tersusun atas glikoprotein yang ikatannya diperkuat dengan adanya fosfolipid. Reseptor tersebut dilengkapi dengan protein G. Apabila saling berikatan, keduanya dapat memunculkan signal transduksi untuk memberikan efek ke sel target (tertera pada Gambar 3.10).



**Gambar 3.10 Reseptor FSH.** (A) Urutan Asam Amino (B) Struktur Tiga Dimensi Reseptor FSH. Sumber: Jiang dkk. (2014).

Reseptor FSH termasuk kelompok *G-protein coupled receptors* (GPCRs) dengan 7 domain transmembran. Terbentuk ikatan glikosida pada N<sup>52</sup> dan N<sup>78</sup> di sub unit  $\alpha$  dan ikatan pada N<sup>7</sup> dan N<sup>27</sup> di sub unit

$\beta$ . Reseptor FSH memiliki ikatan tirosin sulfat yang merupakan ikatan penting antara reseptor dengan hormon FSH pada Tyr<sup>385</sup>.

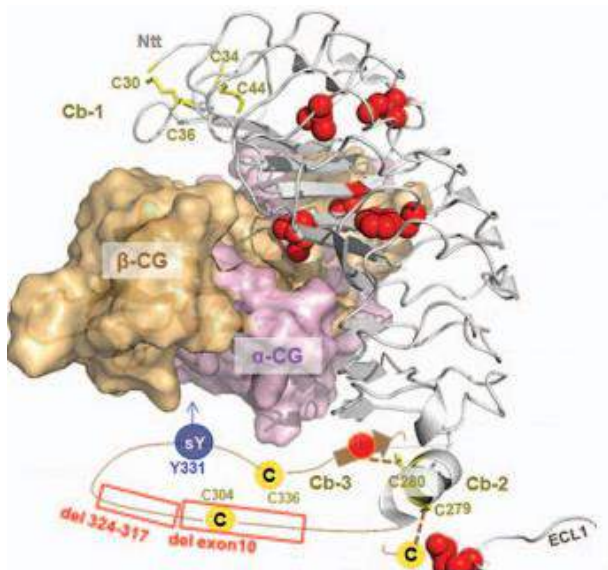
#### e) Penghambatan produksi FSH

Kadar FSH diturunkan melalui mekanisme umpan balik negatif oleh testosteron, DHT ( $5\alpha$ -dihidrotestosteron), estradiol/estrogen dan inhibin serta AMH. Penelitian membuktikan, ada beberapa molekul yang bertindak sebagai inhibitor dalam produksi FSH adalah inhibin, follistatin dan estrogen. Inhibin merupakan protein penghambat produksi FSH. Inhibin termasuk famili *Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ). Inhibin memiliki struktur dimer, terdiri atas dua sub unit yaitu sub unit  $\alpha$  (18 kDa) dan salah satu dari sub unit  $\beta$ A atau sub unit  $\beta$ B (14 kDa) menghasilkan inhibin A dan inhibin B. Menurut Bernard dkk. (2010) inhibin pada wanita diproduksi oleh sel folikel. Pada pria, inhibin diproduksi oleh sel sertoli diinduksi oleh kadar LH yang tinggi. Kemudian inhibin ditranspor menuju kelenjar pituitari anterior. Mekanisme penghambatan produksi FSH dengan mengubah ekspresi reseptor GnRH dan FSH. Inhibin menghambat produksi FSH melalui ICER (inducible cAMP early repressor), yaitu promoter intron yang bersifat kompetitif terhadap gen target. Penelitian inhibin dimulai dari purifikasi inhibin dari cairan folikuler sampai mengukur level inhibin selama siklus menstruasi dan pada waktu wanita hamil.

Efek inhibin dapat ditiadakan oleh efek aktivin. Aktivin dapat memicu produksi FSH (Gambar 3.11). Aktivin merupakan signal intraseluler yang mampu mempercepat ekspresi gen pengkode FSH.



masing sub unit memiliki oligosakarida yang terikat pada asam amino. Pada ujung C terikat oligosakarida dengan 6 ikatan oksigen. Fungsi oligosakarida untuk mengenali reseptor pada sel target dan untuk menginduksi signal kimia sebagai *second messenger*. LH terdiri atas dua sub unit, yaitu sub-unit  $\alpha$  tersusun atas 96 asam amino dengan jembatan disulfida pada residu sistein dan sub-unit  $\beta$  tersusun atas 120 asam amino (Gambar 3.12).



**Gambar 3.12 Struktur Luteinizing hormone (LH).** LH terikat pada reseptor (sub unit  $\alpha$  warna ungu, sub unit  $\beta$  warna coklat). Sumber: Troppmann dkk. (2013).

Sub unit  $\beta$  pada LH disusun oleh urutan asam amino sebagai berikut.  
 LH $\beta$  Phe-Gln-Leu-Pro-Lys-Cys-Gln-Leu-Ile-Lys-Gln-Met-Val-Ser-Leu-Glu-.

### **a) Fungsi umum LH**

Pada mamalia betina, LH berfungsi untuk mematangkan sel granulosa pada sel folikel yang memicu perkembangan sel folikel, produksi estrogen dan ovulasi. Setelah sel telur melewati oviduk maka LH berperan dalam pembentukan korpus luteum, memicu produksi dan sekresi progesteron. Pada mamalia jantan, LH berperan pada sel leydig dalam memicu produksi dan sekresi androgen. Produksi androgen tersebut pada akhirnya mempengaruhi spermatogenesis.

LH memicu perubahan androgen yang diproduksi sel teka menjadi estradiol yang nantinya berfungsi untuk karakter sekunder pada wanita. Estradiol juga dibentuk melalui aromatisasi oleh sel granulosa selama fase menstruasi yaitu fase folikular. Selama tahap tengah menstruasi, terjadi lonjakan LH yang digunakan untuk maturasi sel folikel dan ovulasi. Selanjutnya fase luteal, LH digunakan untuk pembentukan korpus luteum dan sekresi progesteron. Jadi LH digunakan untuk ovulasi dan pembentukan progesteron memicu pertumbuhan endometrium sehingga siap untuk implantasi. Setelah fase fertilisasi, peran LH digantikan oleh CG (Chorionic Gonadotrophin).

Pada mamalia jantan, LH memicu produksi androgen (testosteron) pada sel leydig dengan mengaktifkan enzim 17- $\beta$  hidroksisteroid yang mengubah androstenedione menjadi testosteron. Testosteron berperan dalam spermatogenesis sekaligus sebagai umpan balik negatif bagi produksi LH dan testosteron mampu mengaromatisasi estradiol, sehingga produksi LH turun.

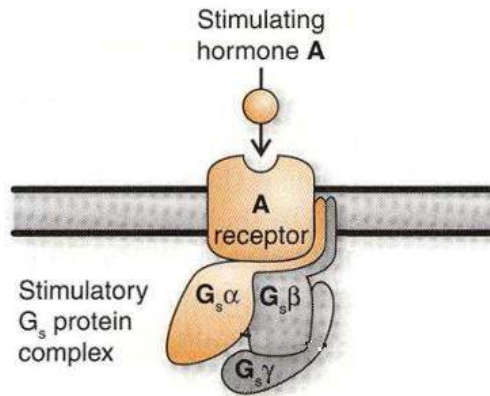
Produksi LH yang rendah menyebabkan produksi hormon reproduksi turun, perkembangan yang tidak normal pada sel folikel dan sel leydig, ketidakmampuan ovulasi dan luteinasi. Kadar LH yang rendah dalam darah menyebabkan beberapa penyakit seperti *hypogonadotropic eunuchoidism*, amenorrhea primer, sindrom Sheehan, sindrom Chiari-Fommel, anorexia nervosa, sindrom adrenogenital, disfungsi luteal dan kraniofaringioma. Produksi LH yang berlebih dapat menyebabkan naiknya produksi estrogen dan androgen; ketidaknormalan sel folikel dan sel leydig; tumor sel granulosa, terjadi super ovulasi dan mempercepat perkembangan seksual. Kadar LH yang tinggi dalam darah menyebabkan beberapa penyakit seperti Azospermia, sindrom Klinefelter, sindrom Turner, ciri sekunder remaja dan menopause datang lebih cepat, sindrom polisistik ovarium (sindrom Stein-Leventhal), terganggunya pertumbuhan dan perkembangan ovarium.

#### **b) Mekanisme produksi LH**

Penelitian kadar produksi LH telah dilakukan pada tikus. Pada keadaan normal, tikus jantan memproduksi LH di kelenjar pituitari anterior sebanyak 6-7  $\mu\text{g/kelenjar}$  sedangkan pada tikus betina sebanyak 3-4  $\mu\text{g/kelenjar}$ . Pada tikus betina kadar LH meningkat ketika memasuki masa estrus.

Produksi FSH diatur oleh protein  $G\alpha_{q/11}$  sedangkan pada produksi LH ini diatur oleh protein  $G\alpha_s$ . Pengaturan GnRH untuk memproduksi LH melalui konsentrasi GnRH dan mengaktifkan protein  $G\alpha_s$ . Pada mamalia, ada empat macam  $G\alpha$ , yaitu:  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{q/11}$ ,

$G_{\alpha_{12/13}}$  dan  $G_{\alpha_{i/o}}$ . Masing-masing  $G_{\alpha}$  yang aktif akan memicu efektor yang berbeda. Pada produksi LH,  $G_{\alpha}$  yang aktif adalah  $G_{\alpha_s}$  (tertera pada Gambar 3.13).

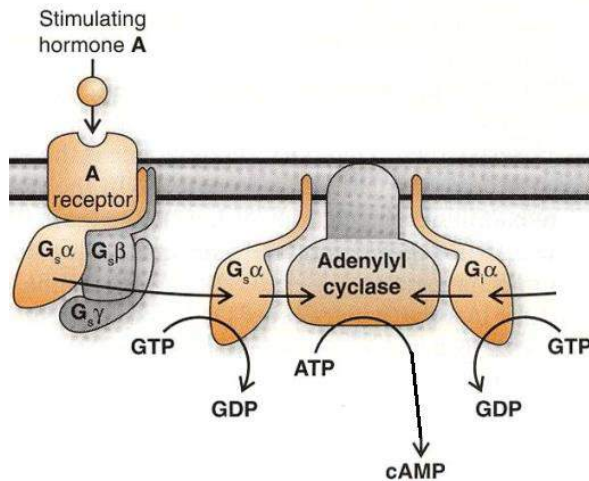


**Gambar 3.13. Aktivasi LH oleh Protein  $G_{\alpha_s}$ .** Sumber: Despopoulos & Silbernagl (2009).

Aktivasi protein  $G_{\alpha_s}$  memicu aktifnya adenyl cyclase untuk pembentukan cAMP sebagai second messenger pembentukan LH (*Luteinizing Hormone*). Proses detailnya, reseptor GnRH menangkap GnRH yang diproduksi oleh hipotalamus. Kemudian terjadi perubahan konformasi reseptor yang melibatkan daerah sitoplasmik reseptor menjadi aktif terhadap protein G. Selanjutnya, subunit  $G_{\alpha_s}$  akan melepaskan GDP untuk menggantikan GTP. Proses tersebut juga mengubah kompleks protein G untuk mengaktifkan  $G_{\alpha_s}$  (terpisah dari subunit  $\beta\gamma$ ). Ketika GnRH berikatan dengan reseptor pada ujung N dengan ikatan hidrogen diperkuat ikatan disulfide sehingga memecah ikatan antara sub unit  $\alpha$  dengan sub unit  $\beta$  pada protein G.  $G_{\alpha_s}$  aktif memicu enzim adenyl cyclase untuk aktif dan menghasilkan cyclic



adenosine monophosphate (cAMP) (Gambar 3.14). Selanjutnya cAMP mengaktifkan PKA (cAMP dependent protein kinase) yang akan mengkatalisis fosforilasi protein CREB (cAMP responsive element binding protein) dan cAMP juga mengaktifkan channel ion  $Ca^{2+}$ . CREB adalah *transcription factor* yang berinteraksi dengan CRE (bagian DNA) untuk melaksanakan transkripsi gen luteinizing hormone (LH).

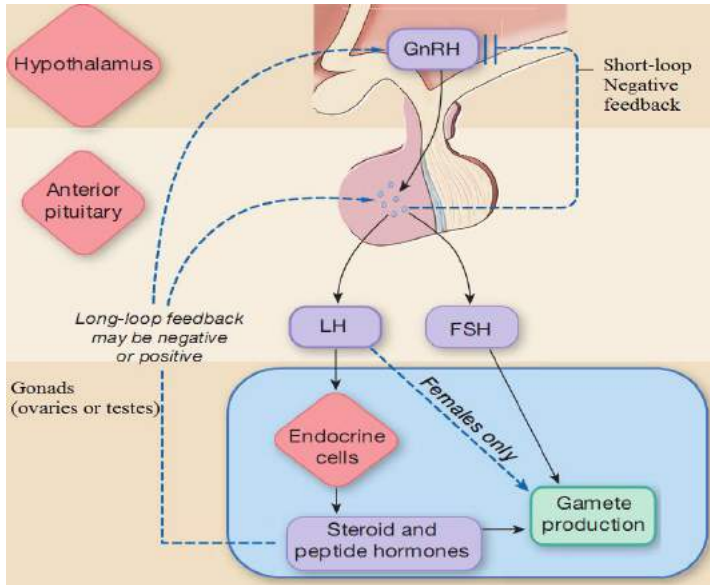


**Gambar 3.14. Protein  $G_s$  memicu produksi cAMP.** Sumber: Desopoulos & Silbernagl (2009).

### c) Penelitian yang terkait produksi LH

Pada subbab ini dibahas mengenai mekanisme feed back jalur panjang dan jalur pendek pada produksi LH. Kelenjar pituitari anterior menghasilkan LH dan FSH yang mempengaruhi kerja di gonad (ovarium atau testis). Produksi hormon steroid dan peptida melibatkan mekanisme jalur panjang (*long-loop feedback*) yang bisa bersifat negatif maupun positif/memicu produksi. Sedangkan produksi GnRH

di hipotalamus dihambat oleh produk kelenjar pituitari anterior melalui mekanisme umpan balik negatif jalur pendek (*short-loop negative feedback*). Mekanisme umpan balik LH tertera pada Gambar 3.15.



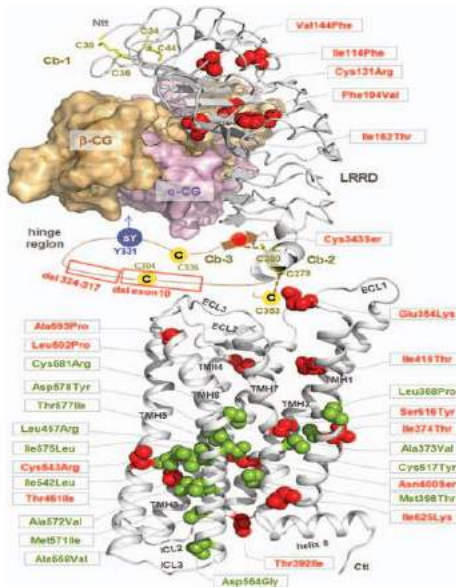
Gambar 3.15 Umpan balik Negatif LH. Sumber: Silverthorn (2012).

#### d) Reseptor LH pada sel target.

Reseptor LH terletak di membran sel teka ovarium, sel granulosa, dan sel luteal, sedang pada mamalia jantan letaknya di sel leydig pada testis. Reseptor LH pada sel target merupakan kelompok *G-protein coupled receptors* (GPCRs) dengan 7 domain transmembran. Ada lengkung yang berada di arah luar (disebut exoloop) dan lengkung reseptor yang berada di sitoplasma sel target (disebut cytoloop). Pada reseptor LH ada 3 exoloop dan 3 cytoloop. Ada asam

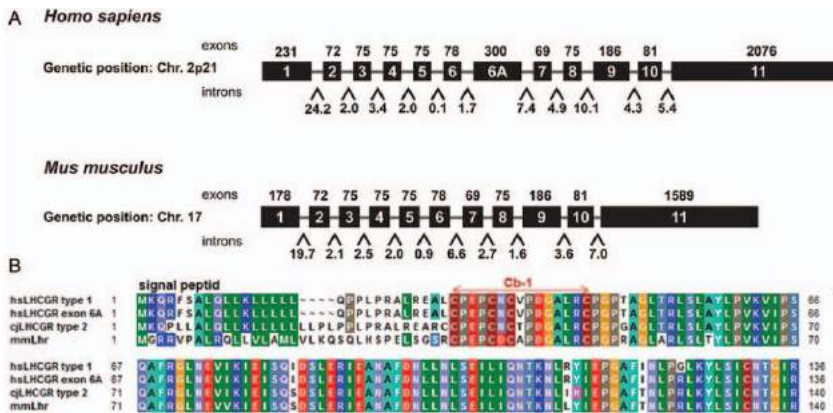
amino tertentu yang berperan penting dalam pengikatan antara LH dengan reseptor sekaligus memunculkan signal kimia. Lysin (Lys<sup>583</sup>) pada exoloop ketiga memiliki peranan mengaktifkan protein  $G\alpha_s$  yang nantinya mengaktifkan *adenyl cyclase* untuk membentuk cAMP.

Reseptor LH termasuk superfamili *guanine nucleotide binding protein coupled receptor*, sama halnya dengan resptor pada FSH dan TSH/Tyroid stimulating hormone. Reseptor LH terdiri atas 699 asam amino, berikatan dengan sub unit  $\alpha$  dengan ikatan nonkovalen pada Asp<sup>330</sup> dan Tyr<sup>331</sup> di daerah hinge (Gambar 3.16). Ikatan tyrosin sulfat pada Tyr<sup>331</sup> menjadi ikatan penting antara hormon dan reseptor. Selain itu, reseptor LH memiliki jembatan sistein ekstraseluler pda Cys<sup>279</sup> dan Cys<sup>280</sup> serta memiliki jembatan disulfida.



**Gambar 3.16** Ikatan LH dengan Reseptor pada domain LRRD (*Leucine Rich Repeat Domain*). Sumber: Troppmann dkk. (2013).

Ada perbedaan letak gen pengkode reseptor LH pada manusia dan mencit. Gen reseptor LH terdiri atas 11 ekson dan 10 intron yang dikode pada kromosom 2p21 (pada manusia) dan kromosom 17 (pada mencit) (Gambar 3.17).



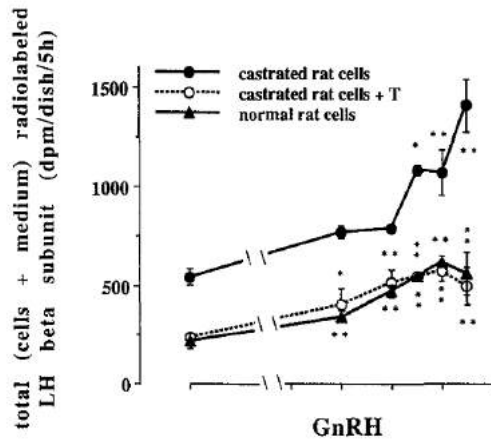
**Gambar 3.17** Kromosom pengkode reseptor LH. Pada manusia terletak di 2p21 dan pada mencit di kromosom 17 Sumber: Troppmann dkk. (2013).

**e). Penghambatan Produksi LH**

Perubahan konsentrasi GnRH berpengaruh terhadap konsentrasi LH. Selain GnRH, produksi hormon LH dihambat oleh DHT dan testosteron, sedangkan molekul lain yang bisa menghambat sekaligus bisa memicu produksi LH adalah estrogen dan progesteron.

Tilbrook dan Clarke (2001) melaporkan bahwa pada hipotalamus ada reseptor androgen dan estrogen sehingga keduanya dapat memberikan efek pada produksi GnRH dan LH. Gomez-sanchez dkk. (2002) melaporkan bahwa pada jalur panjang, hormon testosteron memiliki kemampuan menghambat produksi LH. Penelitian mereka menggunakan tiga kelompok hewan coba, yaitu (1) tikus yang dikebiri; (2) tikus yang dikebiri disuntikkan testosteron dan (3) tikus

normal. Hasil penelitian Gomez-sanchez dkk. (2002) bahwa tikus yang dikebiri mampu menghasilkan hormon LH jauh lebih tinggi dan berbeda nyata dengan dua kelompok tikus lainnya (Gambar 3.18). Tilbrook dan Clarke (2001) menyebutkan bahwa testosteron mampu menurunkan konsentrasi LH tanpa memberi pengaruh pada mRNA untuk GnRH.



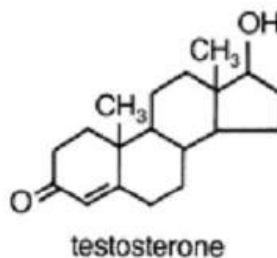
**Gambar 3.18** Konsentrasi LH meningkat pada tikus yang dikebiri Sumber: Gomez-sanchez dkk. (2002)

Senyawa turunan testosteron memberikan pengaruh yang berbeda. DHT ( $5\alpha$ -dihydrotestosteron) mampu menghambat produksi LH, sedangkan estradiol mampu menghambat sekaligus memicu produksi LH. Padahal keduanya berasal dari testosteron yang mengalami aromatisasi menjadi estradiol- $17\beta$  lalu mengalami reduksi menjadi  $5\alpha$ -dihydrotestosteron. Apabila konsentrasi estrogen tinggi dan progesteron tinggi maka produksi LH tinggi.

### 3. Testosteron

Hormon testosteron merupakan hormon seks yang penting pada individu jantan. Hormon ini adalah hormon steroid derivat molekul prekursor kolesterol, disekresi oleh selleydig di bawah pengaruh LH. Sel leydig mengandung enzim dengan kadar tinggi yang dibutuhkan untuk perubahan langsung kolesterol menjadi testosteron. Produksi testosteron sebagian akan disekresikan ke dalam darah dan akan diedarkan ke sel-sel target. Sebagian lagi akan masuk ke tubulus seminiferus dan berperan penting dalam proses spermatogenesis (Silverthorn., 2012).

Testosteron memiliki 19 atom C diturunkan dari kolesterol dengan ciri khas berupa isoprene (C-5) yang membentuk gugus keton. Struktur hormon testosteron tertera pada Gambar 3.19 sebagai berikut.



**Gambar 3.19 Struktur Hormon Testosteron.** Sumber: Muller (1997).

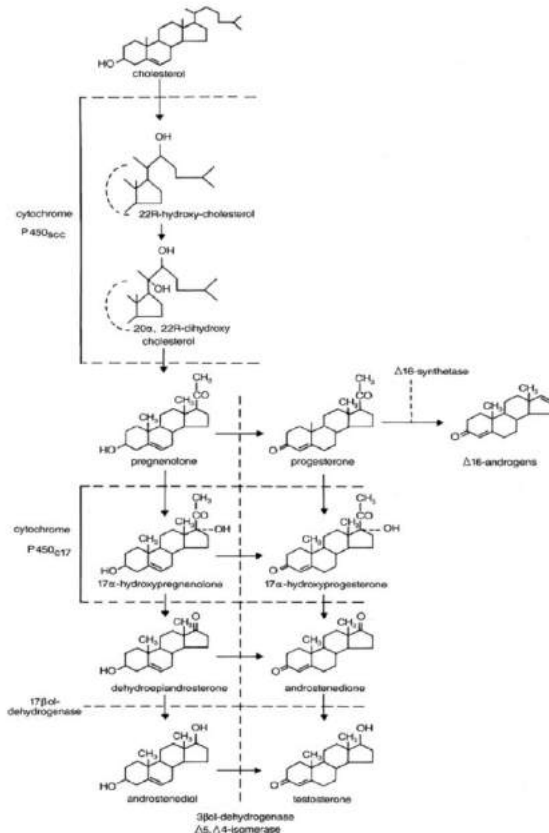
Testosteron termasuk dalam kelompok hormon steroid yang dihasilkan oleh sel-sel yang memiliki retikulum endoplasma dalam jumlah besar. Testosteron bersifat lipofilik dan dapat berdifusi menembus membran sel tapi tidak dapat menembus *blood-protein barrier*. Kemampuan difusi menembus membran ini menyebabkan hormon testosteron tidak dapat disimpan dalam vakuola sehingga testosteron diproduksi sesuai kebutuhan. Ketika ada stimulus maka

prekursor di sitoplasma segera diubah menjadi hormon yang aktif. Difusi terjadi karena produksi hormon di sitoplasma meningkat, konsentrasi di dalam sel lebih tinggi daripada di luar sel sehingga memungkinkan testosteron berdifusi sederhana menuju luar sel.

#### a) Sintesis testosteron

Testosteron dibentuk oleh sel Leydig. Awalnya asetat dan kolesterol diubah menjadi prekursor yaitu pregnenolon. Prekursor kolesterol diambil dari plasma lipoprotein atau dari luar sel berupa LDL protein. Kolesterol dibawa ke membran mitokondria dengan Sterol Carrier Protein<sub>2</sub> (SCP<sub>2</sub>) lalu dari membran luar dibawa ke membran dalam mitokondria oleh *Steroidogenesis Activator Protein* (StAR). Reaksi kolesterol (C<sub>27</sub>) diubah menjadi pregnenolon (C<sub>21</sub>) terjadi di membran dalam mitokondria. Reaksi ini memerlukan energi yang diperoleh dari reduksi NADPH.

Kemudian pregnenolon ditransfer ke retikulum endoplasma untuk diubah menjadi progesteron, androstenedion dan akhirnya menjadi testosteron. Pembentukan testosteron dari pregnenolon membutuhkan enzim 17 $\alpha$ -hidroksilase, 17,20-desmolase, 17-ketosteroid reduktase, 17 $\beta$ -ol dehidrogenase dan 3 $\beta$ -hidroksi steroid dehidrogenase. Tahapan biosintesis testosteron tertera pada Gambar 3.20.



**Gambar 3.20 Biosintesis Testosteron.** Sumber: Muller (1997)

*Rate limiting step* (reaksi penentu) yaitu androstenedione direduksi oleh enzim  $17\beta$ -ol dehydrogenase menjadi testosteron. Apabila tahap ini dihambat maka produksi testosteron juga terhambat. Pengaruh LH terjadi pada reaksi perubahan kolesterol, yaitu LH melalui *second messenger* berupa cAMP dapat memicu pembentukan enzim di membran dalam mitokondria yang mengubah kolesterol menjadi pregnenolon.

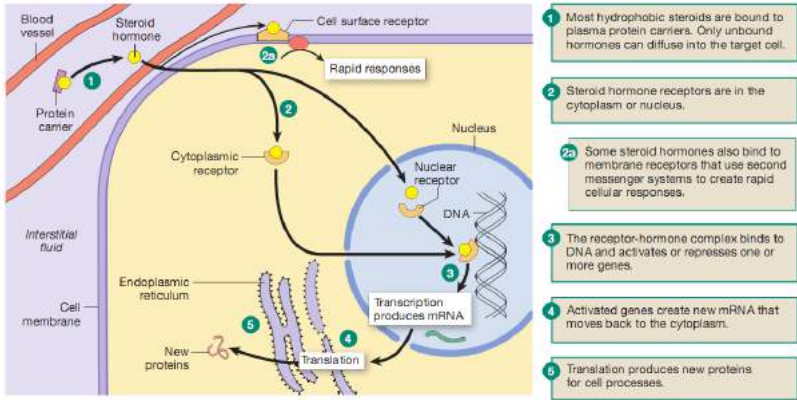


## **b) Fungsi testosteron**

Fungsi hormon testostosterone adalah seksual differensiasi pada janin laki-laki, spermatogenesis (pembentukan spermatozoa), pertumbuhan spermatozoa, untuk mengatur fungsi genitalia, prostat, dan seminalis serta mengatur sekresi hormon gonadotropin (GnRH). Testosteron juga menginduksi karakter seksual sekunder pada pria, yaitu distribusi rambut, pertumbuhan fisik, pembesaran laring (perubahan suara), dll.

## **c) Transpor testosteron**

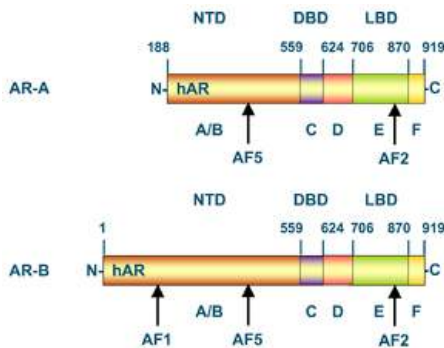
Hormon testosteron tidak dapat larut dalam plasma maupun cairan tubuh sehingga harus diikat oleh protein pembawa. Hormon testosteron memiliki protein pembawa berupa ABP (Androgen Binding Protein) yang dihasilkan oleh sel sertoli. Awalnya testosteron diproduksi oleh sel leydig lalu berdifusi ke sel sertoli. Testeoteron membentuk kompleks dengan ABP sehingga mampu menembus blood-protein barrier menuju ke lumen tubulus seminiferus untuk menimbulkan efek. Keuntungan lain adanya ABP adalah testosteron terhindar dari degradasai oleh enzim. Akibatnya testosteron memiliki masa hidup yang lebih panjang. Proses transpor testosteron sebagai kelompok hormon steroid dijabarkan pada Gambar 3.22.



**Gambar 3.21** Transpor Testosteron sebagai kelompok hormon steroid. Sumber: Silverthorn (2012).

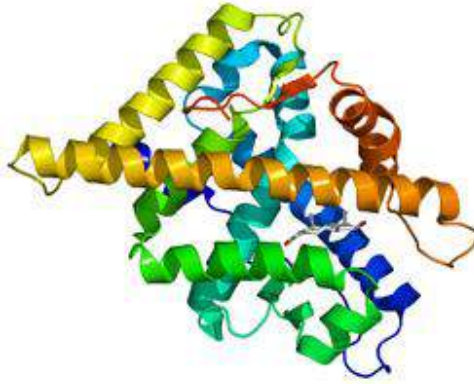
**d) Reseptor testosteron pada sel target**

Reseptor testosteron berada di inti dan sitoplasma. Pada inti sel termasuk NR3C4 (Nuclear Recptor subfamily 3, group C, member 4). Kemudian mekanisme aksi hormon testosteron adalah terikat pada faktor transkripsi DNA, selanjutnya menginisiasi traslasi dan transkripsi gen spesifik. Gen pengkode reseptor testosteron memiliki isoform yaitu AR-A dengan 87 kDa dan AR-B dengan 110 kDa (Gambar 3.23). Pada ujung N AR-A mengalami pembengkokan dan kehilangan 187 asam amino.



**Gambar 3.22** Gen pengkode reseptor testosteron. Sumber: Muller (1997).

Reseptor testosteron memiliki aktivitas pengganti pada residu 360-485 dan terjadi ikatan pada residu 101-370 yang nantinya memberikan efek pada transkripsi DNA (Gambar 3.24).



**Gambar 3.23 Struktur Reseptor testosteron.** Sumber: Muller (1997)

### **e) Regulasi testosteron**

Produksi testosteron adalah 4-10 mg per hari pada pria dewasa. Hormon ini masuk ke pembuluh darah dan limfe. Konsentrasi pada vena testicular adalah 80 ng/ml dengan kecepatan aliran 17 ml/menit sedangkan pada pembuluh limfe 50 ng/ml dengan kecepatan aliran 0,2 ml/menit. Testosteron yang mengalir ke pembuluh limfe dan darah digunakan untuk mengatur sekresi hormon gonadotropin (GnRH) dan menginduksi karakter seksual sekunder pada pria, yaitu distribusi rambut, pertumbuhan fisik, pembesaran laring (perubahan suara), dll.

Produksi testosteron dapat meningkat setelah dipicu oleh IGF. Keberadaan IGF meningkatkan pengikatan LH ke reseptor sehingga meningkatkan jumlah cAMP yang memberikan efek ke sel leydig untuk memproduksi testosteron. Selain itu, ada beberapa hormon yang

mempengaruhi produksi testosteron. Hormon thyroid dapat memicu perkembangan sel leydig dan menstimulus pembentukan StAR yang mendukung transpor kolesterol ke membran dalam mitokondria dalam proses pembentukan pregnenolone. Pengaruh yang berlawanan dihasilkan oleh glucocorticoid yang dapat menghambat pembentukan enzim  $17\beta$ -ol-dehydrogenase (enzim kunci pembentukan testosteron) sehingga menghambat produksi testosteron.

## BAB IV

### PERAN SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA (PE)

Susu kambing PE memiliki berbagai manfaat pada aspek reproduksi. Berikut merupakan sebuah penelitian terkait pengaruh susu kambing PE terhadap kualitas spermatozoa yang meliputi: konsentrasi, morfologi, dan motilitas spermatozoa pada mencit. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak kelompok. Penelitian yang telah dilakukan menggunakan 4 kelompok meliputi 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan melakukan 6 kali ulangan.

Kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) dengan rincian kelompok perlakuan I atau P1 diberi asupan susu kambing PE dosis 0,25 ml/20 gram BB, kelompok perlakuan 2 diberi asupan susu kambing PE dosis 0,5 ml/20 gram BB, dan kelompok perlakuan 3 diberi asupan susu kambing PE dosis 0,75 ml/ 20 gram BB. Satu kelompok kontrol tidak diberi asupan susu kambing PE. Ringkasan rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Ringkasan Rancangan Percobaan**

No	Perlakuan	Pemberian Asupan Susu Kambing PE
1	P1	0,25 ml/20 gram BB
2	P2	0,5 ml/20 gram BB
3	P3	0,75 ml/ 20 gram BB
4	K	-

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis susu kambing PE, variabel terikatnya adalah kualitas spermatozoa yang meliputi kuantitas, morfologi, dan motilitas spermatozoa, dan variabel kontrolnya adalah jenis pakan, umur, berat badan, dan jenis kelamin.

Objek penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur *Balb/c* dengan umur 8-10 minggu dan berat  $22 \pm 2$  gram.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Struktur Perkembangan dan Taksonomi Hewan FMIPA Universitas Negeri Malang dari bulan Januari sampai Februari 2015. Alat dan bahan yang diperlukan selama penelitian, yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2 Alat dan Bahan yang Diperlukan dalam Penelitian**

Alat	Bahan
1. Neraca Digital	1. Mencit Jantan dengan umur 8 Minggu
2. Mikroskop	2. Pewarna Eosin 1%
3. Alat Bedah	3. Nigrosin 10%
4. Papan Bedah	4. Akuabides
5. Kandang Mencit dan Tempat Minum	5. NaCl 0,9%
6. <i>Beaker Glass</i>	6. Kaca Benda
7. Gelar Ukur	7. Kaca Penutup
8. Gelas Alroji	8. Entellan
9. Cawan Petri	9. Tisu
10. Pipet Tetes	10. Kapas
11. <i>Syringe</i> 3 ml	11. Air
12. <i>Feeding tube</i> Fr 3.5	12. Pakan ternak pellet susu A
13. <i>haemositometer improved neubauer</i>	13. Susu kambing PE

#### **A. Tahapan Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa dan Kadar Testosteron**

Pemeriksaan kualitas spermatozoa mencit, antara lain: persiapan hewan coba, penentuan dosis perlakuan, perlakuan hewan coba, dan pembuatan suspensi serta pemeriksaan kualitas spermatozoa.

Pemeriksaan kadar testosteron mencit, yaitu: aklimasi mencit, penentuan dosis, pembuatan preparat histologi testis, pengamatan diameter testis, dan pengukuran kadar hormon testosteron.

Berikut rincian tahapan penelitian pemeriksaan kualitas spermatozoa dan kadar testosteron mencit.

### **1. Persiapan Hewan Coba**

Mencit jantan ditempatkan pada 20 kandang (kandang terbuat dari propilen dan diberi alas sekam) dengan kandang diisi 1-2 ekor mencit jantan. Selanjutnya pakan pellet susu A dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

### **2. Penentuan Dosis Perlakuan**

Melakukan konversi dosis terlebih dahulu pada tikus yakni 20 ml/kg atau 4 ml/200 gram (konversi dari tikus ke mencit adalah 0,14. Selanjutnya, melakukan perkalian dosis tikus sebesar 4 ml/200 gram dengan faktor koreksi 0,14, sehingga diperoleh dosis perlakuan pada mencit adalah sebesar 0,56 ml/20 gram. Dosis perlakuan pada penelitian ini berdasarkan perhitungan adalah sebagai berikut.

- P1: pemberian dosis susu kambing PE 0,25 ml/20 gram BB mencit
- P2: pemberian dosis susu kambing PE 0,5 ml/20 gram BB mencit
- pemberian dosis susu kambing PE 0,75 ml/20 gram BB mencit
- K: sebagai kontrol tanpa asupan susu kambing PE (di *gavage* dengan akuabides)

### **3. Perlakuan Hewan Coba**

Susu kambing PE dilakukan secara *gavage* dan dilakukan setiap hari selama 36 hari dengan ketentuan

- 1) Kelompok A sebagai perlakuan kontrol dengan tidak diberi asupan susu kambing PE.

- 2) Kelompok B diberi asupan susu kambing PE dengan dosis 0,25 ml/20 gram BB.
- 3) Kelompok C diberi asupan susu kambing PE dengan dosis 0,5 ml/20 gram BB.
- 4) Kelompok D diberi asupan susu kambing PE dengan dosis 0,75 ml/20 gram BB.

#### **4. Pembuatan Suspensi dan Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa**

Setelah pemberian susu kambing PE selama 36 hari maka di hari ke 37 dilakukan pemeriksaan kualitas spermatozoa dengan rincian sebagai berikut.

##### **a) Kuantitas Spermatozoa**

Mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher dan kemudian dilakukan pembedahan. Mengambil epididimis bagian kauda dan membersihkannya dari lemak. Memasukkan epididimis kauda ke dalam cawan petri yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 1 ml. Mencacah epididimis dengan skalpel hingga cairan menjadi keruh.

Suspensi yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung konstantasi, morfologi, dan motilitas spermatozoa (dengan hemasitometer *improved neubauer* dengan menghisap suspensi spermatozoa sampai tanda 0,5 kemudian mengisap larutan NaCl 0,9% sampai tanda 101 dan dikocok perlahan). Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan menghitung jumlah spermatozoa.

##### **b) Morfologi Spermatozoa**

Meneteskan sediaan spermatozoa di atas kaca benda dan menambahkan eosin 1% dan nigrosin 10%. Mengapuskan pada kaca



benda dan dikeringanginkan. Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Mengambil data morfologi spermatozoa dengan menghitung jumlah spermatozoa normal dan abnormal per 100 spermatozoa menggunakan *hand counter*. Mengulangi perhitungan pada apusan yang berbeda dan hasilnya di rata-rata.

#### **c) Motilitas Spermatozoa**

Meneteskan satu tetes suspensi spermatozoa pada kaca benda. Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Menghitung jumlah spermatozoa yang bergerak dan tidak bergerak sama sekali per 100 spermatozoa menggunakan *hand counter*. Mengulangi perhitungan sebanyak 5 kali pada suspensi yang berbeda dan menghitung rata-ratanya.

#### **d) Pembuatan preparat histologi testis**

Pada hari ke 31 mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, testis dicuci terlebih dahulu menggunakan larutan NaCl 0,9% kemudian disimpan di dalam formalin 10%. Jaringan testis 5 cm dicuci dengan NaCl fisiologis, difiksasi dengan formalin buffer 4% selama 18-24 jam, kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, dan 90%. Jaringan dimasukkan larutan alkohol xilol selama 1 jam, kemudian dimasukkan dalam larutan xilol murni selama 2 x 2 jam, parafin cair 2 x 2 jam untuk proses embedding kedalam blok.

Jaringan dipotong dengan blok parafin dengan mikrotom setebal 4 mikron, secara melintang. Irisan diletakkan objek glass. Diinkubasi untuk pembuangan parafin yang kemudian diwarnai dengan pewarnaan HE. Tahapan pewarnaan HE sebagai berikut:

- Preparat di atas gelas objek direndam dalam xilol I 5 menit, dilanjutkan xilol II, III masing-masing 5 menit.
- Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquades dan kemudian direndam dalam Harris *hematoxylin* selama 15 menit.
- Dichelupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya.
- Preparat kemudian dicelupkan ke dalam *acid alkohol* 1% selama 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit, dan dalam eosin selama 2 menit.
- Preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100% I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit.
- Preparat dikeringkan dan dilakukan *mounting* dengan menggunakan entelan.
- Hasil pewarnaan dengan HE kemudian diobservasi dengan mikroskop untuk diamati perubahan gambaran histopatologi pada tubulus seminiferus testis.

**e) Pengamatan diameter testis**

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 80x dan 600x. Pada pembesaran 80x dapat melihat irisan penampang melintang testis secara umum. Pada perbesaran 600x dilakukan pengukuran diameter tubulus seminiferus.

**f) Pengukuran kadar hormon testosteron**

Pengukuran kadar hormon testosteron dilakukan dengan metode ELISA menggunakan KIT *Elabsciences*. Menghangatkan kit selama

30 menit pada suhu ruang sebelum digunakan. Melakukan set sumuran kemudian memasukkan 50 µl sampel dan blanko pada sumuran tersebut. Menambahkan 50 µl HRP-konjugat pada setiap sumuran kemudian menambahkan antibodi pada setiap sumuran, kemudian dicampurkan dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.

Buffer pencuci dimasukkan pada setiap sumuran sebanyak 200 µl selama 10 menit. Kemudian, menambahkan 50 µl substrat A dan 50 µl substrat B pada setiap sumur kemudian dicampurkan. Menghitung nilai absorbansi setiap sumuran selama 10 menit menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Membuat kurva berdasarkan hasil yang diperoleh berdasarkan kurva standar.

## **B. Peranan Susu Kambing PE terhadap Konsentrasi Spermatozoa**

Asupan nutrisi yang baik sangat menunjang kualitas spermatozoa. Pola makan orang Indonesia yang dewasa ini lebih condong memilih “*western food*” dengan kandungan lemak tinggi diduga dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa individu. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan diet kolesterol tinggi dapat menyebabkan menurunnya konsentrasi spermatozoa mencit. Asupan makanan kaya antioksidan berupa minyak jintan hitam maupun natto, kedelai fermentasi dari jepang dapat mengembalikan konsentrasi spermatozoa mencit mendekati normal (Sulistyowati dkk., 2014; Gofur & Lestari, 2016). Hasil penelitian Gofur & Lestari (2016) dapat dijadikan landasan bahwa asupan nutrisi yang sehat memiliki

pengaruh positif terhadap sistem reproduksi. Pada penelitian berikutnya, penulis berusaha menganalisis peran komoditas panganlainnya, yakni susu kambing PE. Hasil penelitian menggunakan susu kambing PE terhadap konsentrasi spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3 Konsentrasi Spermatozoa dari mencit yang diberi susu kambing PE**

<b>Perlakuan</b>	<b>Rerata konsentrasi (juta/ml)</b>
0 (Kontrol)	3,14
0,25 (P1)	3,23
0,5 (P2)	3,28
0,75 (P3)	3,30

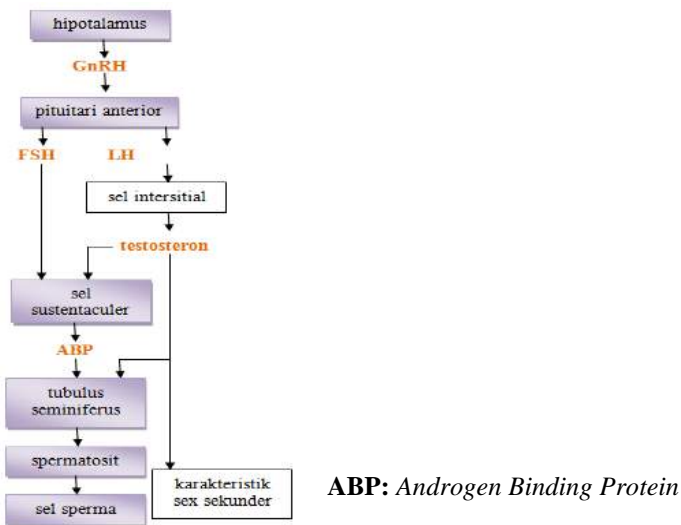
Tabel 4.3 menunjukkan konsentrasi spermatozoa mencit meningkat seiring dengan bertambahnya dosis susu kambing PE yang diberikan.

Feradis (2007) menyatakan meningkatnya konsentrasi spermatozoa disebabkan oleh semakin banyaknya spermatozoa yang dihasilkan. Banyaknya spermatozoa mencit disebabkan oleh adanya lemak (lipid) pada susu kambing PE yang diberikan pada mencit.

Menurut Pack (2001), lemak adalah bahan dasar dari pembuatan hormon steroid. Hoefnagels (2015) menambahkan hormon steroid pada jantan adalah testosteron. Campbell dkk (2009) menjelaskan testosteron dihasilkan oleh testis. Testis mampu menghasilkan hormon tersebut karena distimulasi oleh hormon LH. Hormon LH dihasilkan oleh pituitari anterior karena distimulasi oleh *Gonadotrophin releasing hormone* (GnRH) yang dihasilkan oleh hipotalamus. Proses regulasi hormon pada peristiwa spermatogenesis dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Dey (2012), menambahkan testosteron adalah hormon yang diperlukan untuk kegiatan spermatogenesis. Wulan (2008) menyatakan testosteron dihasilkan oleh sel leydig pada tubulus siminiferus testis. Testosteron bersama-sama dengan FSH bekerja pada sel sertoli menghasilkan berbagai protein yang dibutuhkan untuk sel germinal sehingga proses spermatogenesis berjalan dengan normal dan mampu menghasilkan spermatozoa dalam jumlah banyak dan normal.

Proses spermatogenesis membutuhkan Zn agar menghasilkan spermatozoa secara optimal dan Vitamin E diperlukan untuk regulasi testis dalam memproduksi spermatozoa dan pelepasan testosteron. Mineral Zn penting pada aktivitas enzim ribonuklease yang aktif selama fase mitosis pada spermatogonia dan fase meiosis spermatosit (Wong *et al.*2002).



**Gambar 4.1** Proses Regulasi Hormon pada Peristiwa Spermatogenesis. Sumber: Pack (2001).

### **C. Peranan Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) terhadap Morfologi Spermatozoa**

*Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan produk metabolisme yang normal diproduksi oleh tubuh. Ketika produksi ROS meningkat, maka akan memicu terjadinya reaksi peroksidasi lipid pada sel maupun jaringan, termasuk membran sel spermatozoa. Spermatozoa sangat rentan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif karena membran plasma spermatozoa mengandung *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dalam jumlah besar dan sitoplasmanya mengandung enzim antioksidan dalam konsentrasi rendah (Amaral dkk., 2008).

Hasil penelitian Eliyaningsih dkk. (2014) menunjukkan minyak jelantah menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa mencit. Minyak jelantah yang dikonsumsi dapat membentuk radikal bebas, sehingga dapat menyebabkan penurunan morfologi spermatozoa normal. Minyak jintan hitam yang diberikan sebagai terapi setelah mencit diberi minyak jelantah mampu meningkatkan jumlah spermatozoa normal.

Penelitian berikutnya dilakukan untuk mengeksplorasi bahan-bahan alam yang mampu berperan positif terhadap kualitas spermatozoa, salah satunya susu kambing PE. Data morfologi yang diperoleh dari hasil pemberian asupan susu kambing PE dapat dilihat pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4 Morfologi Spermatozoa dari mencit yang diberi susu kambing PE**

<b>Perlakuan</b>	<b>Rerata morfologi normal (%)</b>
0 (Kontrol)	46,2
0,25 (P1)	56,7
0,5 (P2)	56,8
0,75 (P3)	57,5

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat disimpulkan bahwa jumlah morfologi normal spermatozoa mencit memiliki korelasi positif dengan meningkatnya dosis.

Penambahan mineral Zn berperan dalam proses pematangan spermatozoa dengan ditandai dengan berpindahannya posisi butiran sitoplasma dari bagian proksimal ke arah distal ekor atau hilang sama sekali dari sel spermatozoa. Zn sebagai suplemen perbaikan sel spermatozoa karena Zn mampu mencegah keluarnya enzim, protein, dan komponen lainnya yang dibutuhkan oleh spermatozoa sehingga spermatozoa yang dihasilkan oleh mencit berada pada kondisi morfologi yang baik atau normal (Toelihere, 1993).

**D. Peranan Susu Kambing PE terhadap Motilitas Spermatozoa**

Motilitas spermatozoa memiliki peran penting dalam fertilisasi. Radikal bebas berlebih yang diproduksi tubuh menyebabkan kerusakan pada spermatozoa, sehingga berakibat menurunnya motilitas. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan motilitas spermatozoa mengalami penurunan ketika diinduksi bahan yang dapat meningkatkan produksi radikal bebas. Bahan-bahan alam baik berupa minuman seperti air kelapa, maupun makanan seperti natto (kedelai fermentasi) dapat meningkatkan motilitas spermatozoa pada mencit

(Putra dkk., 2012; Gofur & Lestari, 2016). Motilitas spermatozoa setelah diberi susu kambing PE dapat dilihat pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5 Motilitas Spermatozoa dari mencit yang diberi susu kambing PE**

<b>Perlakuan</b>	<b>Rerata motilitas (%)</b>
0 (Kontrol)	59,8
0,25 (P1)	61,3
0,5 (P2)	69,8
0,75 (P3)	72,8

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa semakin besar pemberian dosis susu kambing PE pada mencit maka semakin meningkat motilitas spermatozoa mencit.

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian mengenai kualitas spermatozoa mencit setelah diberi asupan susu kambing PE terlihat secara nominal terjadi peningkatan kualitas spermatozoa seiring dengan banyaknya jumlah susu kambing PE. Pemberian susu kambing PE terhadap kualitas spermatozoa mencit diduga berkaitan dengan zat yang terdapat pada susu kambing PE antara lain protein, kalsium, magnesium, seng, vitamin A, vitamin B12, dan asam lemak esensial.

Kandungan zat pada susu kambing PE diduga menjadi salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Asam lemak yang relatif tinggi pada susu kambing PE berperan sebagai prekursor dalam pembentukan hormon testosteron dan memicu pembentukan spermatozoa dalam jumlah yang tinggi.

Dewantari (2013) menambahkan bahwa protein yang terkandung pada susu kambing PE mampu memperkuat daya tahan hidup spermatozoa. Vitamin A dalam susu kambing PE diduga mampu menangkal serangan radikal bebas pada dinding spermatozoa



dan vitamin A mampu meningkatkan libido pada mencit jantan. Vitamin C mampu mempengaruhi kualitas dari spermatozoa. Vitamin E mendukung produksi spermatozoa dan hormon-hormon seks serta mencegah kerusakan pada DNA spermatozoa akibat radikal bebas. Vitamin B6 diduga dapat meningkatkan produksi spermatozoa. Vitamin B12 dapat menambah dan meningkatkan kualitas spermatozoa.

Zn berperan dalam maturasi spermatozoa, menjaga epitel germinal dan tubulus seminiferus. Pada tahap akhir spermatogenesis, Zn mampu meningkatkan motilitas spermatozoa (Rowe dkk., 2013). Motilitas spermatozoa meningkat dengan adanya Zn karena Zn mampu meningkatkan kadar androgen dalam plasma darah yang berhubungan dengan spermatogenesis yang normal dan mengaktifkan kerja enzim metabolisme yang menghasilkan energi untuk pergerakan spermatozoa (Suharti dan Hartono, 2013).

Zn mengontrol ATP sebagai sumber energi melalui pengaturan cadangan energi dan pemanfaatan oksigen dan meningkatkan enzim sorbitol dehidrogenase, laktat dehidrogenase yang berperan dalam motilitas spermatozoa serta sebagai antioksidan yang bertanggungjawab atas perbaikan motilitas spermatozoa (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Karbohidrat juga mempengaruhi motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa tergantung pada suplai energi dalam bentuk ATP hasil metabolisme seluler. Fruktosa pada plasma seminalis

merupakan karbohidrat yang siap dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi.

Menurut Zambrano dkk (2005), protein yang terdapat pada susu kambing PE akan sangat diperlukan dalam pematangan spermatozoa. Suplai protein akan memperlancar proses spermatogenesis pada organ reproduksi jantan. Piliang dan Djojosoebagio (2006) menambahkan ketersediaan protein sangat diperlukan dalam sintesis protein spermatozoa. Anggorodi (1994) menjelaskan bahwa protein juga berfungsi dalam sintesis enzim dan hormon yang diperlukan dalam proses spermatogenesis.

#### **E. Peranan Susu Kambing PE terhadap Diameter Tubulus Seminiferus dan Kadar Testosteron**

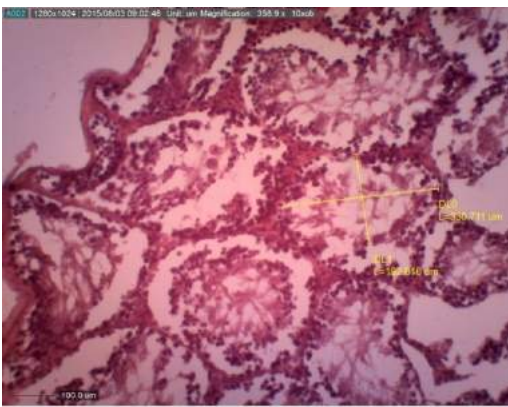
Testosteron merupakan hormon utama yang diproduksi oleh testis untuk menunjang spermatogenesis (Sloane, 2003). Pada penelitian sebelumnya, kadar testosteron yang menurun ikut berperan terhadap menurunnya kualitas spermatozoa (Gofur & Lestari, 2016). Kadar testosteron dan kualitas spermatozoa memiliki korelasi positif terhadap asupan yang dikonsumsi sehari-hari. Susu kambing PE merupakan asupan kaya manfaat yang diduga dapat berperan terhadap kadar testosteron dan kualitas spermatozoa. Pengaruh susu kambing Peranakan Etawa selama 36 hari terhadap diameter tubulus seminiferus dapat dilihat pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6 Diameter tubulus seminiferus dan kadar testosteron mencit yang diberi susu kambing PE**

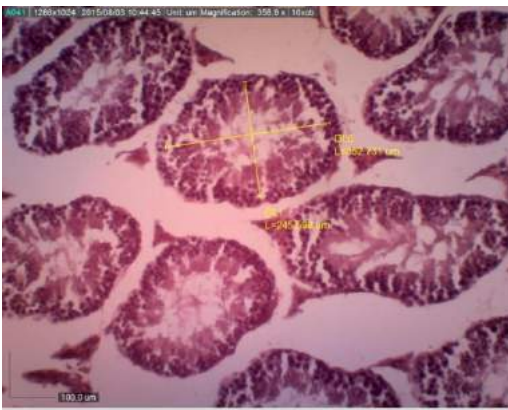
Parameter	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Diameter T. Seminiferus ( $\mu\text{m}$ )	260.95	279.97	286.4	338.03
Kadar Testosteron (pg/ml)	0.31	1.27	2,00	4.02

Terlihat pada Tabel 4.6 di atas, bahwa semakin besar kadar susu kambing peranakan etawa yang diberikan kepada mencit maka semakin besar diameter tubulus seminiferus dan kadar testosteronnya.

Gambaran perbedaan diameter tubulus seminiferus pada perlakuan P1, P2, dan P3 tertera pada Gambar 4.2, 4.3, dan 4.4.



**Gambar 4.2 Diameter Tubulus Seminiferus pada P1 dengan pembesaran 100X**



**Gambar 4.3 Diameter Tubulus Seminiferus pada P2 dengan pembesaran 100X**



**Gambar 4.4** Diameter Tubulus Seminiferus pada P3 dengan pembesaran 100X

Susu kambing peranakan etawa mengandung asam lemak tak jenuh yang berperan sebagai prekursor pembentuk testosteron. Asam lemak tak jenuh menstimulasi aktivitas enzim 17  $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenase, enzim kunci pada jalur sintesis testosteron (Bashandy, 2007). Susu kambing peranakan etawa juga mengandung kasein yang dapat merangsang sintesis testosteron. Kasein dapat menstimulasi sekresi LH dan reseptornya sehingga menyebabkan meningkatnya kadar testosteron.

*Reactive oxygen species* (ROS) secara alami dihasilkan oleh tubuh pada proses metabolisme (Wellen & Thompson, 2010). Peningkatan ROS memicu terjadinya stres oksidatif intraseluler sehingga mengakibatkan penghambatan sintesis testosteron oleh sel Leydig. Kandungan Zn pada susu kambing etawa berperan sebagai pencegah stres oksidatif yang disebabkan penghambatan enzim antioksidan pada testis sehingga sintesis testosteron tidak terganggu (Glade & Smith, 2015).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

Hasil yang diperoleh adalah pemberian susu kambing PE pada mencit mulai dosis 0,25 ml/20 g BB pada aspek reproduksi mencit jantan diantaranya mampu meningkatkan: (a) konsentrasi spermatozoa melalui kandungan protein dan asam lemak tak jenuh yang berperan penting dalam pematangan spermatozoa, (b) kenormalan morfologi spermatozoa melalui kandungan Zn yang berperan dalam mencegah stress oksidatif, sehingga susu kambing PE dapat mencegah abnormalitas spermatozoa meningkat, (c) motilitas spermatozoa melalui kandungan protein, vitamin, dan Zn yang menunjang fungsi spermatozoa dan menghasilkan energi untuk pergerakan spermatozoa, (d) diameter tubulus seminiferous melalui kandungan asam lemak tak jenuh, sehingga menstimulasi spermatogenesis di tubulus seminiferus, dan (e) kadar testosteron mencit jantan melalui kandungan kasein yang dapat menstimulasi sekresi LH dan meningkatkan kadar testosteron.

Harapan dari temuan yang diperoleh adalah mampu menyediakan informasi bagi masyarakat mengenai manfaat susu kambing PE dan konsumsi takaran yang mulai berpengaruh terhadap sistem reproduksi pria melalui penggunaan mencit sebagai hewan model.



## DAFTAR RUJUKAN

- Amaral, S., Oliveira, P.J. & Ramalho-santos, J., 2008. Diabetes and the Impairment of Reproductive Function: Possible Role of Mitochondria and Reactive Oxygen Species. , 351(239), pp.1–9.
- Anggorodi, R. 1994. *Ilmu Makanan Ternak Umum*. Jakarta: PT Gramedia.
- Babu, S.R., Sadhnani, M.D., Swarna, M. Padmavathi, P. & Reddy, P.P. 2004. Evaluation of FSH, LH and Testosterone Levels in Defferent Subgroups of Infertile Males. *Indian Journal Clin. Biochem.* Vol. 19(1): 45-49.
- Bashandy, A.E.S. 2007. Effect of Fixed Oil of Nigella Sativa on Male Fertility in Normal and Hyperlipidemic Rats. *International Journal of Pharmacology* 3 (1): 27-33.
- Bernard, D.J., Fortin, J., Wang, Y. & Lamba, P. 2010. Mechanism of FSH Synthesis. *Journal Fertile Steril.* Vol. 93(8): 2465-2485.
- Budiana, N.S. & Susanto, D. 2005. *Susu Kambing*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- CareerTech. 2001. *Animal Science Reproductive Anatomy and Fertility* (Online), <https://www.okcareertech.org>. Diakses 02 November 2016.
- Choi, S.G., Jia, J., Pfeffer, R.L. & Sealfon, S.C. 2012. G Proteins and Autocrine Signaling Differentially Regulate Gonadotropin Subunit Expression in the Pituitary Gonadotrope. *J. Biol. Chem.* Vol. 5: 1-32.
- Despopoulos, A. & Silbernagl, S. 2009. **Colour Atlas of physiology**. Newtork: Thieme Publishing.
- Disnak. 2013. *Produksi Susu Kambing, Harus Diikuti Manajemen Pasca Panen*, (Online), (<http://disnak.jatimprov.go.id/web/beritautama/read/1005/.VKLegcEIA#.VKLhicEIA>) diakses 27 Desember 2014.

- Ditjennak. 2015. *Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2015*. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian RI
- Dye, Frank J. 2012. *Dictionary of Developmental Biology and Embryology (S)*. Canada: Wiley & Blackwell A John Wiley & Sons, Inc, Publication.
- Eliyaningsih, N.D., Lestari, U. & **Gofur, A.** 2014. *Potensi Minyak Jintan Hitam (Nigella Sativa) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus Musculus) Galur Balb-C Setelah Di Beri Minyak Jelantah*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang.
- Esmaeili, V., A. H. Shahverdi, M. H. Moghadasian, & A. R. Alizadeh. 2015. Dietary fatty acids affect semen quality: a review. *Andrology* Volume 3:450–461
- Fairuz, A.A.M., Hashim, N.H., & Mahanem, M.N. 2011. Effect Of Nicotine And Goat Milk Co-Administration On Rat Testis And Sperm Parameters. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(12).
- Feradis. 2007. *Karakteristik Sifat Fisik Semen Domba St. Croix*. *Jurnal Peternakan*. Vol 4 Nol Februari 2007.
- Glade, M.J.& Smith, K. 2015. Oxidative Stress, Nutritional Antioxidants, and Testosterone Secretion in Men. *Ann Nutr Disord & Ther*. 2015;2(1): 1019
- Gofur, A.** & Lestari, S.R. 2016. Effect of black soybean natto extract (Glycine soja) on reproduction system of hypercholesterolemia male mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. Volume 5 (5):387-390
- Gofur, A.** 2012. Spermatogenesis. Diktat Kuliah. Tidak diterbitkan
- Gomez-Sanchez, E.P., Ganjam, V., Chen, Y.J., Liu, Y., Zhou, M.Y., Toroslu, C., Romero, D.G., Hughson, M.D., Rodriguez, A.D. & Gomez-sanchez, C.E. 2002. Regulation of 11 $\beta$ -hydroxysteroid Dehydrogenase Enzymes in the Rat Kidney by Estradiol. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. Vol. 285: 272-279.



- Hoefnagels, Marielle. 2015. *Biology (Concepts and Investigations), Third Edition*. New York: McGraw-Hill Education.
- Jiang, X., Fischer, D., Chen, X., Mckenna, S.D., Liu, H., Sriraman, V., Yu, H.N., Goutopoulos, A., Arkinstall, S. & He, X. 2014. Evidence for Follicle Stimulating Hormone Receptor as a Functional Trimer. *J. Biol. Chem.* Vol. 1: 1-24.
- Johnson, M.H & Everitt, B.J. 2007. *Essential Reproduction 6th Ed.* United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Junquera, L.C. & J. Carneiro. 1980. *Basic Histology, 3rd ed.* Canada: Lange Medical Publication.
- Kim, D.J., Seok, S.H., Baek, M.W., Lee, H.Y., Juhn, J.H., Lee, S. Yun, M. & Park, J.H. 2010. Highly Expressed Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone From Chinese Hamster Ovary Cells Grown in Serum-free Medium and its Effect on Induction of Folliculogenesis and Ovulation. *Journal Fertil Steril.* Vol. 93(8): 2652-2660.
- Leeson, C.R, T.S. Leeson, & A.A Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi, Ed ke-5*, terjemahan dari *Texbook of Histology, 5th ed*, oleh Tambajong, J. & Wonodirekso. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Malole, M.B. & C.S.V. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Muller, W.A. 1997. **Developmental Biology**. Maiden: Blackwell Science Publishing.
- O'Day, Danton. 2010. *Formation of The Male Sex Cells: Male Anatomy and Spermatogenesis*. University of Toronto-Mississauga.
- Piliang, W.G., dan Djojosoebagio, S. 2006. *Fisiologi Nutrisi Volume I*: Bogor: IPB Press.
- Prabowo, Agung. 2010. *Budidaya Ternak Kambing (Materi Pelatihan Agribisnis bagi KMPH)*. BPTP Sumatera Selatan.

- Putra, E.P., Lestari, U. & **Gofur, A.** 2012. *Pengaruh Air Kelapa Muda (Cocos nucifera) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus musculus) Galur Balb C yang Terpapar Allethrin Sebagai Sumber Belajar Pada Mata Kuliah Fisiologi Hewan.* Tesis. Tidak diterbitkan. Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Malang
- Rowe MP, Powell JG, Kegley EB, Lester TD, William CL, *et al.* 2013. *Influence of Organic Versus inorganic trace mineral supplementation on bull semen quality.* [http://arkansasagnews,uark.edu/597-1](http://arkansasagnews.uark.edu/597-1).
- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its Reproduction and Developmental.* Minneapolis: Burgess Publishing Company.
- Sa'diyah, H., Tenzer, A. & Handayani, N. 2015. Pengaruh Susu Kambing Peranakan Etawa Terhadap Kualitas Spermatozoa Pada Mencit Galur Balb/C. Skripsi: Tidak Diterbitkan.
- Salisbury GW, VanDemark NL. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi.* Januar R Penerjemah. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. Terjemahan dari *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle.*
- Schatten, H. & G.M. Constantinescu. 2007. **Comparative Reproductive Biology.** Blackwell Publishing Ltd, UK.
- Silverthorn, D.U. 2012. **Human physiology: An Integrated Approach 6th.** Texas: Pearson Inc.
- Sinartani. 2011. *Kambing Peranakan Etawah Sumber daya Ternak Penuh Berkah,* Edisi 19-25 Oktober 2011 No. 3427 Tahun XLII. Badan Litbang Pertanian Agroinovasi.
- Sloane, Ethel. 2003. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula;* Alih Bahasa James Veldman. EGC : Jakarta
- Smith, J.B. & Mangkoewidjojo.1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis.* Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Suharyati S, Hartono M. 2013. *Peningkatan Kualitas Semen Kambing Boer dengan Pemberian Vitamin E dan Mineral Zn.* Jurnal Kedokteran Hewan. 7 (2): 91-93.

- Sulistyowati, A., Lestari, U. & **Gofur, A.** 2014. *Pengaruh Jintan Hitam (Nigella Sativa) Terhadap Motilitas Dan Konsentrasi Spermatozoa Mencit (Mus Musculus) Galur Balb-C Setelah Diberi Minyak Jelantah.* Skripsi. Tidak diterbitkan. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang.
- Tabakoff, B & P.L. Hoffman. 2000. *Animal Models in Alcohol Research.* Alcohol Research & Health 24 (2): 77-84.
- Tilbrook, A.J. & Clarke, I.J. 2001. Negative Feedback Regulation of The Secretion and Actions of Gonadotropin-Releasing Hormon in Males. *Journal Bilogy of Reproduction.* Vol. 64: 735-742.
- Toelihere MR. 1993. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak.* Penerbit Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M.R. 1979. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak.* Bandung: Gadjah Mada University Press.
- Treuting., Piper M., Dintzis, Suzanne M. 2011. *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atla Elsevier,* Burlington, ISBN: 9780123813626.
- Troppmann, B., Kleinau, G., Krause, G. & Gromoll, J. 2013. Structural and Functional Plasticity of the Luteinizing hormone/Chorigonadotrophin receptor. *Journal Human Reproduction.* Vol. 1: 1-20.
- Wellen, K. E., dan Thompson, C. B. 2010. Cellular Metabolic Stress: Considering How Cells Respond to Nutrient Excess. *Review: Molecular Cell, October 22, 2010* "2010 Elsevier Inc page 323-332.
- Wong, W.Y., H.M.W.M. Merkus, C.M.G., Thomas, R. Menkveld, G.A. Zielhuis, & R.P.M. Steegers-Theunissen. 2002. Effect of Folic Acid and Zinc Sulphate on Male Factor Subfertility, A Double Blind, Randomized Placed Controlled Trial. *Fertility and Sterility.* 77 (3):491-498.
- Yatim, W. 1988. *Efek Anti-Fertilitas Gossipol dan Gula Berkhlor terhadap Tikus Jantan (Rattus novergicus) dan Implikasi*

*Prospeknya Sebagai Kontraseptif Pria.* Bandung: Desertasi  
Universitas Padjajaran.

