

-1 SEP 2003

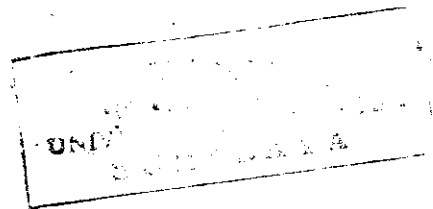
PAMERAN



SELESAI

LAPORAN PENELITIAN
DIP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

**PENGARUH PENINGKATAN STRES YANG DISTIMULI AMFETAMIN
TERHADAP KEMAMPUAN REPRODUKSI TIKUS JANTAN
(RATTUS NOVEGICUS L.)-**



Peneliti :

Dra. ALFIAH HAYATI, M.Kes.

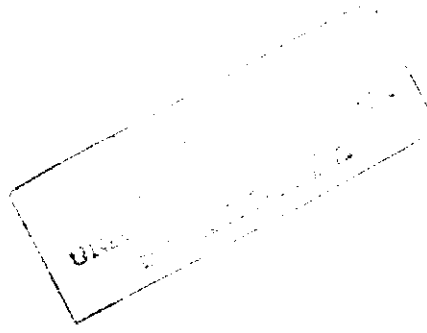
LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : DIP Universitas Airlangga 1999/2000
Nomor SK. Rektor 8402/J03/PP/1999
Nomor Urut : 87

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Februari, 2000

3000 05900 3141





LAPORAN PENELITIAN
DIP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

KKC
KK
571.8
Hay
p-1

**PENGARUH PENINGKATAN STRES YANG DISTIMULI AMFETAMIN
TERHADAP KEMAMPUAN REPRODUKSI TIKUS JANTAN
(RATTUS NOVEGICUS L.)**

Peneliti :

Dra. ALFIAH HAYATI, M.Kes.

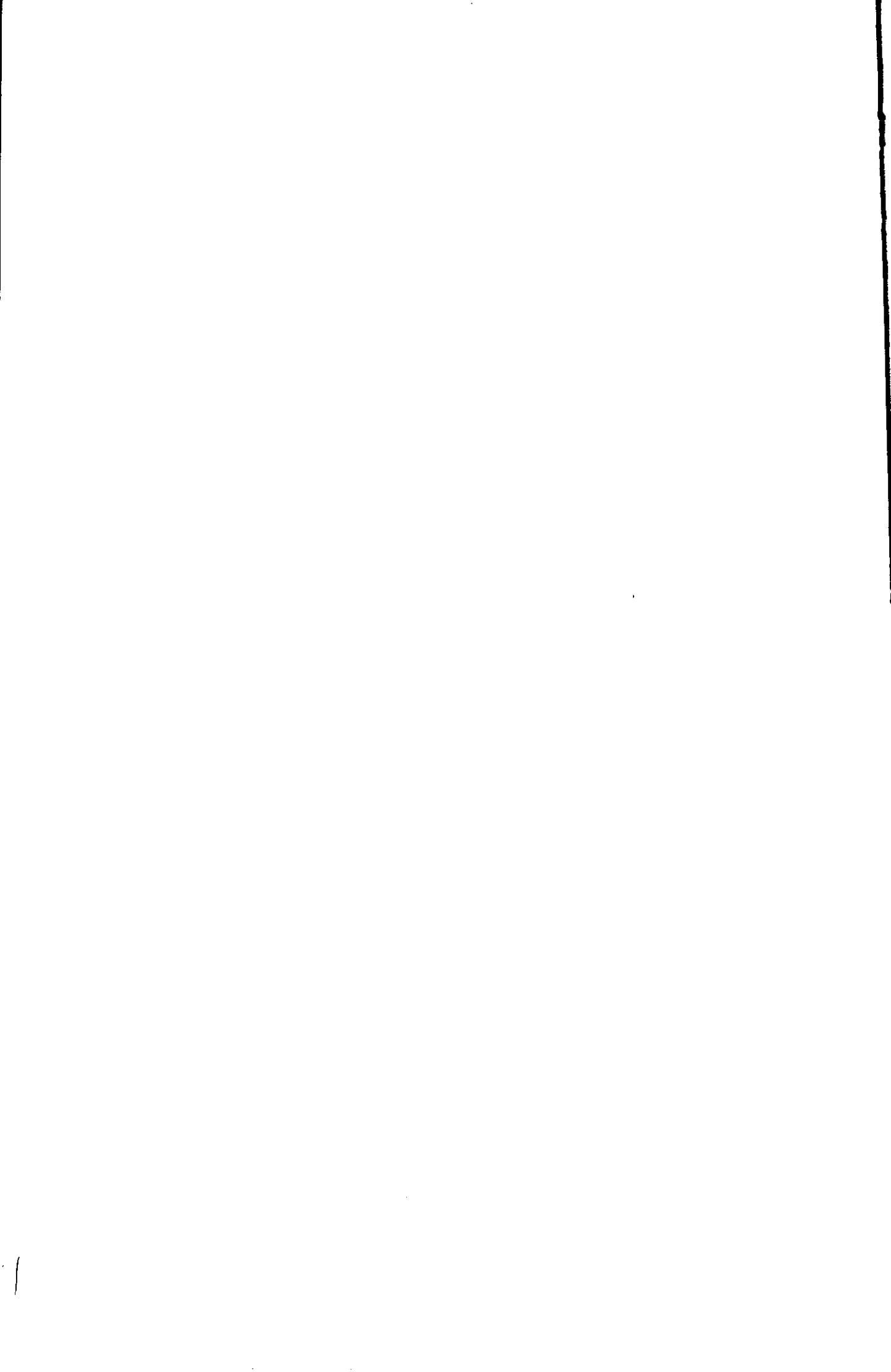
SELESAI

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : DIP Universitas Airlangga 1999/2000
Nomor SK. Rektor 8402/J03/PP/1999
Nomor Urut : 87

3025 059 00 3141
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Februari, 2000



LAPORAN PENELITIAN DIP UNAIR
TAHUN 1999-2000

PENGARUH PENINGKATAN STRES YANG DISTIMULI AMFETAMIN
TERHADAP KEMAMPUAN REPRODUKSI TIKUS JANTAN
(*Rattus norvegicus* L)

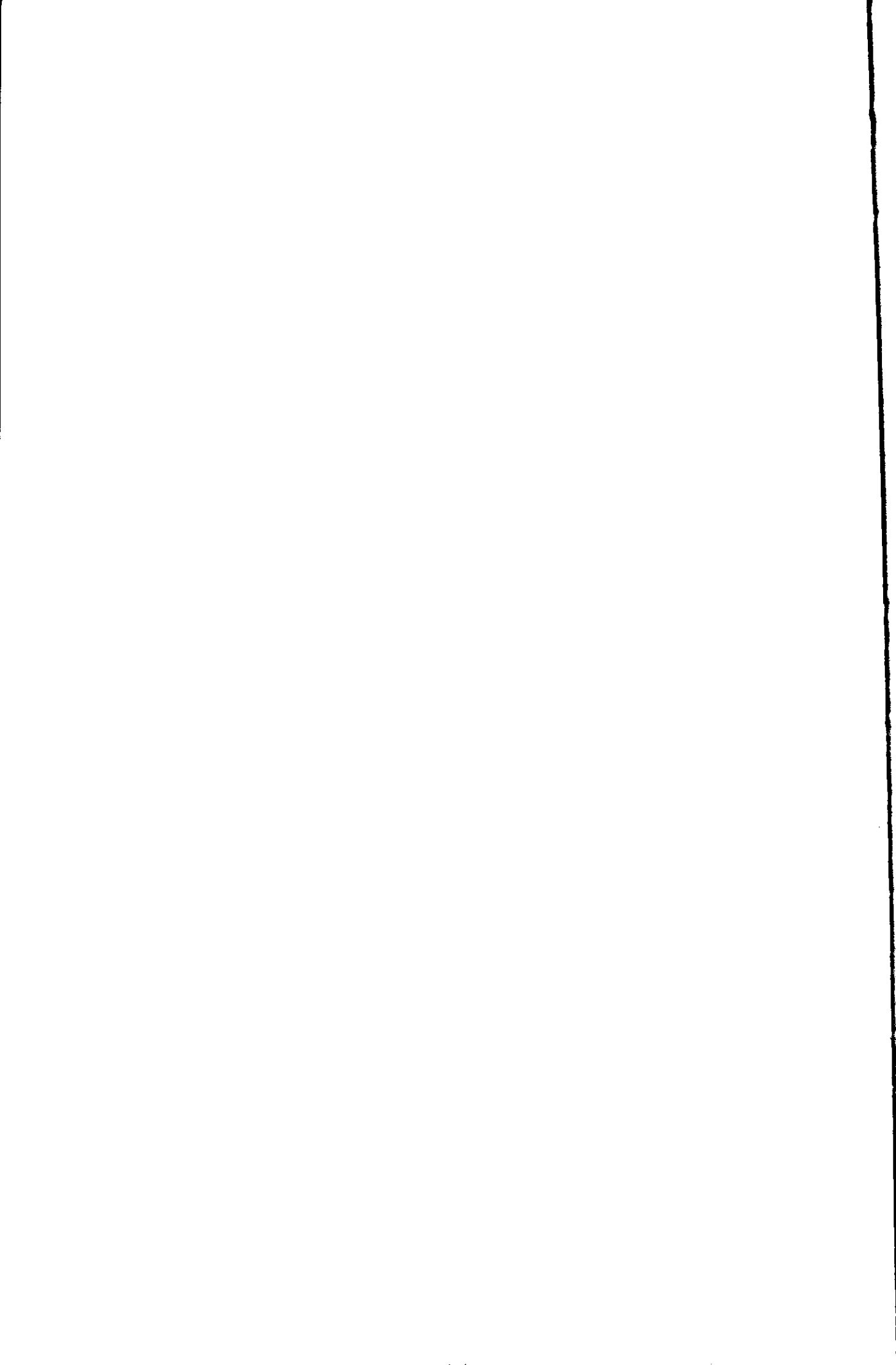
Dra. Alfiah Hayati, M.Kes

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : DIP Universitas Airlangga 1999/2000

Nomor SK Rektor 8402/J03/PP/1999

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Februari 2000



RINGKASAN

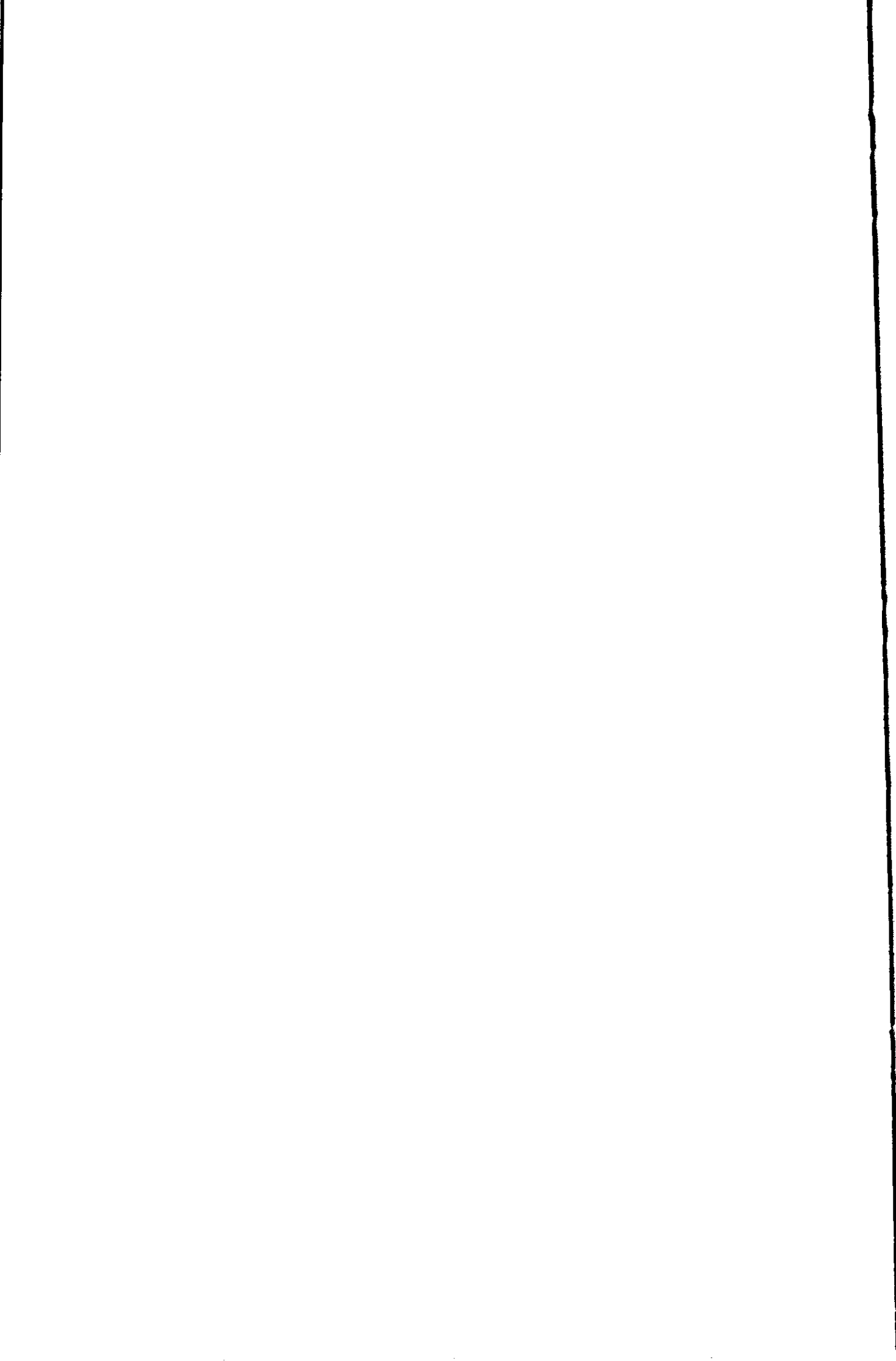
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh stres yang distimuli amfetamin terhadap kemampuan reproduksi tikus jantan ? dan apakah lama pemberian dan besar dosis amfetamin berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi tikus jantan ?

Penelitian ini menggunakan tikus jantan dari strain Wistar, umur 50 - 60 hari sebanyak 72 ekor ; tikus betina umur 80 - 100 hari sebanyak 36 ekor. Amfetamine Sulfat sebagai perangsang timbulnya stres dalam bentuk serbuk (gram) dengan dosis 2 mg/kg dan 4 mg/kg. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 9 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Pemberian amfetamin dengan cara injeksi subkutan pada daerah leher dengan menggunakan disposable siringe 1 ml. Setelah waktu pemberian selesai, 36 ekor tikus jantan dipisahkan dari 72 ekor tikus jantan secara acak. Kemudian dikawinkan dengan tikus betina dengan perbandingan satu jantan satu betina dalam satu kandang selama 7 hari. Tiga puluh enam tikus jantan lainnya dibunuh untuk pemeriksaan morfologi dan motilitas sperma. Pengamatan mikroanatomi merupakan pengamatan kuantitatif terhadap jumlah morfologi normalitas dan persentase motilitas spermatozoa. Data yang telah terkumpul diuji dengan analisis varian kemudian dilanjutkan dengan uji LSD bila terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan penghitungan sisi implantasi, diuji dengan analisis varian dan dilanjutkan dengan uji LSD dapat diinformasikan bahwa dengan peningkatan dosis dan lama waktu pemberian amfetamin mempengaruhi morfologi, motilitas spermatozoa dan jumlah sisi implantasi fetus pada uterus induknya.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa keadaan stres dalam hal ini yang distimuli amfetamin mempengaruhi fertilitas tikus jantan, dan semakin besar dosis (4 mg/kg) dan lama pemberian amfetamin (100 hari), semakin menurunkan fertilitas tikus.

Peneliti menyarankan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang mekanisme seluler dan molekuler terhadap sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer yang mendasari terjadinya disfungsi spermatogenesis dan fertilitas akibat stres.



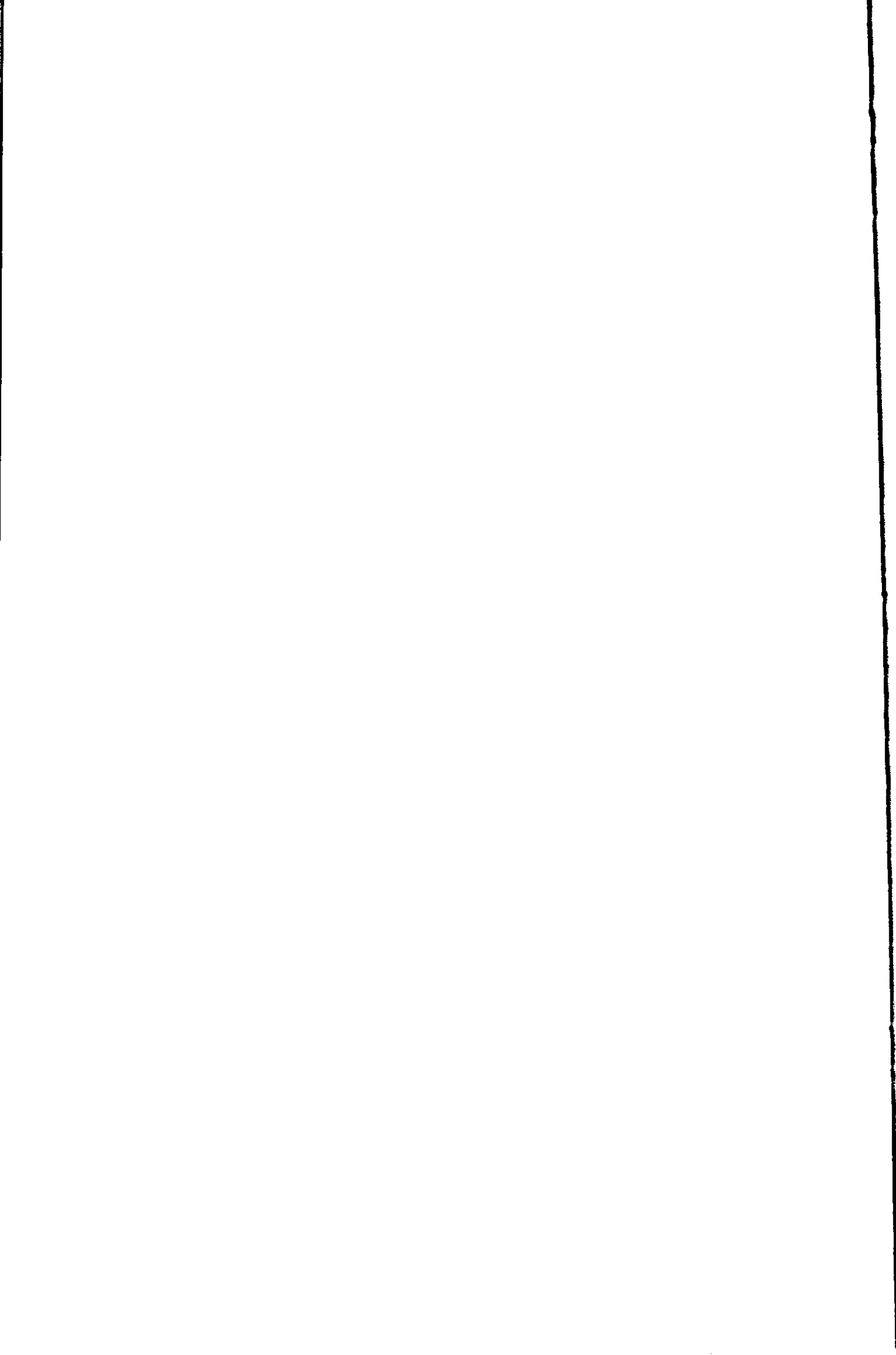
BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG PENELITIAN

Secara psikologi, infertilitas pada pria jarang dipermasalahkan dalam suatu keluarga sehingga masih sedikit informasi penyebab infertilitas pada pria. Infertilitas pada pria dapat diketahui dalam laboratorium setelah melalui pengujian dengan menggunakan PCT (*Post Coital test*) dan evaluasi sperma. Keadaan stres dapat mempengaruhi hasil evaluasi terhadap sperma dan cenderung menuju ke infertilitas. Hampir 60% dari pasangan suami istri yang mengalami infertilitas karena faktor pria. Dan 8% dari pengujian sperma dalam program IVF (*In Vitro Fertilization*) menyebabkan pria infertil karena adanya peningkatan stres. Penyebab terjadinya stres sangat banyak, baik karena faktor fisik, psikologi, atau pemakaian obat-obat terlarang (narkoba) misalnya golongan opiat, amfetamin dan lain-lain.

Amfetamin (sebagai model obat golongan simpatomimetik amin) dapat merangsang terjadinya psikomotor dan euphoria, tetapi secara umum besar efek yang ditimbulkan tidak sama pada pemakainya (Fibiger, 1991). Kecanduan metamfetamin dengan dosis rendah dapat menyebabkan terjadinya kelainan jiwa (paranoid), selanjutnya penderita psikotik paranoid yang kecanduan obat ini dapat menimbulkan stres psikologi yang pada akhirnya dapat menimbulkan skisoprenia (Sato, 1992).



1.2 RUMUSAN MASALAH

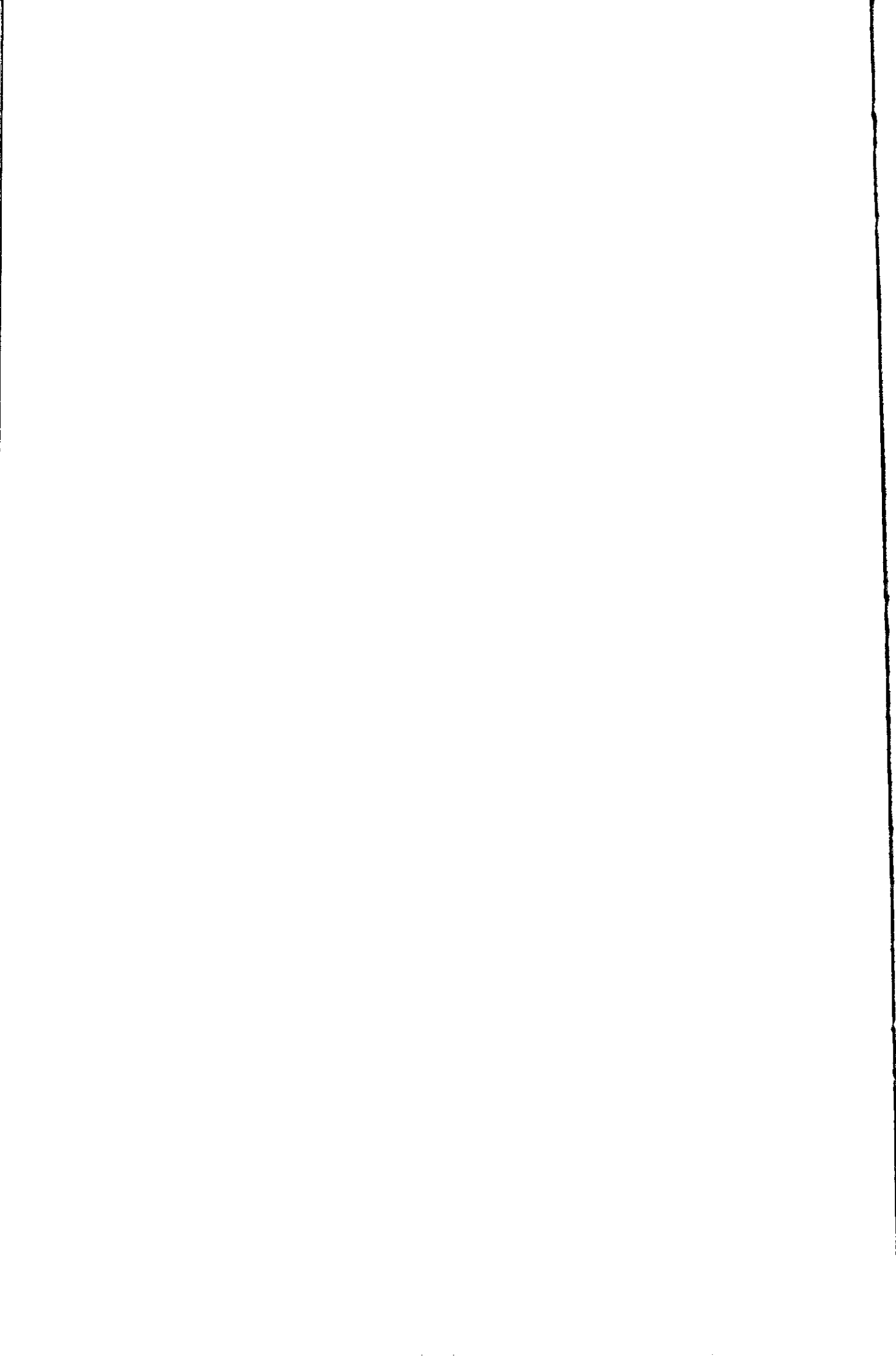
1. Bagaimanakah pengaruh stres yang distimuli amfetamin terhadap kemampuan reproduksi tikus jantan ?
2. Apakah lama pemberian dan besar dosis amfetamin berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi tikus jantan ?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

Untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh peningkatan stres yang distimuli dengan amfetamin (psikostimulan golongan simpatomimetik amin) terhadap kemampuan reproduksi tikus jantan melalui perangsangan SSP.

1.4 HIPOTESIS PENELITIAN

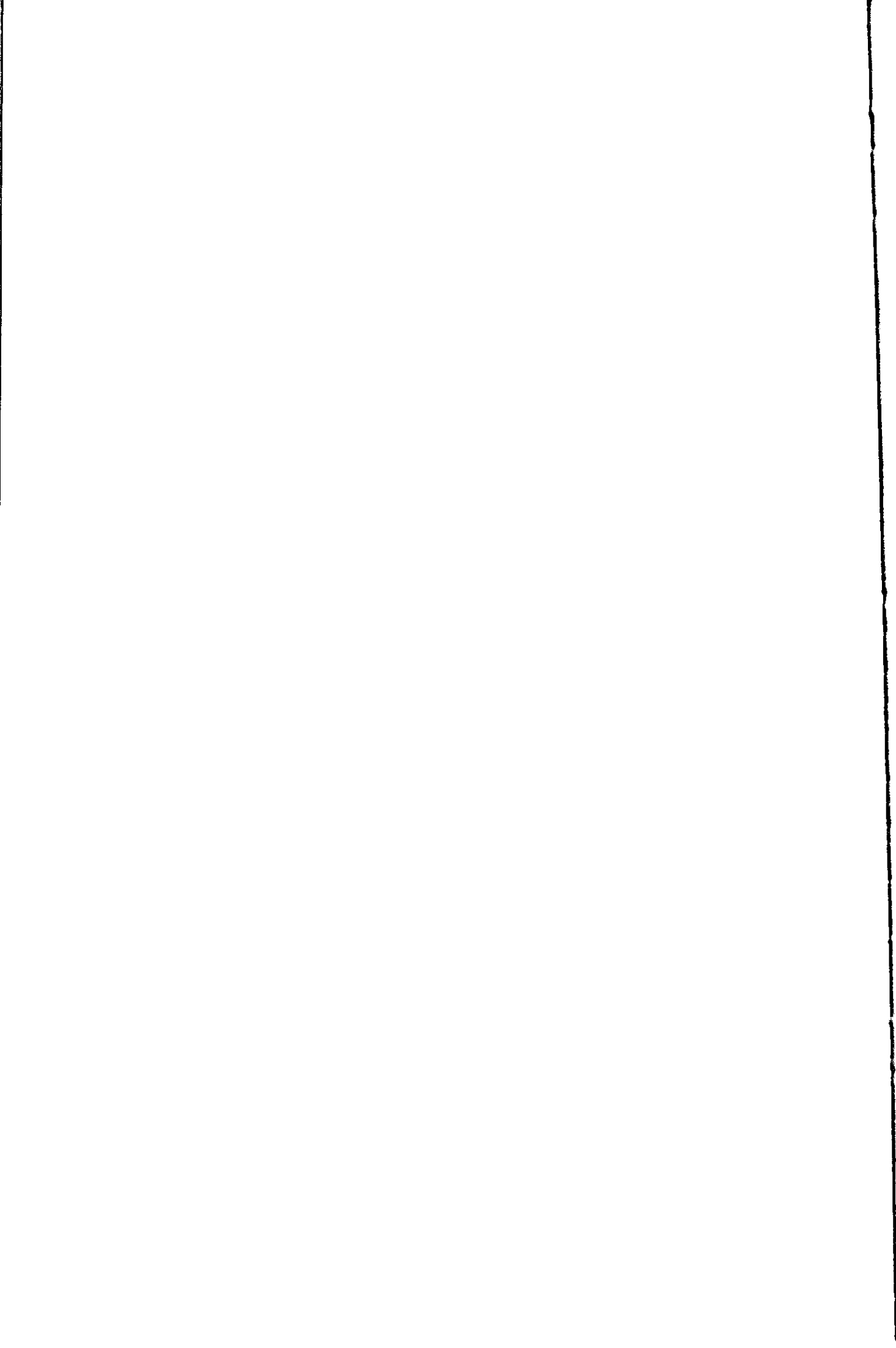
- (1) Ada pengaruh antara peningkatan stres yang distimuli amfetamin dengan kemampuan reproduksi tikus jantan.
- (2) Lama pemberian dan besar dosis amfetamin berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi tikus jantan.



1.5 MANFAAT PENELITIAN

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai acuan dalam upaya untuk :

- (1) mengungkapkan terjadinya infertilitas pada sistem reproduksi pria sebagai akibat pemakaian obat turunan amfetamin,
- (2) memberikan informasi kepada masyarakat dalam upaya meningkatkan kesadaran pada generasi muda, orang tua, dan masyarakat umumnya terhadap pengaruh negatif dari penyalahgunaan obat psikotropika turunan amfetamin terhadap fungsi organ reproduksi.



BAB II

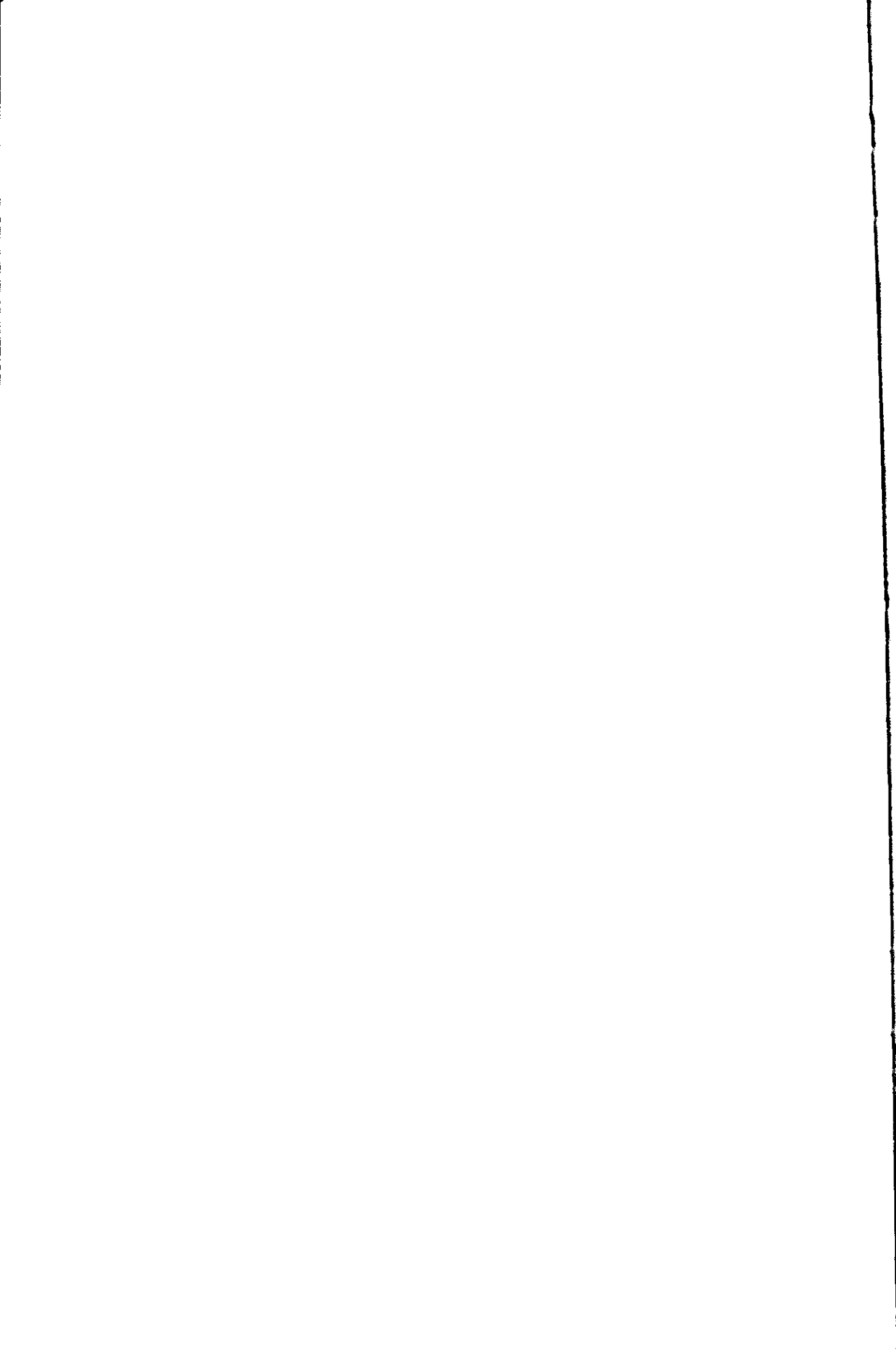
TINJAUAN PUSTAKA

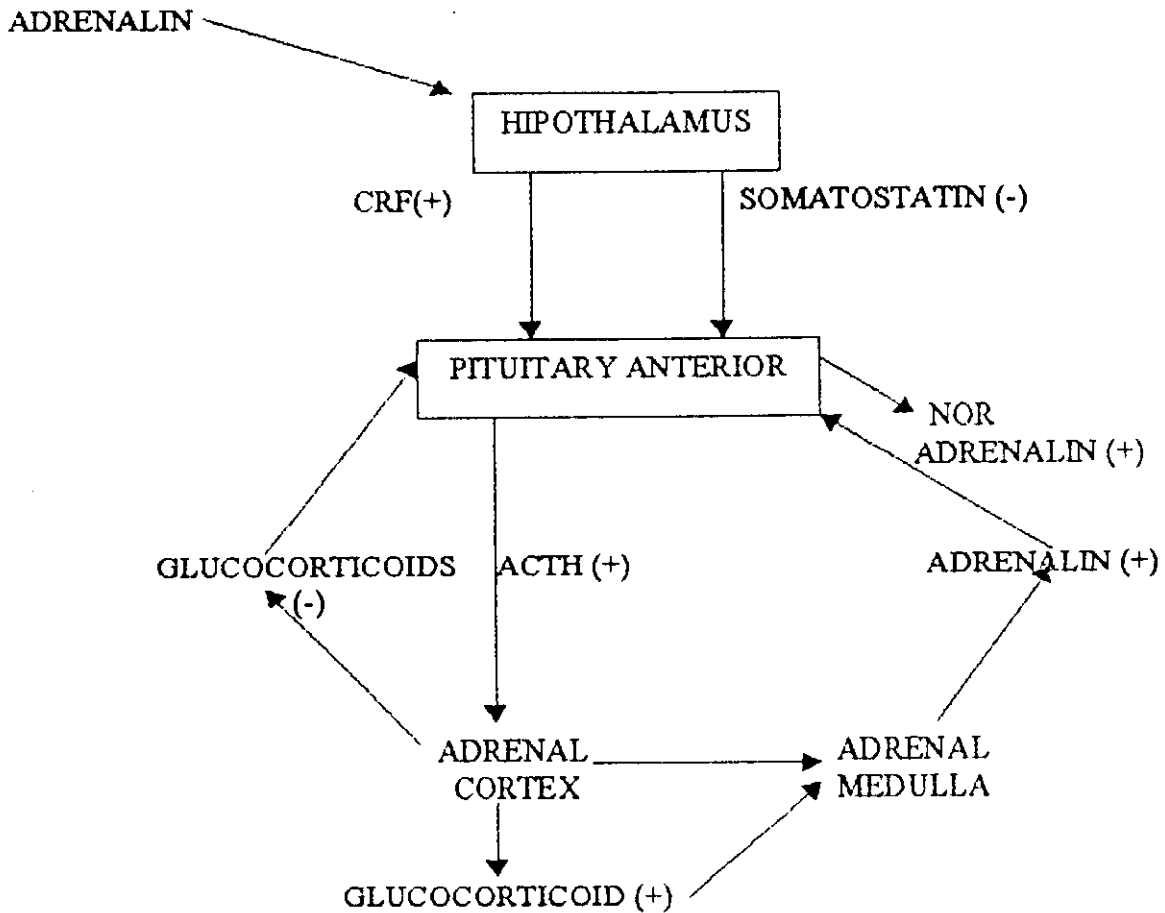
2.1 RESPON TUBUH TERHADAP STRES DAN AMPFETAMIN

Respon tubuh terhadap terjadinya stres, baik secara fisik ataupun psikologi ditentukan oleh `stres hormon` (ACTH). Pengaturan hormon stres ini pada waktu yang sama berinteraksi dengan hormon-hormon lain yang berperan penting dalam sistem reproduksi.

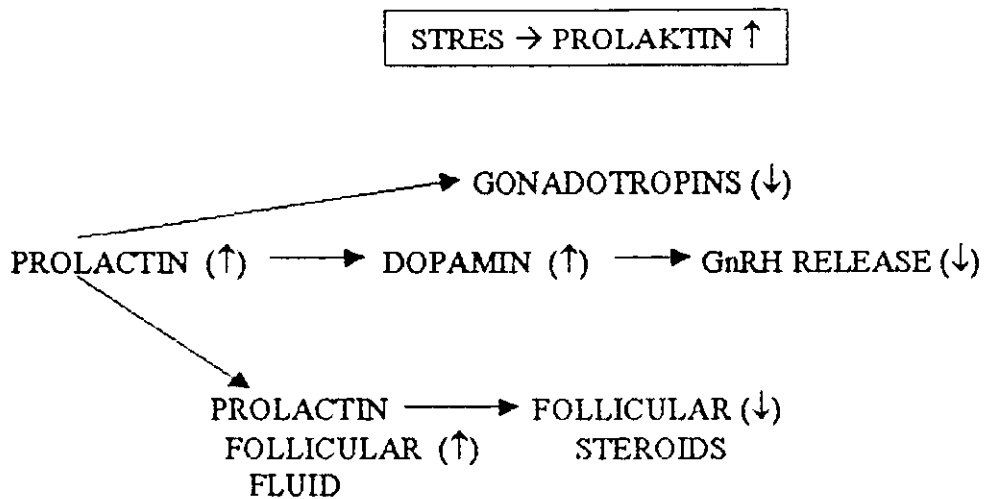
Meningkatnya stres akan mengaktifkan sistem saraf simpatik dan medula adrenalis, dimana hasil dari peningkatan ini akan meningkatkan terjadinya pelepasan adrenalin (A) dan noradrenalin (NA). Stres yang berkepanjangan juga akan meningkatkan aktivitas enzim pada sintesis adrenalin dan noradrenalin sehingga dapat meningkatkan konsentrasi adrenalin dan noradrenalin pada aliran darah dan di dalam otak.

Poros hipotalamus-pituitari-adrenal dipengaruhi oleh variasi pemicu terjadinya stres. Munculnya stres karena oleh pelepasan ACTH dari pituitari anterior. Adanya pelepasan ACTH ini menyebabkan meningkatnya pelepasan dan biosintesis hormon glucocorticoid dari kortek adrenal. Peningkatan hormon glucocorticoid dapat mempengaruhi konsentrasi adrenalin dan noradrenalin dalam adrenal medula ; Cortico releasing factor (CRF) disintesis dalam hipotalamus, merupakan penentu dalam peningkatan pelepasan ACTH selain adrenalin dan noradrenalin (Schenker, 1992).

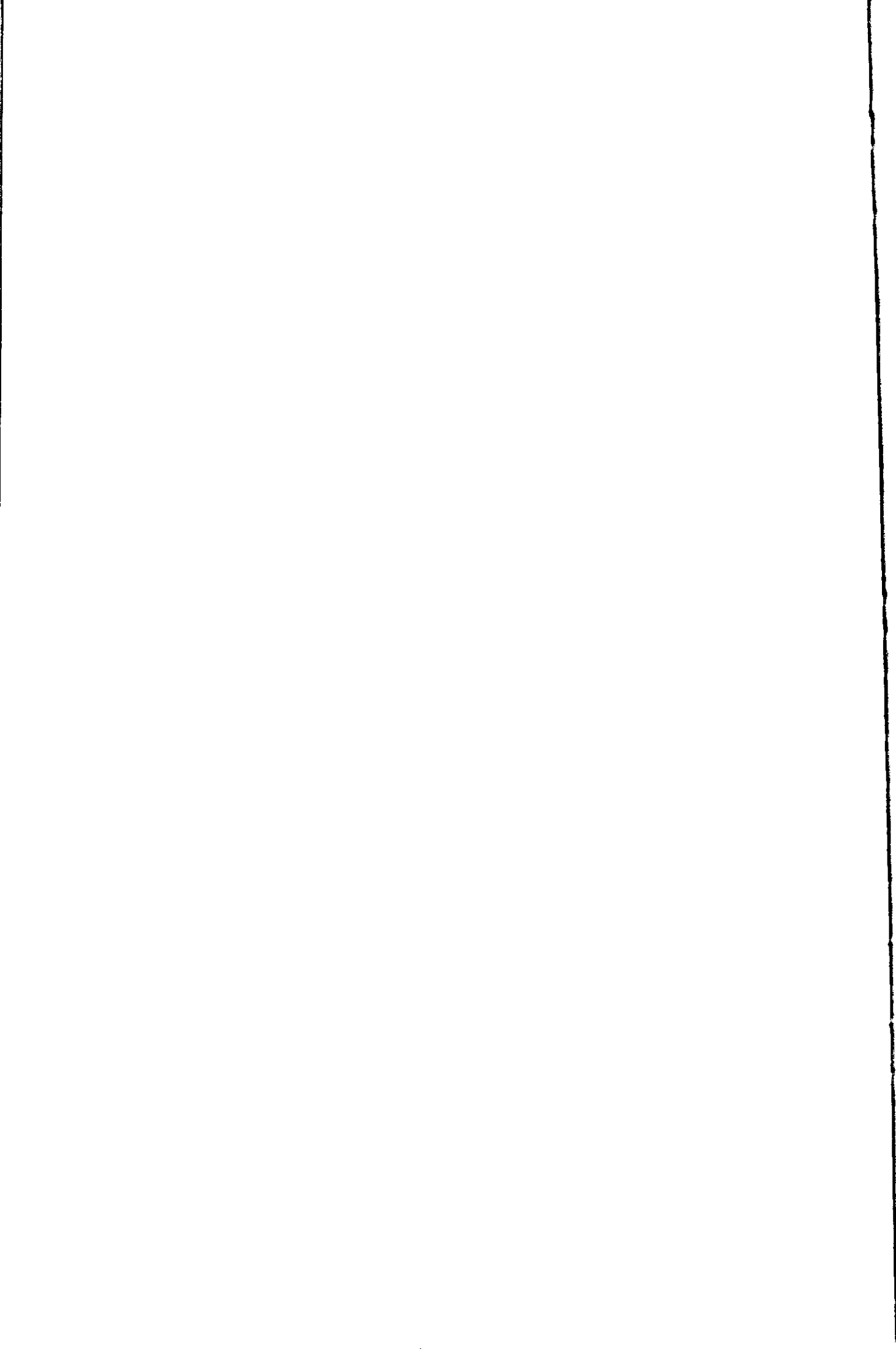




Gambar 1. Hubungan stres dalam infertilitas , secara fisiologis (Schenker, 1992)



Gambar 2. Hubungan stres dalam infertilitas : secara fisik atau psikogenik (Schenker, 1992)



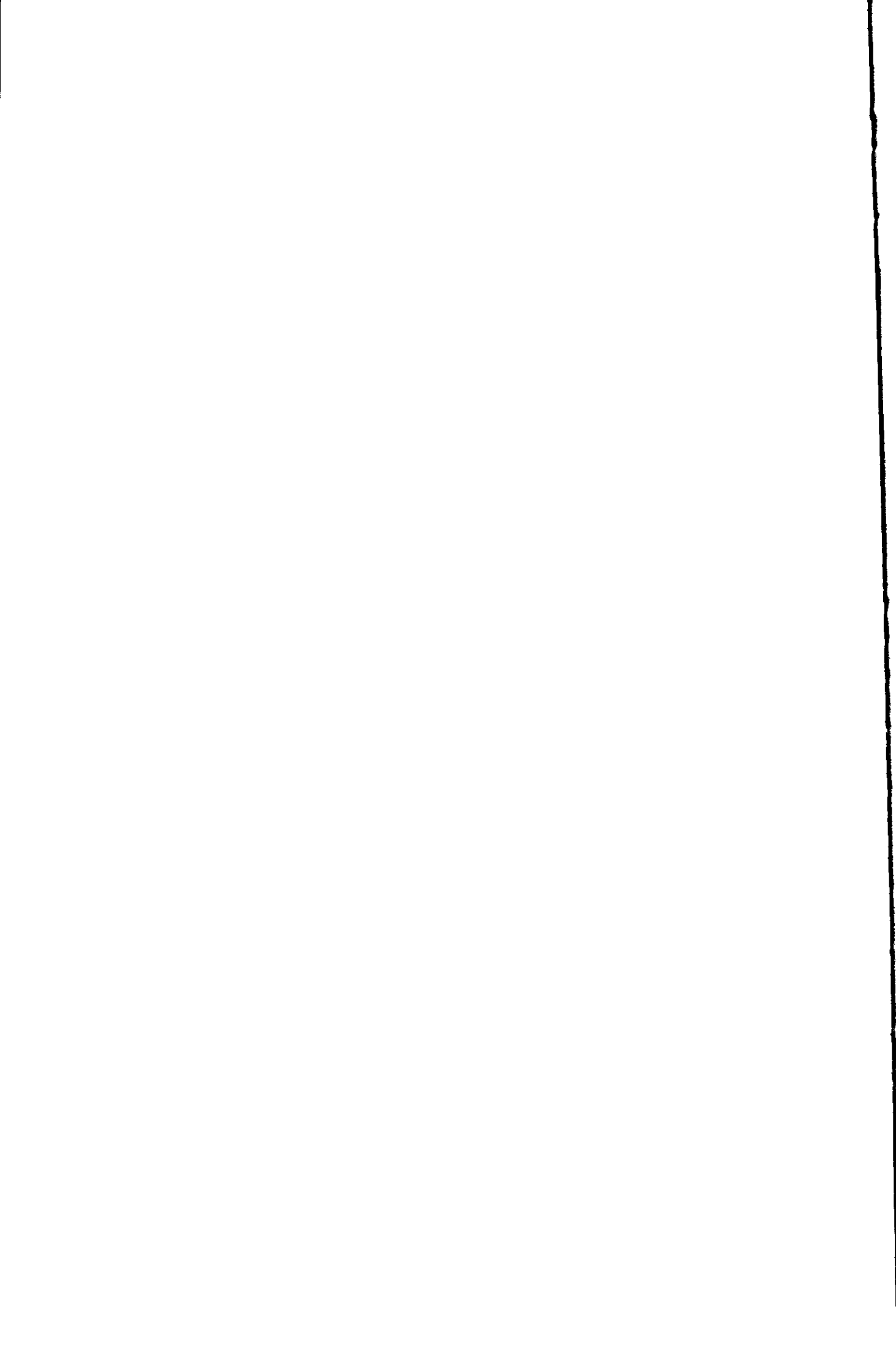
Amfetamin merupakan obat psikotropika golongan simpatomimetik amin. Obat ini bekerja dengan menstimuli susunan saraf pusat dan simpatomimetik periferinya. Efeknya terhadap SSP dapat menimbulkan, terjadinya pelepasan dopamin oleh ujung saraf dengan jalan menghambat penyimpanan oleh granular pool, menghambat reuptake dopamin dan menghambat proses pengrusakan dopamin oleh enzim MAO. Akibat yang timbul adalah terjadinya penumpukan dopamin di dalam *cytoplasmic pool*.

Dopamin yang bekerja sebagai prekursor NA, merupakan neurotransmitter dalam hipotalamus dan kelenjar pituitari. Meningkatnya konsentrasi dopamin dalam sistem saraf pusat dapat mempengaruhi terjadinya stres. Hubungan antara stres dengan terminal saraf GnRH adalah terjadinya stres karena meningkatnya dopamin mempunyai efek menghambat sekresi GnRH, sehingga dengan meningkatnya dopamin dapat menghambat sekresi LH oleh GnRH (gambar 3).

2.2 Hubungan Fisiologi Antara Stres dan Fertilitas

Fertilitas pria merupakan suatu tantangan pada tahun 1990-an. Selama tahun 1980-an, banyak spesialis yang menyatakan bahwa infertilitas pria lebih dari 50% dari semua diagnosis infertilitas, dan menurut Jennings (1994) hampir 30% dari semua kasus infertilitas melibatkan masalah pada pria.

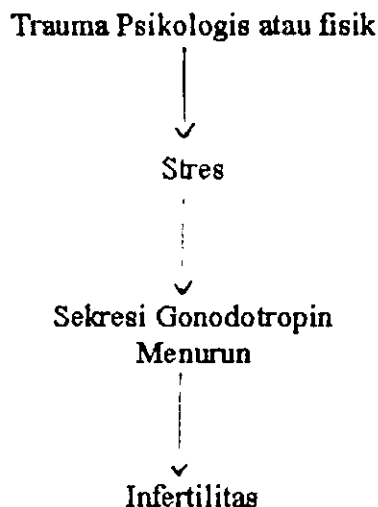
Hampir 15% pasangan di dunia pada kehamilan pertamanya mengalami kegagalan, dan 5% kegagalan fertilitas itu disebabkan karena faktor stres (Schenker, 1992). Pasangan yang tergolong fertil jika mereka pernah mengandung setelah satu



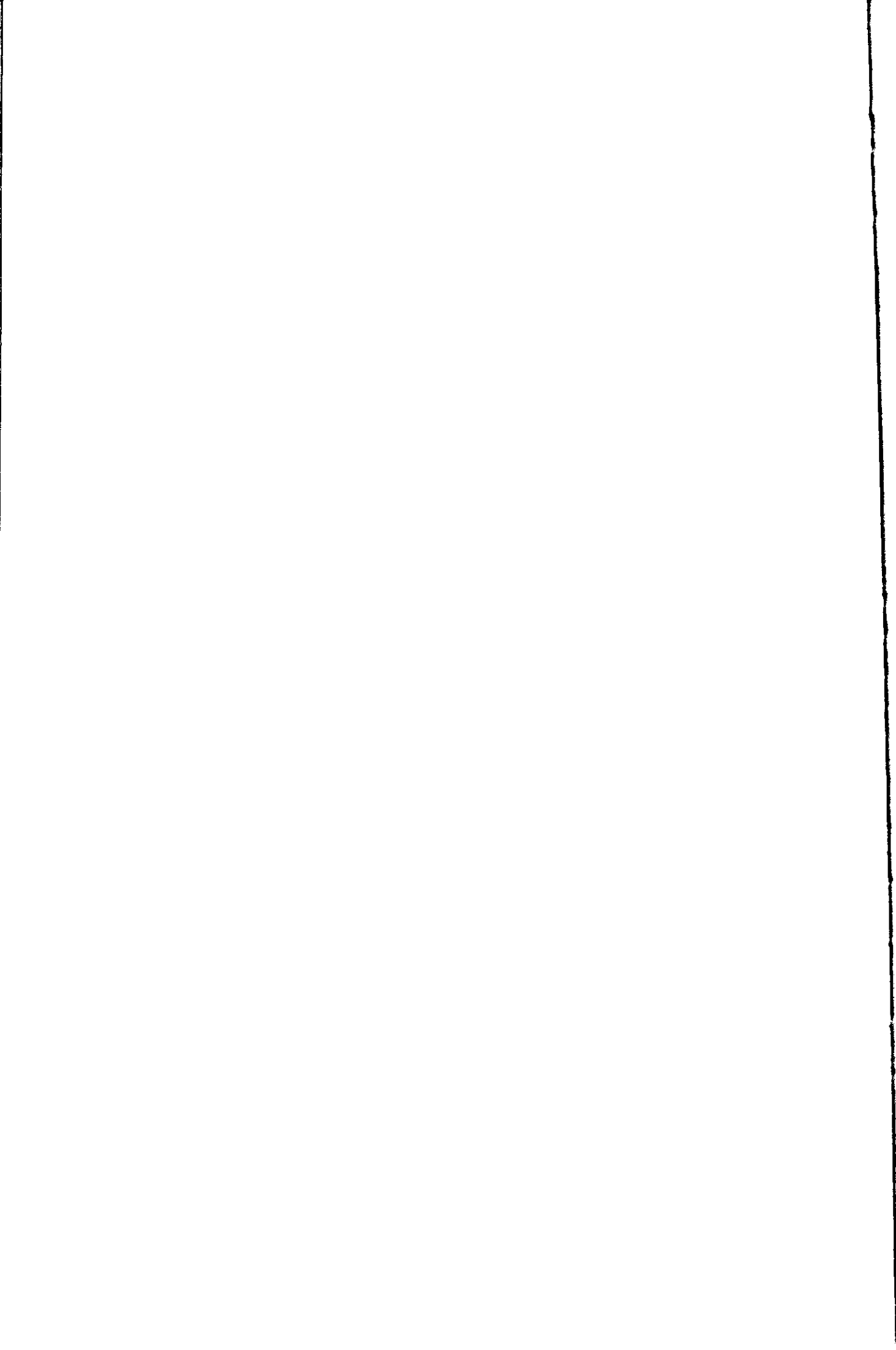
tahun perkawinan. Pada konsepsi yang normal dalam 12 bulan ada 80% - 85% pasangan yang tanpa menggunakan alat kontrasepsi akan terjadi kehamilan (Shaban, 1995).

Keadaan stres memicu terjadinya kegagalan fertilitas pada pria, karena peningkatan stres mempengaruhi sirkulasi hormon dalam gonad (testis). Sedangkan perkembangan sel-sel penyusun gonad sangat bergantung pada pengaturan dan sirkulasi hormon steroid (Schenker, 1992 ; Speroff, 1994).

Beberapa obat psikotropik yang mempunyai mekanisme stimulan SSP dapat menyebabkan terjadinya penurunan fungsi reproduksi karena menurunnya suplai nutrien dan senyawa lain melalui mekanisme vasokonstriksi pembuluh darah (George, 1996). Selain itu menurut Speroff (1994) akibat penggunaan obat-obat tersebut melalui poros hipotalamus-pituitari anterior-testis, dapat menurunkan fungsi fertilitas melalui gangguannya pada sekresi gonadotropin sehingga mempengaruhi sekresi steroid oleh testis.



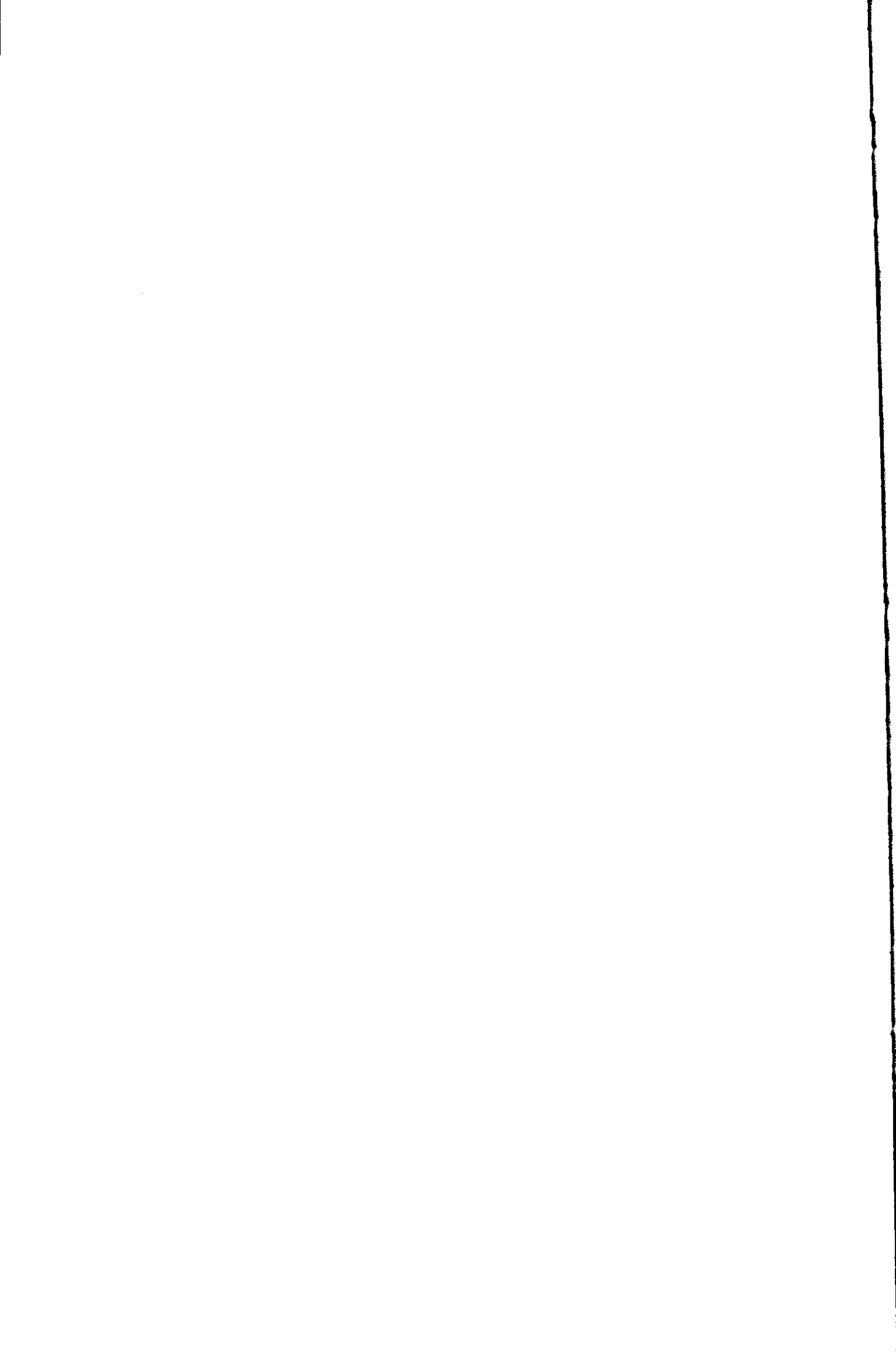
Gambar 14 Pengaturan stres dalam infertilitas disebabkan oleh fisik atau psikologis (Schenker, 1992)



Pria dikatakan infertil bila berdasarkan analisis sperma hasilnya Oligo-Asteno-Tetato-Zoospermia (OAT) (Adimoelja, 1997). Hasil ini pada hakekatnya masih belum dapat dijadikan patokan untuk infertilitas pria. Karena dari analisis sperma yang sama bisa menyebabkan hasil yang berbeda dalam waktu yang berdekatan. Oleh karena itu perlu dipertimbangkan untuk mengetahui patogenesis terjadinya OAT. Menurut Jennings (1994), Faktor utama yang menyebabkan terjadinya infertilitas pada pria adalah azoospermia dan kondisi tidak adanya fungsi testis. Hal ini dinyatakan setelah dilakukan pembedahan pada testis dan test darah. Terjadinya azoospermia ini karena adanya kegagalan atau pembuntuan dalam vasdeferens sedangkan dari test darah diperoleh tingginya tingkat FSH dan LH yang merupakan tanda-tanda gagal testis primer. Menurut acuan WHO, klasifikasi penyebab infertilitas pria adalah gangguan endokrin, disfungsi kelenjar asesoris, kelainan genetik, infeksi, imunologik, radiasi, dan keracunan obat-obatan. Beberapa senyawa yang dibutuhkan oleh sel-sel gonad dalam perkembangannya adalah protein, carnitine, karbohidrat, lipid, steroid, oksigen, dan molekul-molekul kecil lainnya (Insler, 1993).

2.3 Penyerapan dan Ekskresi Amfetamin

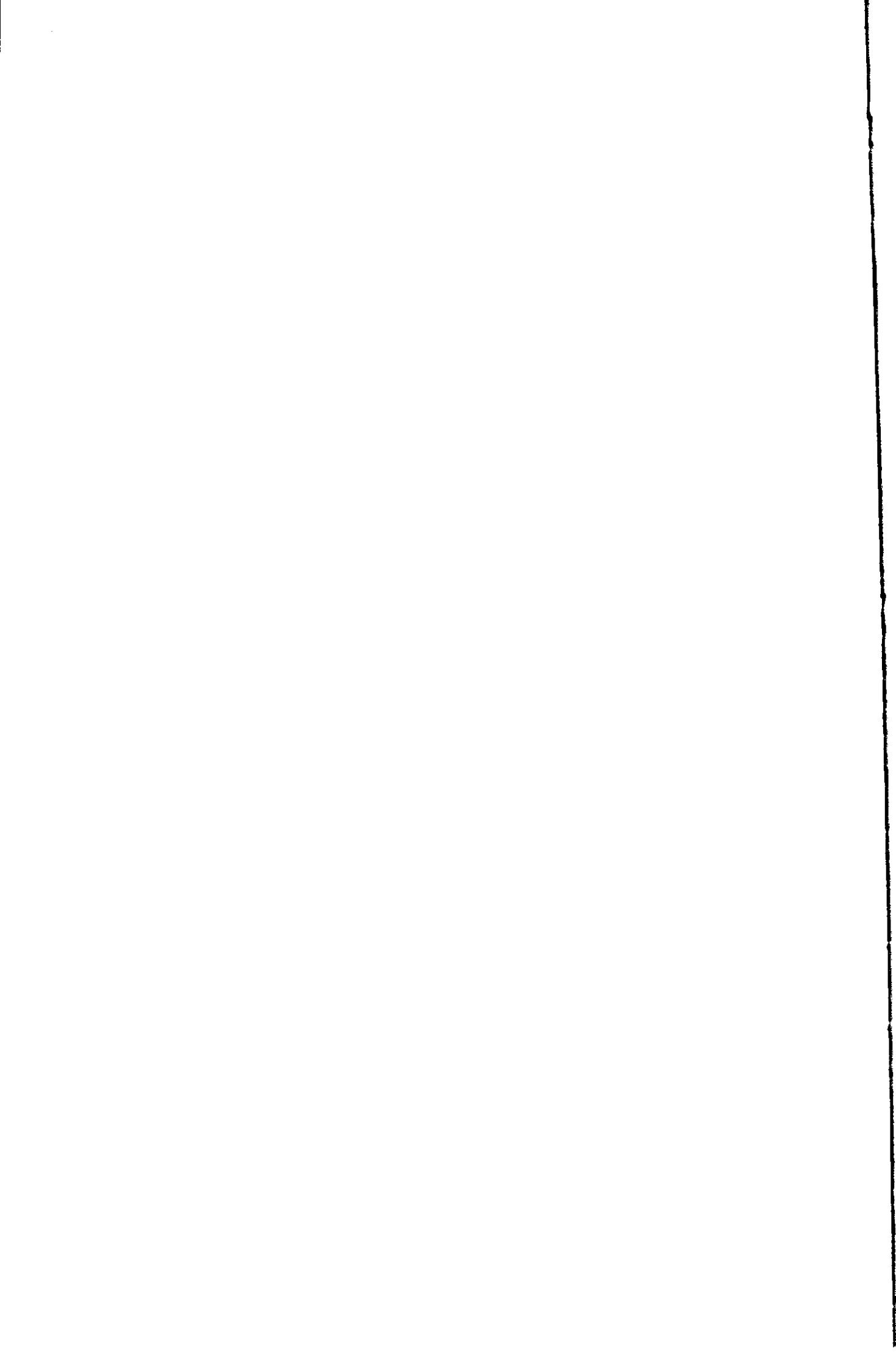
Konsentrasi amfetamin dalam plasma darah mencerminkan konsentrasinya dalam jaringan tubuh dan bagian otak. Hubungan antara darah dan otak sangat dekat, konsentrasi amfetamin dalam darah dapat menyebabkan naikturunnya konsentrasi di otak.



Pemberian amfetamin secara suntik intravena dapat menyebabkan penyerapan lengkap oleh tubuh (100% dari obat). Obat akan disebarkan ke seluruh tubuh oleh pembuluh darah dan larutan lemak. Intensitas efek obat mencerminkan tingkat obat dalam darah dan otak. Pada pemberian yang berulang dapat menguatkan tahanan dan puncak obat dalam darah. Pemberian secara suntik intramuskular sama dengan rute oral, penyerapannya melalui otot seperti pada sistem gastrointestinal. Puncak tertinggi bergantung pada efisiensi penyerapan, aliran darah, ionisasi obat, dan ekskresi.

Amfetamin disekresikan melalui ginjal dalam bentuk urine. Konsentrasi obat dalam ekskresi ginjal mengikuti konsentrasi obat dalam plasma, pH urine, dan aliran, urine. Dalam asam urine (pH = 5) molekul amfetamin mengalami ionisasi 99% dan larut dalam air.

Komposisi obat dalam keringat berasal dari plasma darah yang ditentukan oleh mekanisme reabsorpsi dan pertukaran ion. Besar konsentrasi obat dalam keringat sama dengan konsentrasi dalam darah. Konsentrasi saliva juga mencerminkan tingginya obat dalam darah (Giannini, 1989).



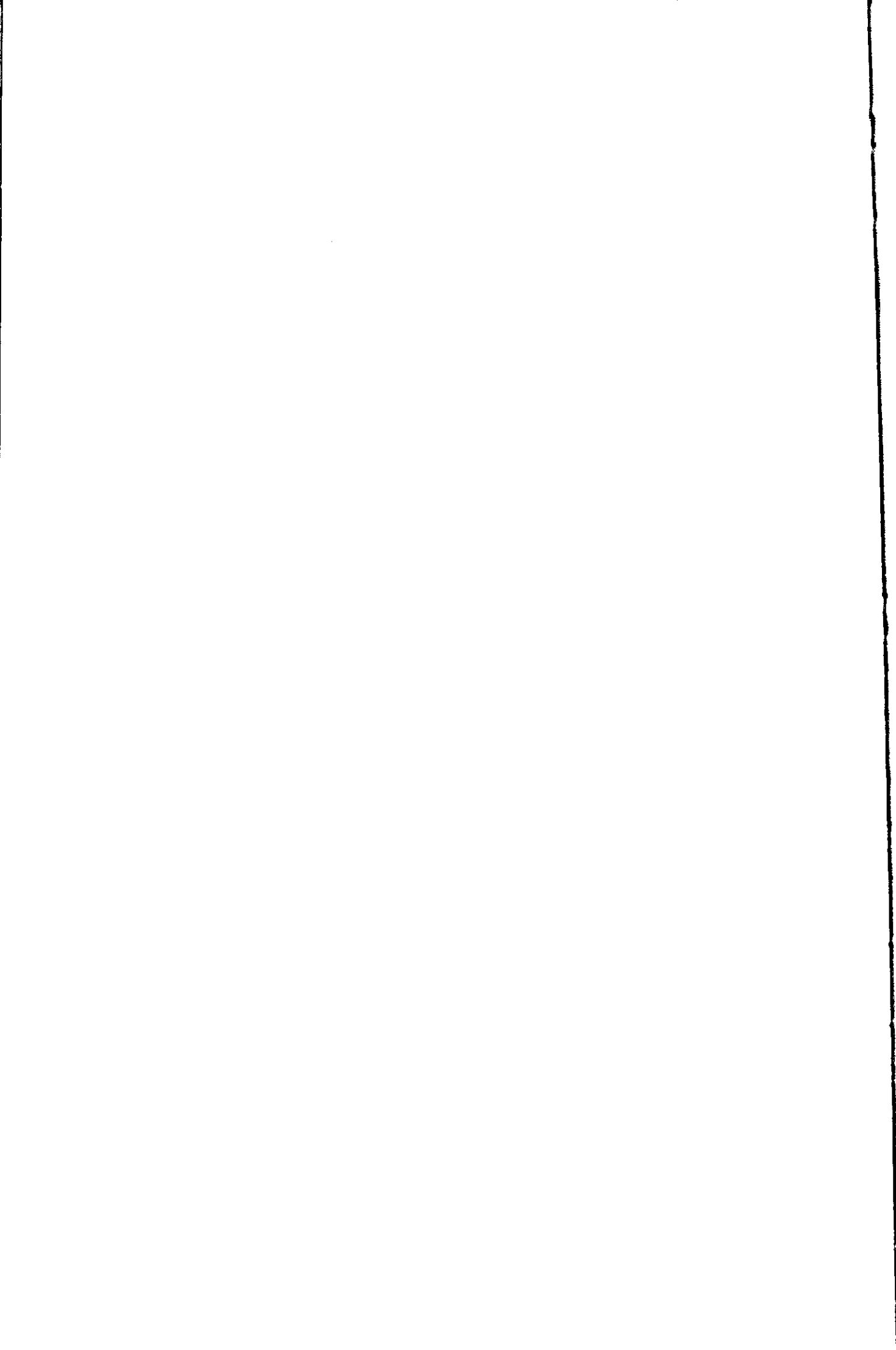
2.4 Anatomi dan Histologi Testis

Testis merupakan kelenjar benih organ seks primer laki-laki yang dapat memproduksi sperma dan hormon seks. Pada mamalia jumlahnya sepasang, berbentuk bulat panjang, dan tersimpan dalam skrotum. Testis dibungkus oleh beberapa lapisan jaringan parenkim yaitu tunika vaginalis, tunika albuginea, dan tunika vaskuola. Dari tunika albuginea terdapat trabekula-trabekula yang memanjang menuju posterior pada mediastinum, sehingga membagi testis menjadi lobuli-lobuli.

Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus, sel germinal, dan sel penunjang atau sel Sertoli. Tubulus seminiferus merupakan suatu saluran tempat memproduksi spermatozoa, merupakan bagian terbesar (90%) dan sisanya adalah jaringan ikat, jaringan saraf, dan sel-sel Leydig. Sel germinal adalah sel yang nantinya akan menjadi spermatozoa. Sedangkan sel Sertoli adalah sel yang letaknya di lamina basalis menjorok ke dalam lumen. Sel Sertoli yang masih muda masih soliter tetapi setelah dewasa sitoplasmanya berhubungan satu dengan lainnya membentuk *Syncethium Sertoli*.

Parenkim testis terbagi menjadi lobus-lobus piramidalis yang berisi lilitan-lilitan tubulus seminiferus yang padat, berhimpitan dengan stroma jaringan intersitial yang di dalamnya terdapat pembuluh darah dan sel Leydig. Sel Leydig tersusun dalam kelompok membentuk seperti tali, setiap sel diikat oleh kapiler darah, bentuk selnya tidak teratur (polihedral) dengan inti bulat dan kromatinnya terletak di perifer. Di antara sel-sel yang berbatasan terdapat kanalikuli interseluler serta *gap junction*.

Tubulus seminiferus tertutup oleh lapisan epitel germinal yang mengandung sel hingga lima lapis. Epitel ini tersusun dari sel-sel spermatogenik dan sel Sertoli. Membran dasarnya dikelilingi oleh suatu kapsula jaringan fibroblastis. Bagian terluar dari dinding

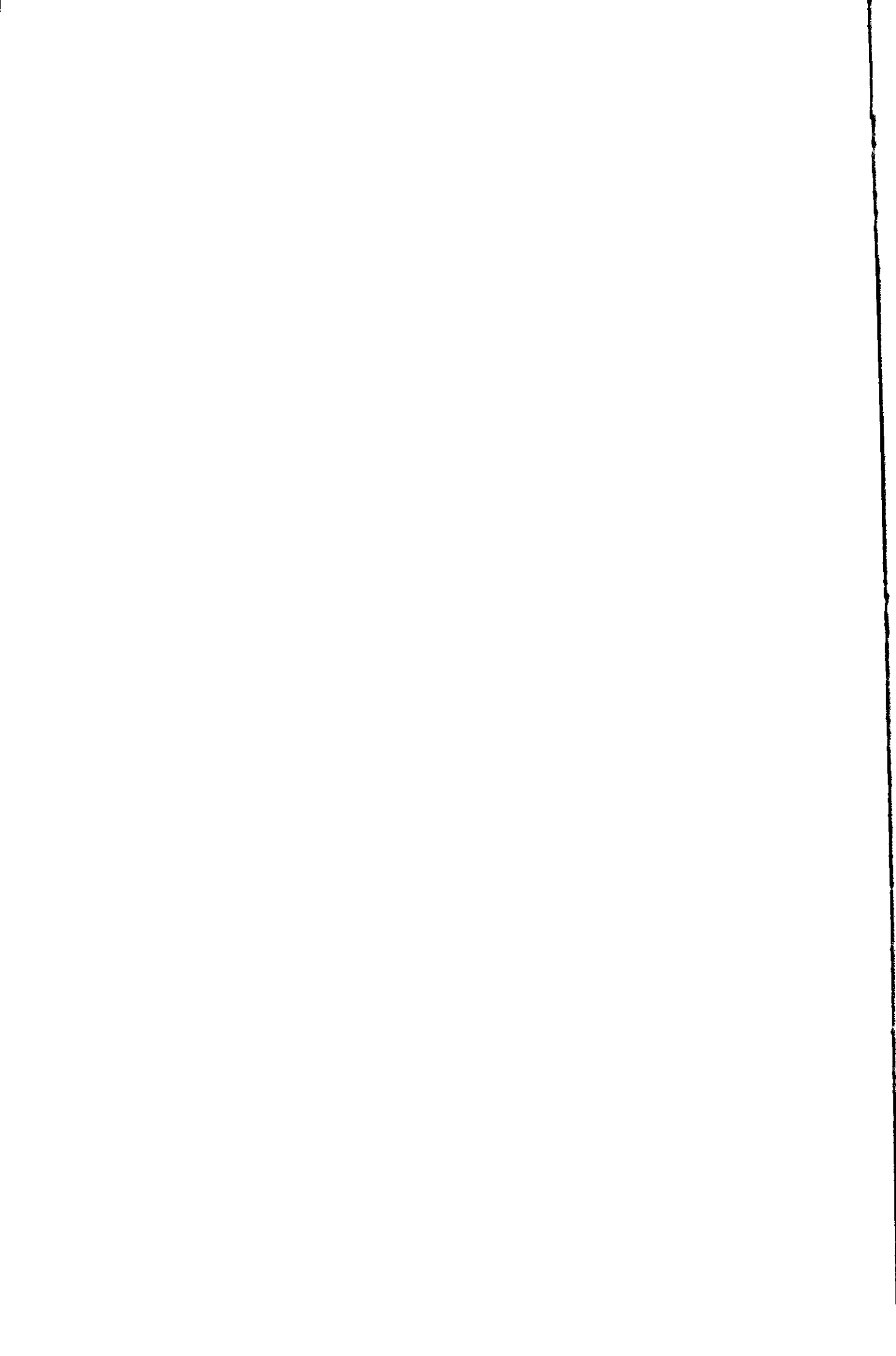


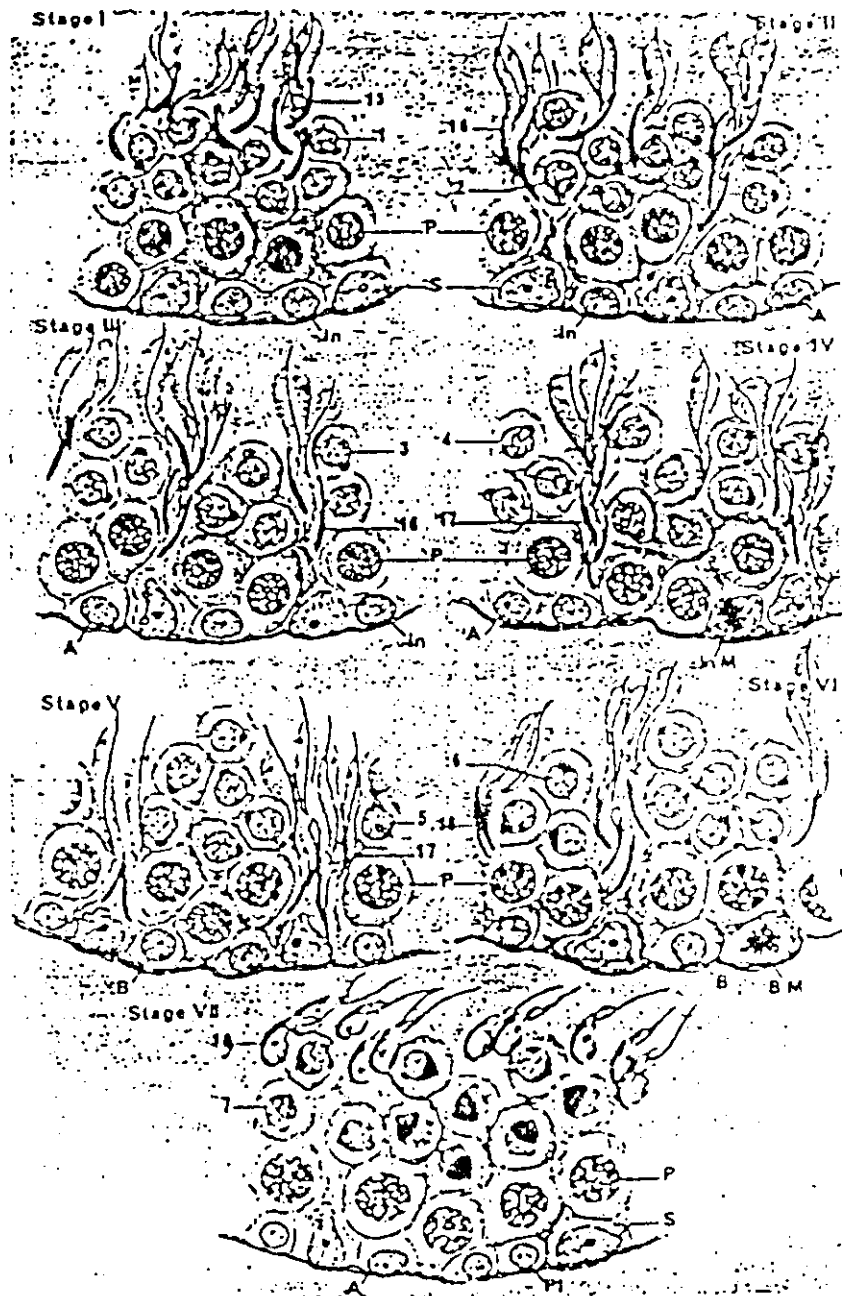
tubulus adalah spermatogonia yang terpisah dari dinding oleh tonjolan-tonjolan sel Sertoli. Sel spermatogonia berbentuk kubus atau bulat dengan inti yang terang. Spermatisit primer tampak menonjol ke dalam lumen merupakan sel yang lebih besar, mempunyai kromatin dan berinti. Spermatisit sekunder jarang tampak, bentuknya lebih kecil. Sel yang tumpang tindih dengannya adalah spermatid yaitu sel yang jauh lebih kecil dan berinti, vesikular, besar dan terletak di sentral. Pada perbatasan dengan lumen tampak spermatozoa yang terbentuk sepenuhnya berinti gelap, memanjang dan berflagela. Melalui irisan melintang, terlihat suatu profil dari semua tahap pembentukan spermatozoa dari spermatogonia (gambar 5).

2.5 Fungsi normal testis

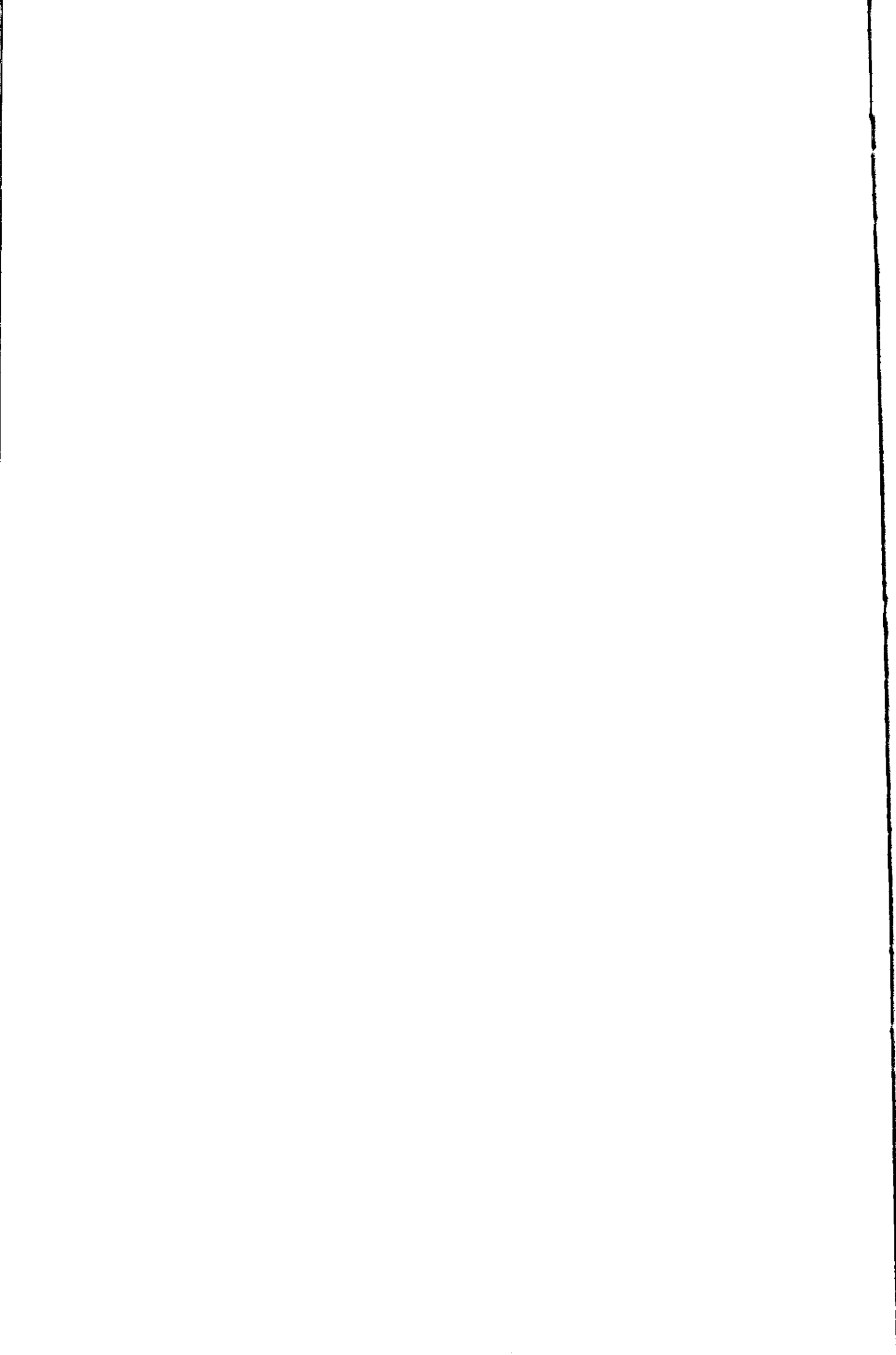
Testis sebagai organ reproduksi pria mempunyai dua fungsi yaitu (1) spermatogenesis yang menghasilkan spermatozoa (dalam epitel tubulus seminiferus) dan (2) steroidogenesis yang menghasilkan hormon steroid (dalam sel Leydig) dan dapat menginduksi terjadinya perilaku seksual, menyiapkan saluran-saluran reproduksi dan fungsi lainnya. Kedua fungsi tersebut bergantung pada sekresi gonadotropin dari hipofise anterior melalui poros hipotalamus-hipofise-testis (Tienhoven, 1983).

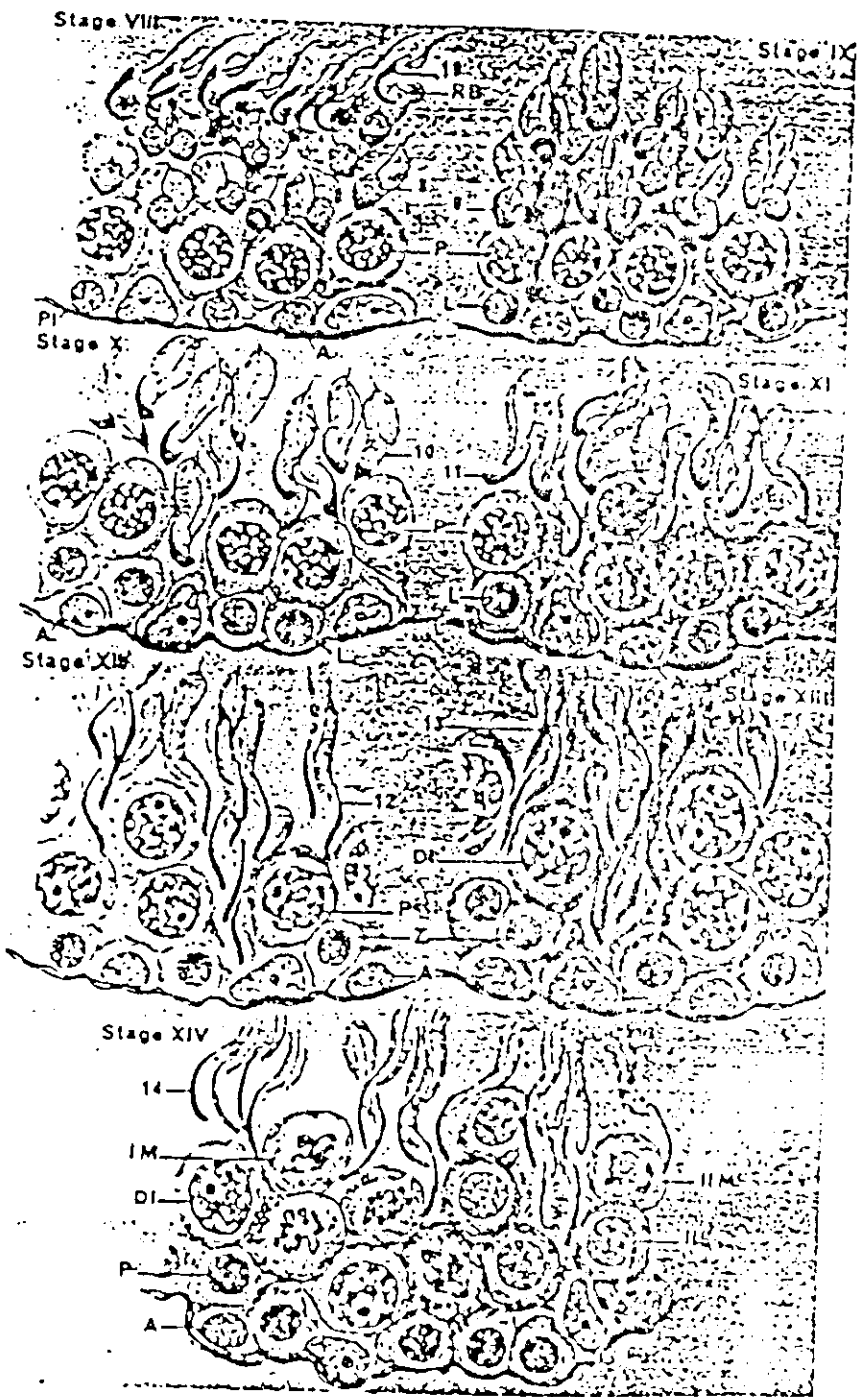
Spermatogenesis merupakan suatu proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium melalui suatu perkembangan yang kompleks dan teratur. Lama satu siklus spermatogenesis dapat diukur dari terjadinya perubahan spermatogonia tipe A sampai menjadi spermatozoa. Waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus spermatogenesis

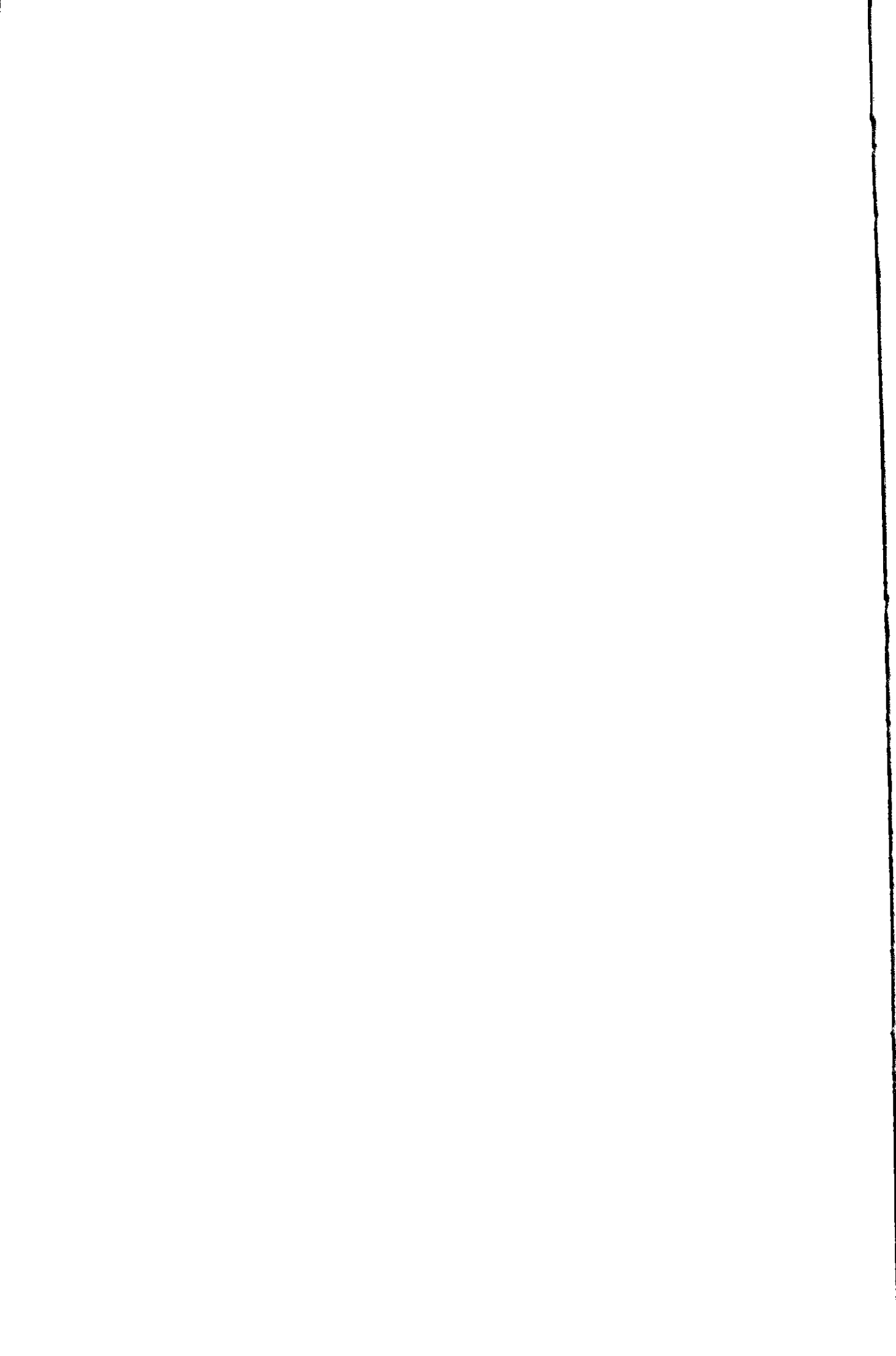




Gambar 5 Urutan 14 tingkatan (romawi I - XIV) dari siklus epitel seminiferus pada tikus. A, In, dan B = tipe A, tipe intermedia, dan tipe B; InM, BM = tipe intermedia dan tipe B dalam mitosis; P = spermatosit primer proleptoten; L = spermatosit leptoten; Z = spermatosit sigoten; P = spermatosit pakiten; S = sel Sertoli; D = spermatosit diploten; I - spermatosit sekunder, IM, IIM = meiosis I dan II; 1-19 variasi tahap spermatid dari spermatogenesis; RB = badan residual (Tienhoven, 1983)





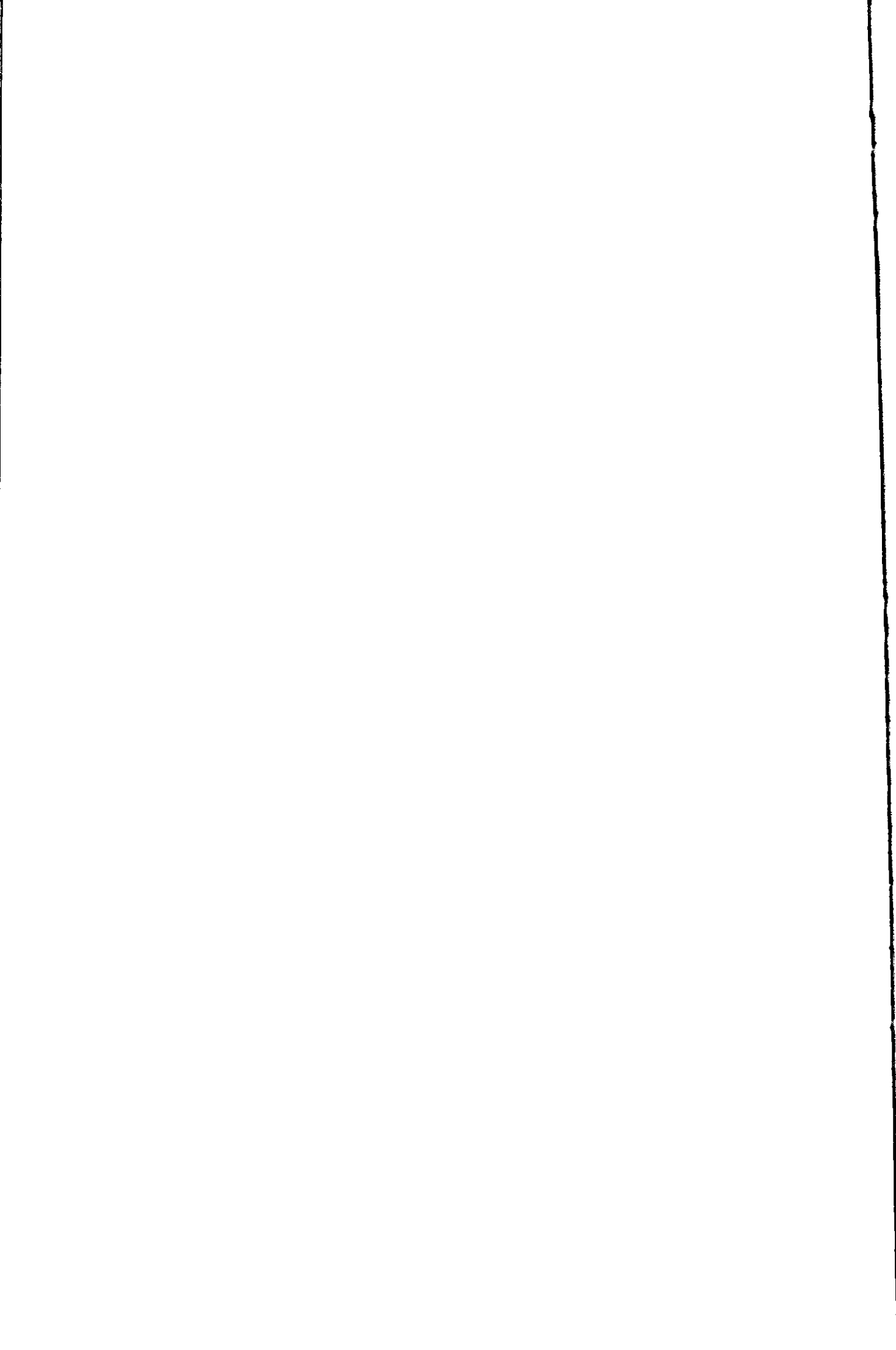


tikus adalah 49 hari dan lama satu daur epitel seminiferus adalah 12,3 hari (Tienhoven, 1983).

Spermatogonia merupakan sel diploid yang relatif kecil yang intinya mengandung kromatin. Sel spermatogonia pada tikus dapat dibedakan menjadi 2 tipe yaitu sel "*dusty*" (spermatogonia tipe A) dan sel "*crusty*" (spermatogonia tipe B). Di antara kedua tipe tersebut terdapat spermatogonia intermedia. Pada manusia, sel spermatogonia ini dibedakan menjadi 3 tipe yaitu spermatogonia tipe A gelap, tipe A pucat, dan tipe B (Kretser, 1988).

Spermatogonia A (sel germinal) mengalami proses pembelahan menjadi spermatogonia A_1 dan spermatogonia A_0 merupakan cadangan dan tidak berkembang sampai terbentuknya spermatosit primer. Selanjutnya spermatogonia A_1 masuk dalam siklus spermatogenesis dan mengalami pembelahan menjadi spermatogonia intermedia. Spermatogonia intermedia akan membelah dan kemudian menjadi lebih besar yang disebut sel spermatogonia B. Selanjutnya spermatogonia B membelah menjadi spermatosit primer.

Spermatosit primer kemudian mengalami pembelahan meiosis yang mengakibatkan terjadinya reduksi jumlah kromosom dari diploid menjadi haploid. Pembelahan meiosis pertama diawali dengan stadium praleptoten, leptoten, zygoten, pakhiten, dan stadium diploten yang akhirnya akan menghasilkan spermatosit sekunder. Kemudian memasuki pembelahan meiosis kedua yang menghasilkan spermatid yang haploid. Spermatid kemudian mengalami perubahan menjadi spermatozoa melalui proses diferensiasi yang kompleks yang disebut sebagai proses spermiogenesis (Johnson, 1995; Tienhoven, 1983).



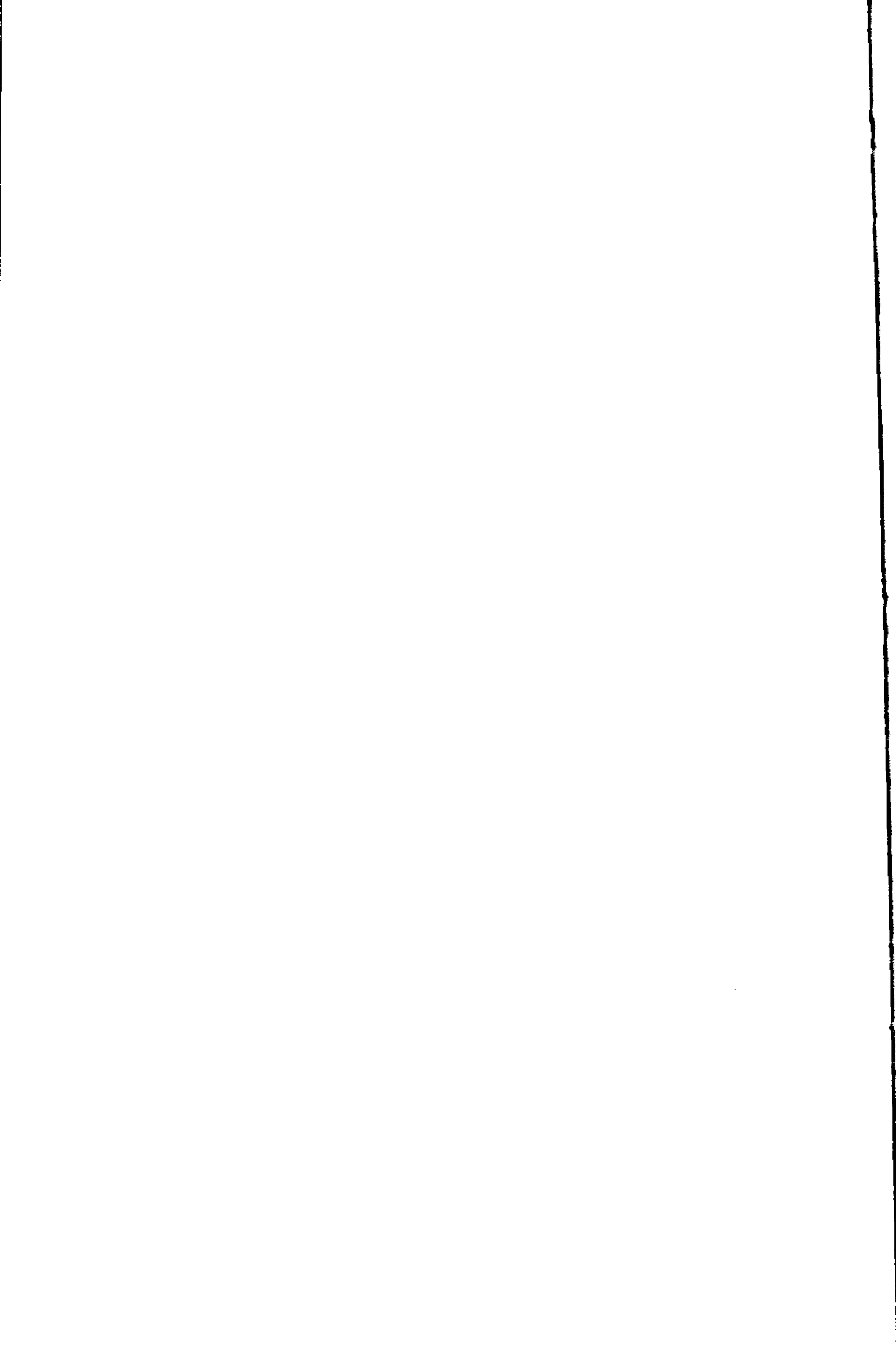
2.6. Infertilitas pada Pria

Hampir 15% pasangan di dunia pada kehamilan pertamanya mengalami kegagalan. Pasangan yang tergolong infertil primer jika mereka tidak pernah mengandung setelah satu tahun perkawinan tanpa proteksi pada saat berhubungan. Pada konsepsi yang normal dalam 12 bulan ada 80% - 85% pasangan yang tanpa menggunakan alat kontrasepsi akan terjadi kehamilan. Dari data penelitian yang telah dilakukan, terjadinya infertilitas yang disebabkan karena faktor wanita 40%, faktor pria 30%, faktor wanita dan pria 20% dan faktor idiopatik 10% (Shaban, 1995).

Infertilitas pria merupakan suatu tantangan pada tahun 1990-an. Selama tahun 1980-an, banyak spesialis yang menyatakan bahwa infertilitas pria lebih dari 50% dari semua diagnosis infertilitas. Hampir 30% dari semua kasus infertilitas melibatkan masalah pada pria (Jennings, 1994).

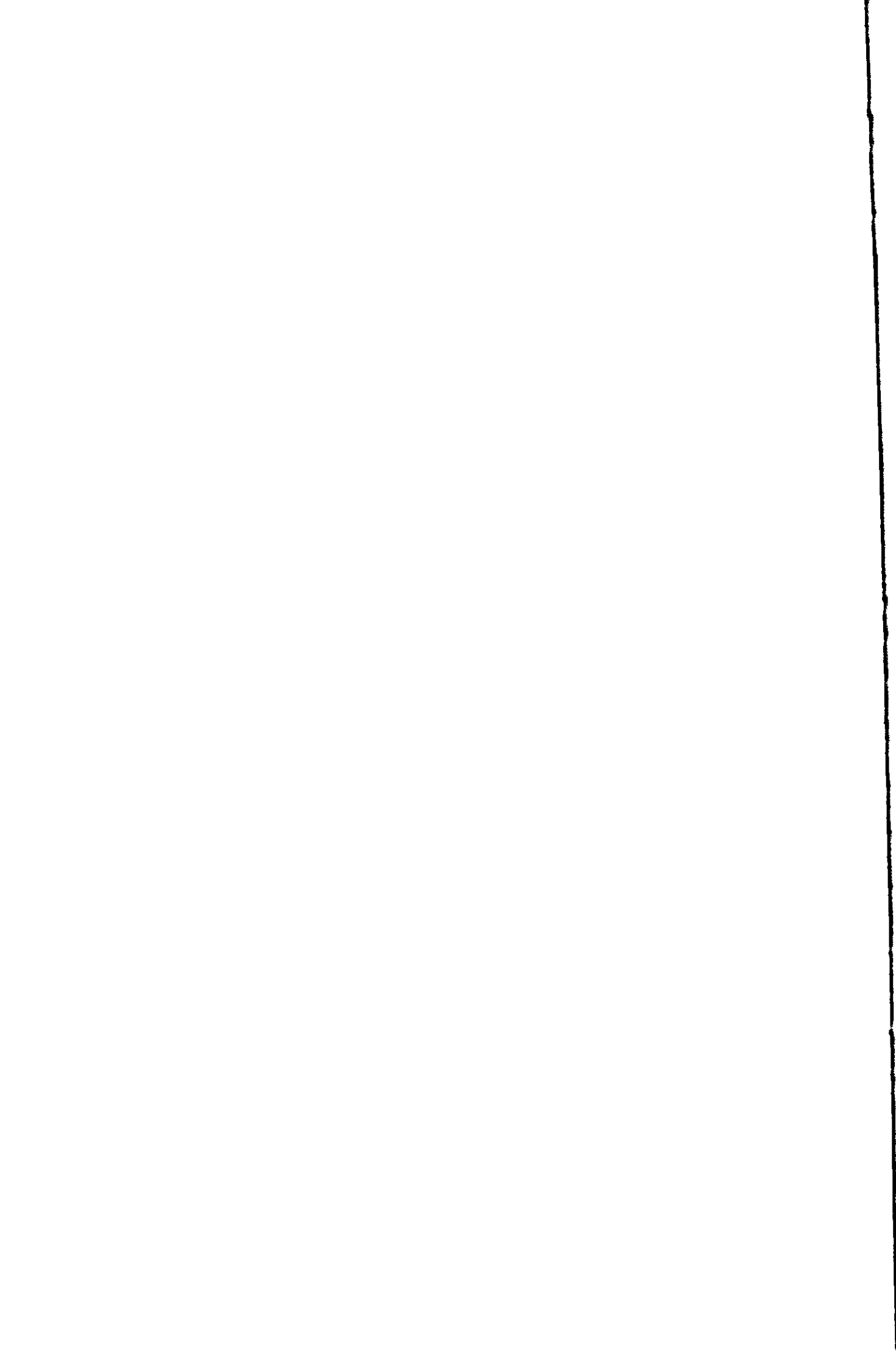
Pria dikatakan infertil bila berdasarkan analisis sperma hasilnya Oligo-Asteno-Tetato-Zoospermia (OAT) (Adimoelja, 1997). Hasil ini pada hakekatnya masih belum dapat dijadikan patokan untuk infertilitas pria. Karena dari analisis sperma yang sama bisa menyebabkan hasil yang berbeda dalam waktu yang berdekatan. Oleh karena itu perlu dipertimbangkan untuk mengetahui patogenesis terjadinya OAT. Menurut Jennings (1994), Faktor utama yang menyebabkan terjadinya infertilitas pada pria adalah azoospermia dan kondisi tidak adanya fungsi testis. Hal ini dinyatakan setelah dilakukan pembedahan pada testis dan test darah. Terjadinya azoospermia ini karena adanya kegagalan atau pembuntuan dalam vasdeferens sedangkan dari test darah diperoleh tingginya tingkat FSH dan LH yang merupakan tanda-tanda gagal testis primer.

Menurut acuan WHO, klasifikasi penyebab infertilitas pria adalah gangguan



endokrin, disfungsi kelenjar asesoris, kelainan genetik, infeksi, imunologik, radiasi, dan keracunan obat-obatan. Beberapa obat psikotropik yang mempunyai mekanisme stimulan SSP dapat menyebabkan terjadinya penurunan fungsi reproduksi karena menurunnya suplai nutrien dan senyawa lain melalui mekanisme vasokonstriksi pembuluh darah (George, 1996). Selain itu menurut Speroff (1994) akibat penggunaan obat-obat tersebut melalui poros hipotalamus-pituitari anterior-testis, dapat menurunkan fungsi fertilitas melalui gangguannya pada sekresi steroid oleh testis.

Beberapa senyawa yang dibutuhkan oleh sel-sel gonad dalam perkembangannya adalah protein, carnitine, karbohidrat, lipid, steroid, oksigen, dan molekul-molekul kecil lainnya (Insler, 1993). Di dalam biosintesis protein, asam-asam amino yang diperoleh melalui aliran darah kemudian disintesis di retikulum endoplasmik halus (RER) sehingga terbentuklah polipeptida dan glikoprotein. Senyawa hasil sintesis ini kemudian di lepaskan ke lumen melalui golgi apparatus. Carnitine Diperlukan untuk viabilitas sperma dan marker epididimis untuk mendeteksi adanya obstruksi. Sedangkan karbohidrat (fruktosa, glukosa, asam sitrat) dan lainnya juga diperlukan dalam perkembangan spermatozoa.



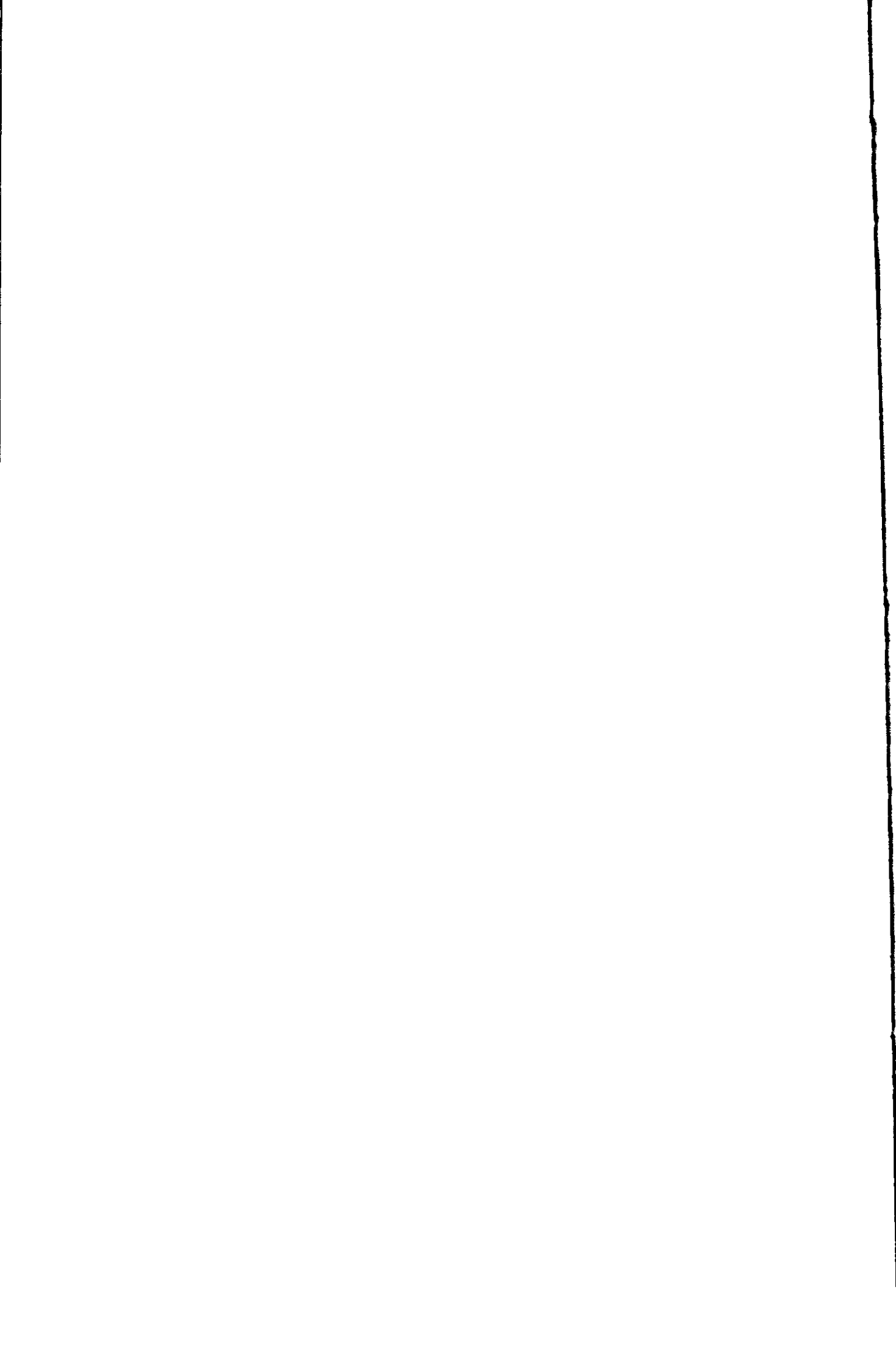
2.7 Suplai Darah Menuju ke Organ Genetal Pria

Darah yang mengalir di dalam tubuh melalui dua macam pembuluh, yaitu pembuluh arteri dan vena. Terdapat tiga macam pembuluh arteri yang berasal dari suplai aorta menuju ke traktus genital pria. Arteri testikular kanan dan kiri, juga disebut arteri spermatica interna, yang mensupali testis, epididimis, dan otot cremaster, dan juga berhubungan dengan arteri dari vas deferen. Satu lagi arteri iliaca communis yang mengalir ke arteri iliaca eksterna dan interna yang akan mensuplai semua organ genital.

Ada lima cabang pembuluh vena yang mengalir menuju vena dari berbagai organ, yaitu pleksus cremaster, pleksus pudendal, pleksus prostat, pleksus vesikal, dan pleksus pampiniformis. Pleksus cremaster dan pleksus pampiniformis menghubungkan pleksus kiri dan pleksus kanan, dan di sisi sama juga menghubungkan pleksus cremaster dan pleksus pampiniformis.

Ciri khas sistem vena adalah sebagai berikut.

- (1) Hubungan antara pembuluh vena berbeda pada setiap tahap dari sistemnya, di mana sebagian aliran darah berasal dari testis dapat menjangkau masuk ke vena. Jika vena besar dibloking, maka darah akan mengumpul menuju ke vena yang kecil.
- (2) Vena spermatika kanan dan kiri dapat menjangkau vena cava melalui jalan yang berbeda. Saluran sebelah kanan biasanya secara langsung dapat masuk ke vena cava, sedangkan aliran sebelah kiri melalui vena renalis kiri.
- (3) Rute alternatif untuk masuknya darah dari prostat, glandula vesikalis, dan pleksus pudendal dihubungkan ke vena sunsum tulang belakang menuju ke otak.

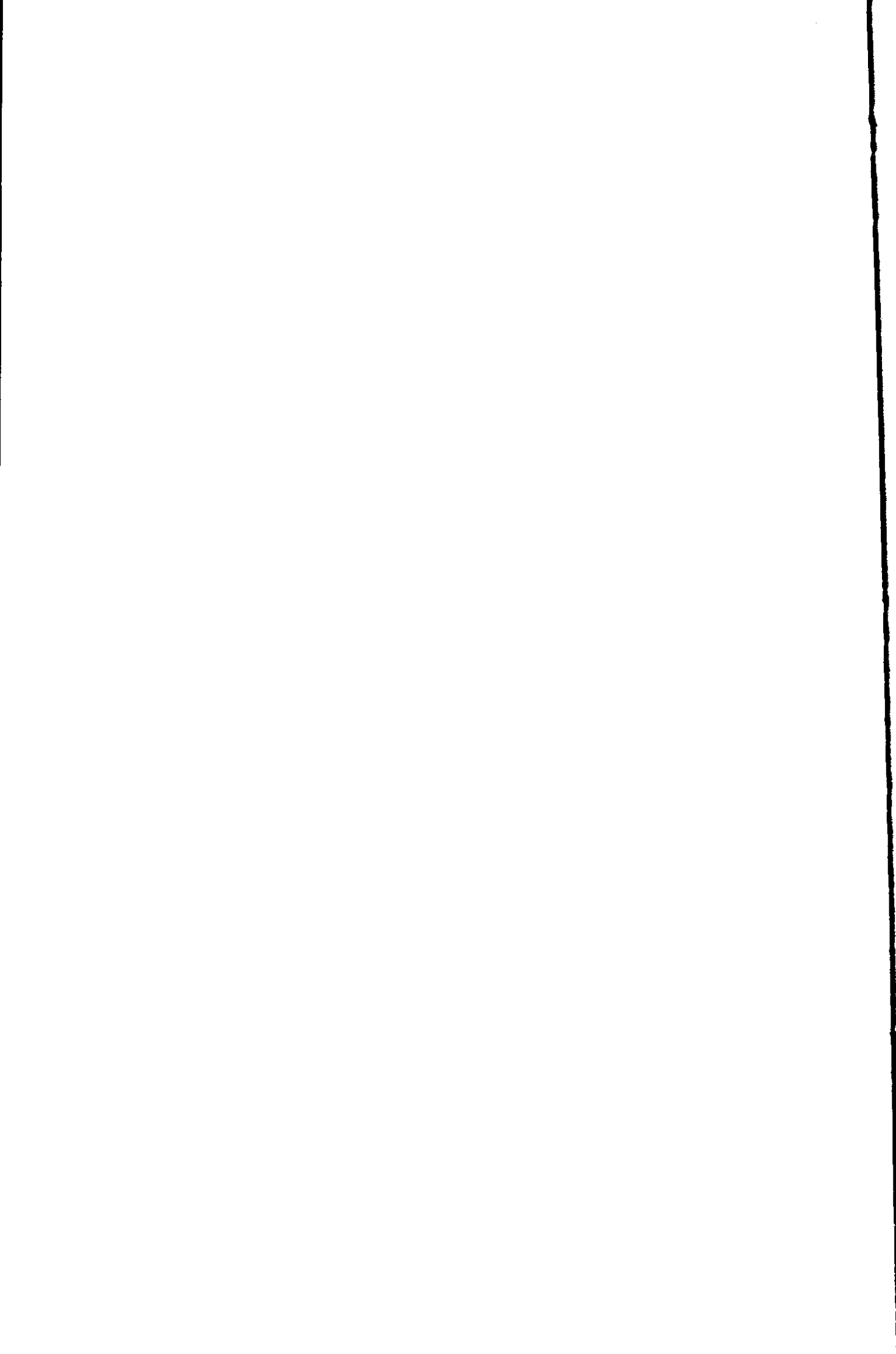


Jadi secara umum masuknya darah dari beberapa kelenjar dan organ dapat mengalir secara langsung ke dalam vena cava atau pada sisi lainnya dapat mengalir ke vena iliaca eksterna dan interna (Insler, 1993).

2.8 Pemilihan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus. Pemilihan hewan ini berdasarkan pada alasan bahwa :

- (1) tikus merupakan salah satu hewan percobaan yang dapat digunakan untuk menguji potensi reproduksi pada orang laki-laki selain kelinci,
- (2) tikus mudah berkembangbiak, masa hidupnya pendek (24 sampai 30 bulan), berat badan hanya beberapa ratus gram, dan biaya tempat,
- (3) untuk mengetahui fungsi normal testis dapat menggunakan hewan ini karena perkembangan epitelium seminiferusnya dapat lebih jelas terlihat,
- (4) tikus mempunyai pertumbuhan tubuh praktis tidak berhenti meskipun sudah dewasa. Berat badan tikus pada waktu lahir 5 - 6 gram, pada waktu dewasa tikus jantan beratnya 300 sampai 400 gram, tikus betina 250 sampai 300 gram. Masa pubertas 50 ± 10 hari. Pada umur 11 sampai 12 minggu sudah dapat dikawinkan, di mana perkawinan dilakukan 2 jam sesudah waktu gelap, dan
- (5) makanan tikus berupa makanan kering, berbentuk pelet yang telah disusun memenuhi persyaratan. Tikus dewasa makan sebanyak 5 gram/ 100 gram berat badan/hari dan minum 8 - 11 ml/ 100 gram berat badan/hari (Kohn, 1984 ; Hafez, 1993).



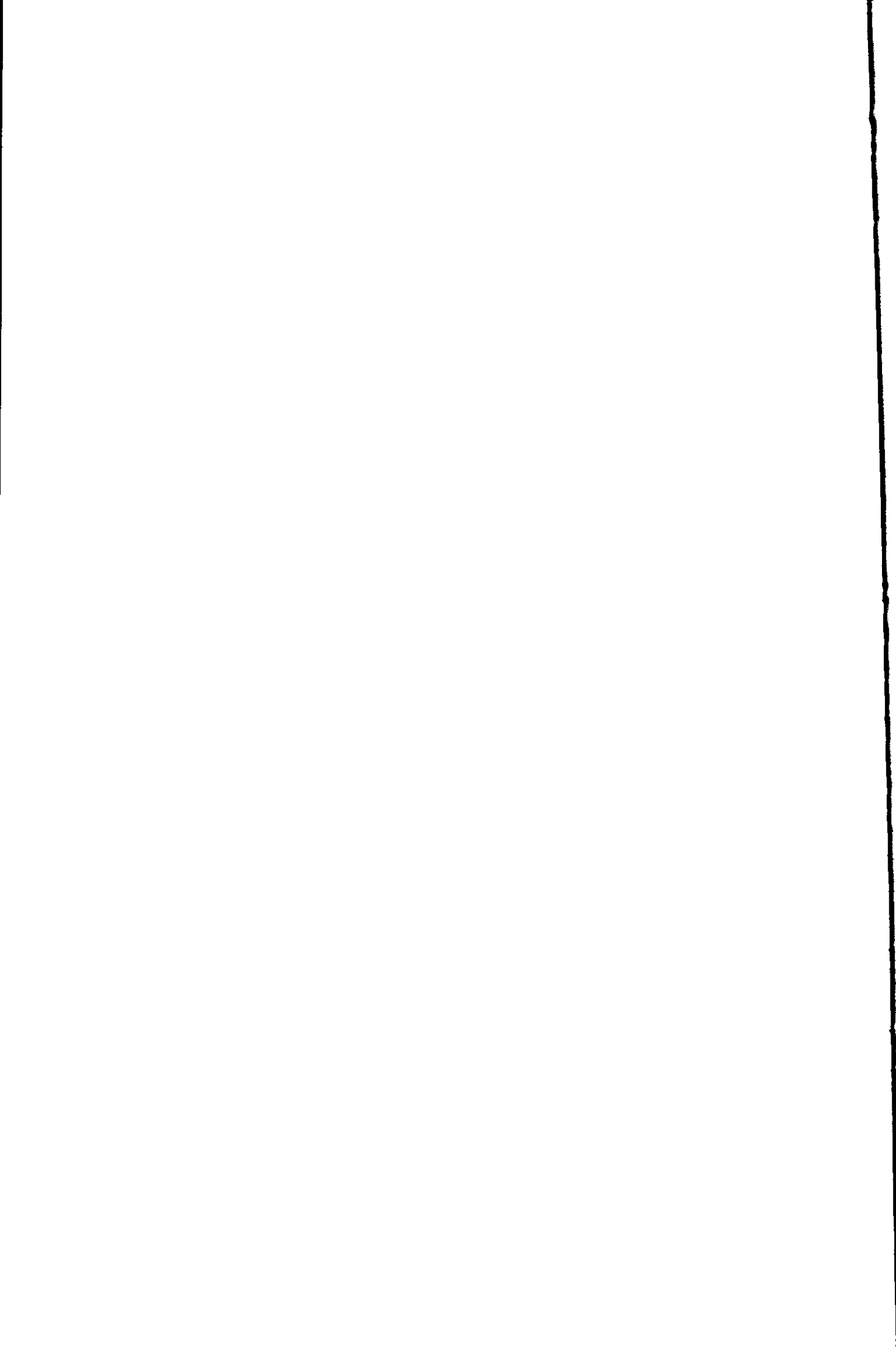
Prosedur penelitian :

Setiap hari tikus jantan diberi perlakuan dengan cara menginjeksikan 1 ml amfetamin dalam larutan saline fisiologis (2 dan 4 mg/kg) secara subkutan selama 50, 75, dan 100 hari. Kelompok kontrol diinjeksi dengan larutan saline fisiologis saja. Injeksi dilakukan setiap hari pada jam 08.00 – 12.00 WIB.

Setelah masing-masing perlakuan diberikan, sebagian tikus jantan dikawinkan dengan tikus betina, dengan cara menempatkan 1 tikus jantan dengan 1 tikus betina dalam satu kandang. Adanya vaginal plug menunjukkan telah terjadinya konsepsi pada pasangan tikus. Sepuluh hari kemudian tikus betina dibunuh, kemudian dilakukan pembedahan pada bagian uterus untuk mengevaluasi adanya sisi implantasi. Tikus dinyatakan tidak hamil bila tidak ditemukan adanya sisi implantasi pada uterusnya, sedangkan adanya reabsorpsi fetus menunjukkan adanya fertilisasi.

Cara memperoleh Spermatozoa adalah dengan mengambil bagian kauda epididimis kiri dan kanan dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis kurang lebih 2 ml dalam cawan petri, kemudian dipotong-potong halus sehingga terbentuk suspensi. Pengamatan morfologi dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali terhadap sediaan apus suspensi yang diwarnai dengan Safranin kristal violet.

Pemeriksaan normalitas morfologi spermatozoa tikus dengan menggunakan teknik pengecatan sperma. Pengamatan morfologi dilakukan untuk menghitung jumlah sperma yang mempunyai bentuk normal dan abnormal. Teknik



BAB IV

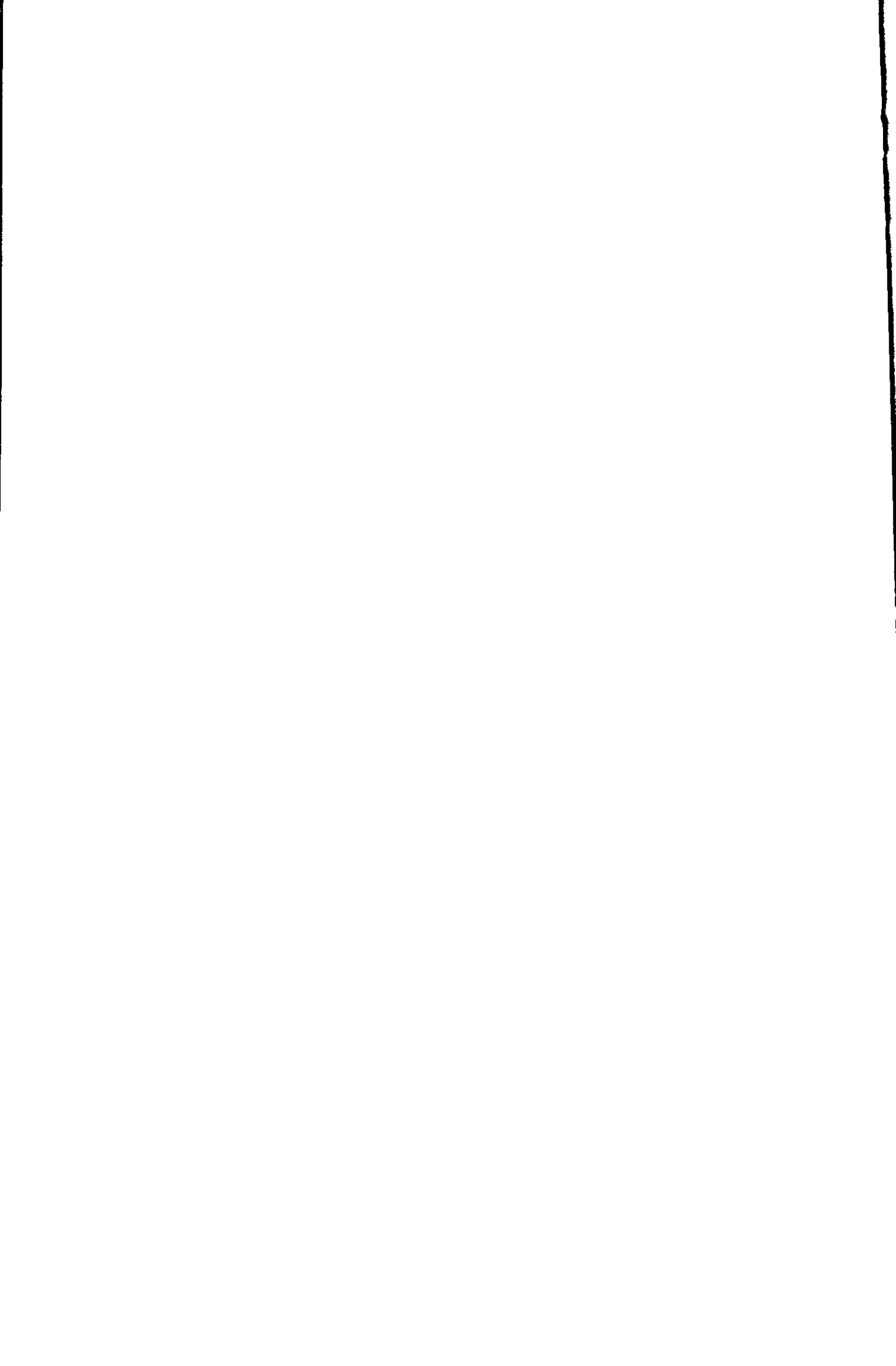
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Adanya sisi implantasi pada setiap uterus dari tikus betina pasangannya pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dihitung jumlahnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan tikus jantan pada masing-masing kelompok penelitian untuk menghamili tikus betina pasangannya. Hasil penghitungan jumlah sisi implantasi pada tikus betina pasangannya disajikan pada tabel 1.

Tabel 1 Jumlah sisi implantasi fetus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

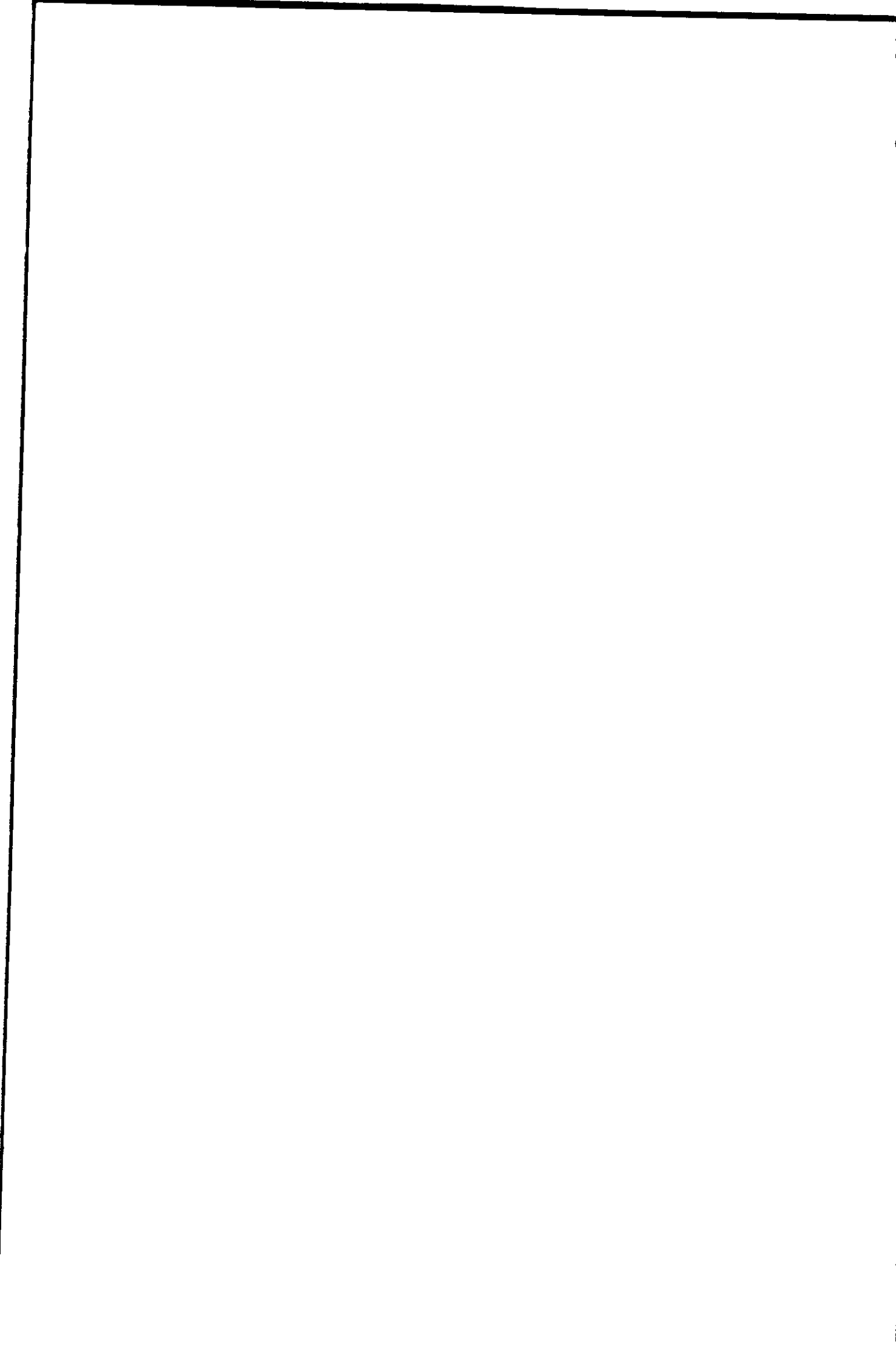
Lama Perlakuan	Besarnya dosis amfetamin (mg/kg berat badan)		
	0	2	4
50 hari	10	9	8
	11	10	9
	10	9	7
	9	8	8
75 hari	9	8	8
	10	8	0
	9	10	8
100 hari	8	7	8
	8	8	0
	9	8	0
	10	6	7
	9	7	0



Morfologi spermatozoa diamati dan dihitung pada hari ke 50, 75 dan 100 hari (akhir dari perlakuan). Hasil pengamatan morfologi spermatozoa pada masing-masing kelompok menunjukkan bahwa terdapat spermatozoa yang normal dan tidak normal pada semua kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Morfologi yang tidak normal ditemukan berupa ketidaknormalan pada kepala, leher, dan ekor. Hasil penghitungan morfologi spermatozoa yang normal pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Persentase jumlah spermatozoa normal pada Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

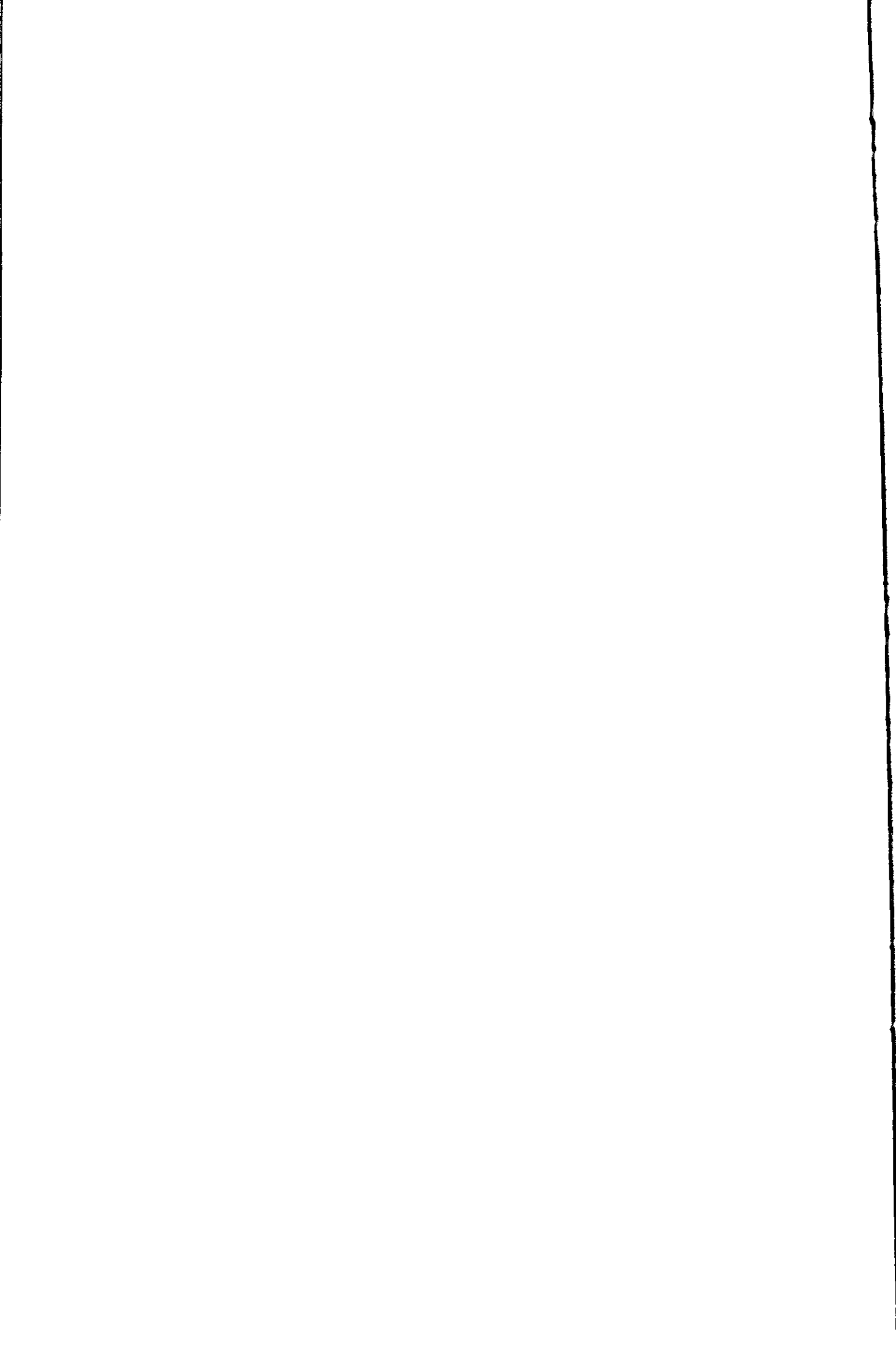
Lama Perlakuan	Besarnya dosis amfetamin (mg/kg berat badan)		
	0	2	4
50 hari	77	65	49
	78	52	47
	76	57	50
	78	54	54
75 hari	78	64	59
	72	62	57
	73	63	56
	65	62	54
100 hari	76	57	47
	75	63	46
	73	64	50
	79	63	50

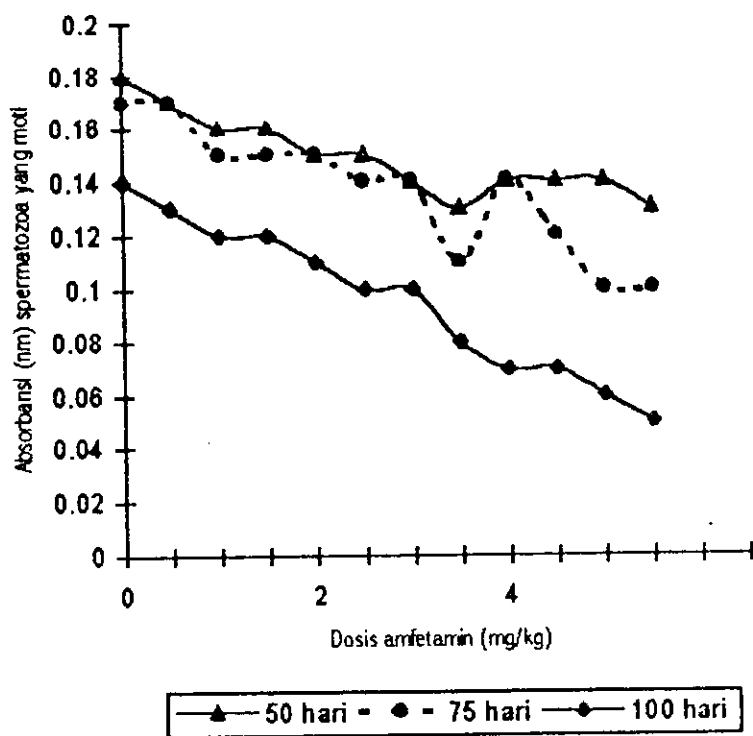


Motilitas spermatozoa diamati dan dihitung pada hari ke 50, 75 dan 100 hari (akhir dari perlakuan). Hasil penghitungan besar absorbansi spermatozoa yang motil pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 3.

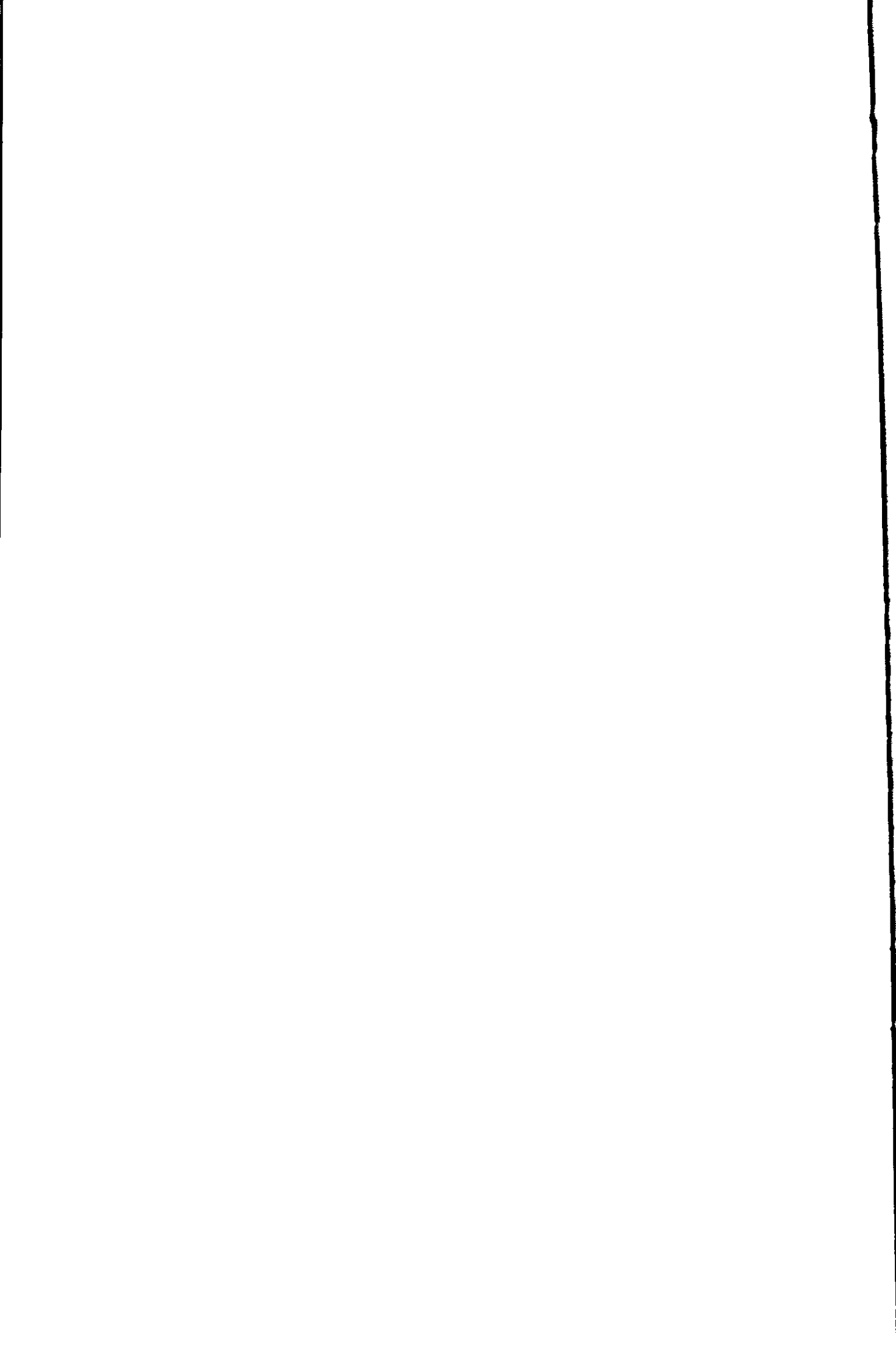
Tabel 3 Besar absorbansi spermatozoa yang motil pada Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Lama Perlakuan	Besar dosis amfetamin (mg/kg berat badan)		
	0	2	4
50 hari	0,18	0,13	0,14
	0,17	0,14	0,14
	0,16	0,15	0,14
	0,16	0,15	0,13
75 hari	0,15	0,11	0,10
	0,17	0,14	0,10
	0,15	0,14	0,12
	0,17	0,15	0,14
100 hari	0,14	0,08	0,07
	0,13	0,11	0,06
	0,12	0,10	0,05
	0,12	0,10	0,07



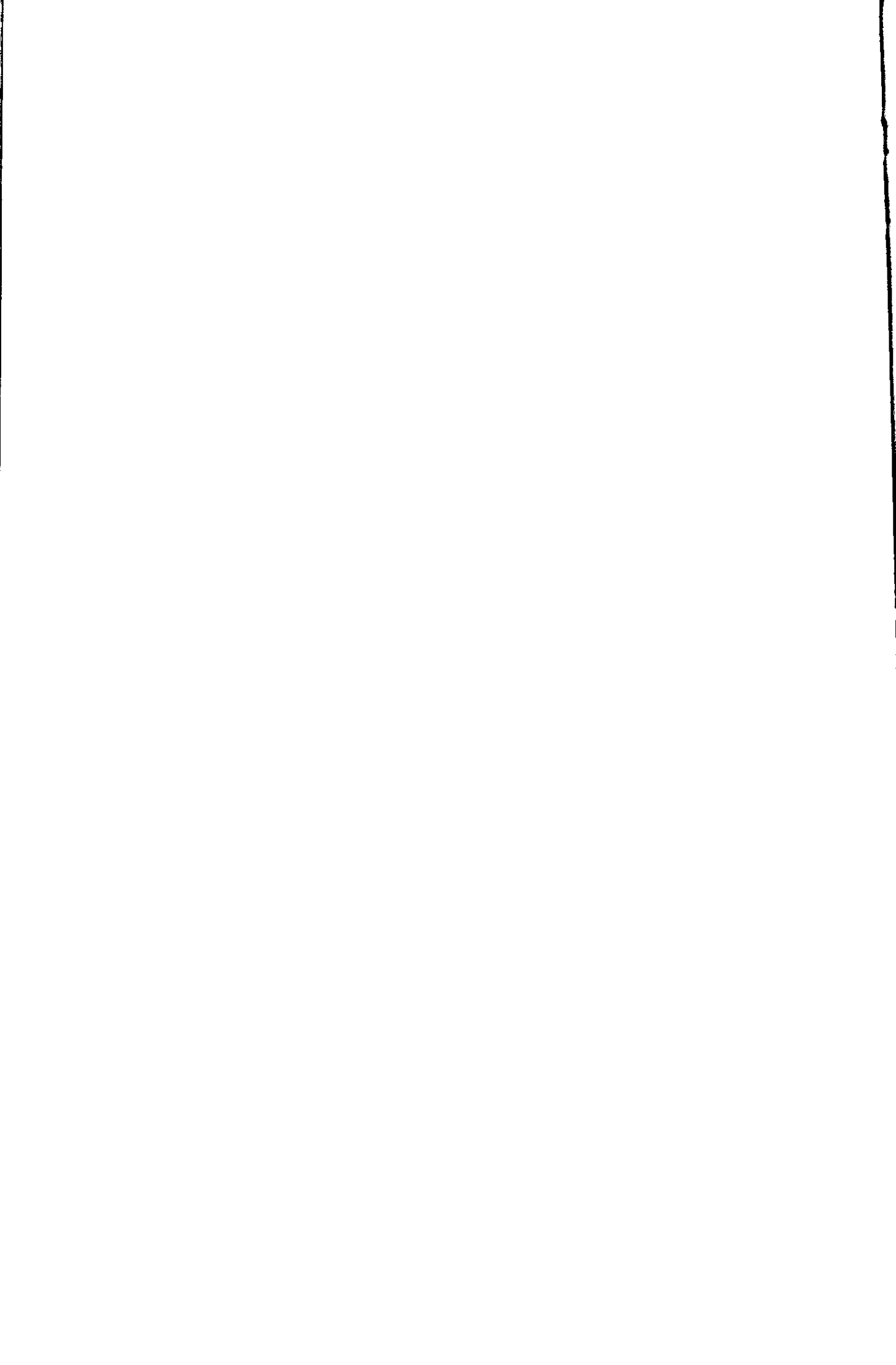


Gambar 8 Histogram besar absorbansi spermatozoa yang motil setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = 0 mg/kg; 2 = 2 mg/kg; 3 = 4mg/kg. Lama pemberian amfetamin : 50, 75, dan 100 hari



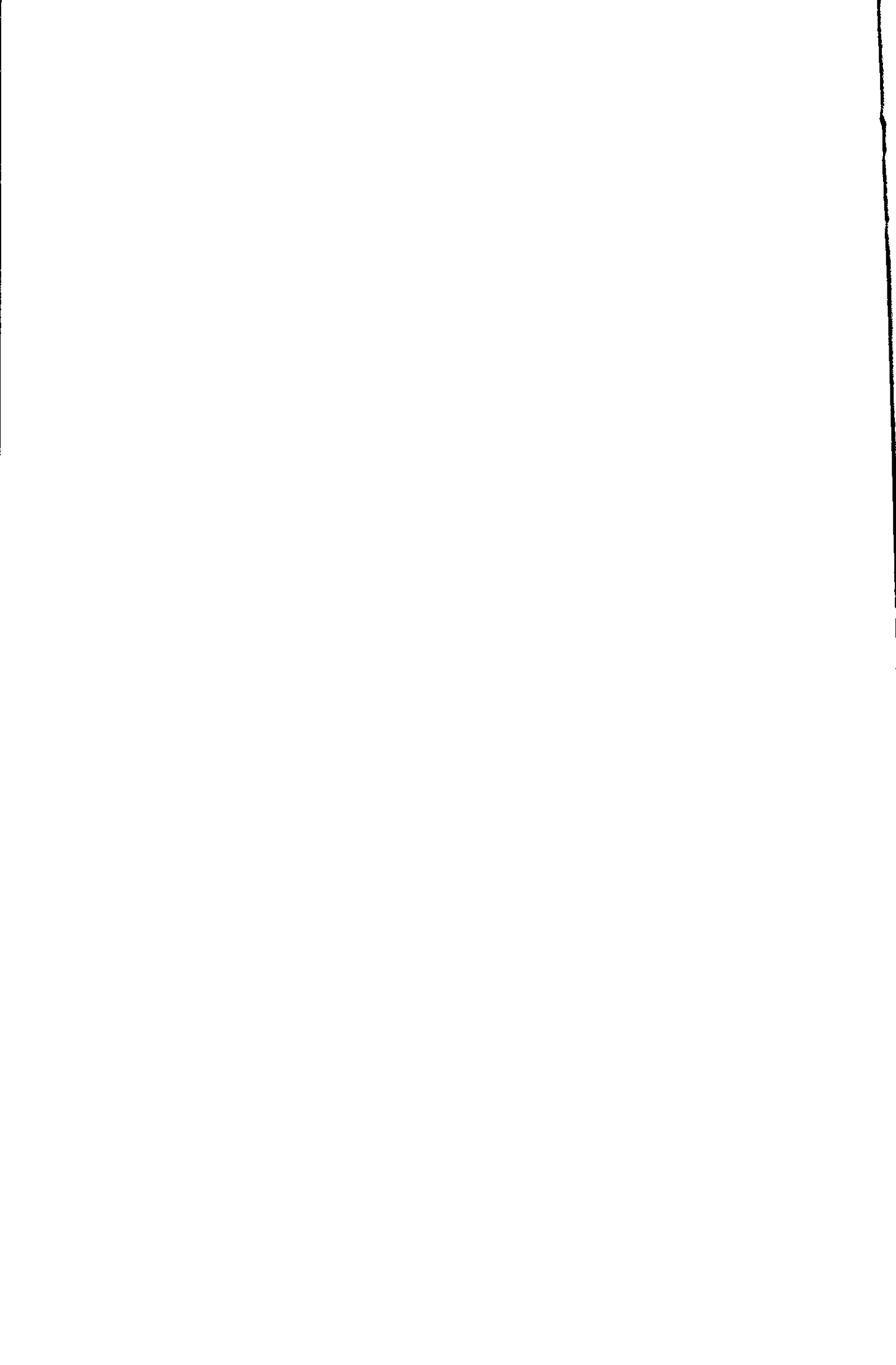
Pengamatan pada motilitas spermatozoa merupakan salah satu parameter penting untuk menentukan kualitas sperma. Dari hasil analisis varian dua arah dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara besar dosis dan lama pemberian amfetamin, semakin besar dosis yang diberikan semakin menurun motilitasnya (lampiran 2).

Selain motilitas, pengamatan pada morfologi spermatozoa merupakan parameter yang penting pula untuk menentukan kualitas sperma. Spermatozoa dengan fisiologi yang tidak normal (abnormal), baik pada sperma pria infertil atau pria fertil biasanya motilitas dan morfologinya terganggu. Dan terdapat korelasi antara fertilitas pria dengan motilitas serta morfologi spermatozoa (Morales, 1988). Dan secara umum presentase spermatozoa dengan morfologi normal lebih rendah pada pria infertil dibandingkan pria normal yang fertil (Liu, 1992). Morfologi spermatozoa pada hewan misalnya tikus telah diamati dalam penelitian ini. Spermatozoa yang diamati adalah spermatozoa yang diambil setelah perlakuan berakhir (setelah 50, 75, dan 100 hari). Hasil penghitungan spermatozoa pada penelitian ini terdapat perbedaan jumlah normalitas spermatozoa pada setiap kelompok penelitian (tabel 2). Melalui uji statistik dapat diinformasikan terdapat perbedaan jumlah spermatozoa yang normal secara bermakna pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada dosis (lampiran 1) dan lama pemberian (lampiran 4) yang berbeda. Spermatozoa dengan morfologi abnormal ditemukan pada setiap kelompok penelitian, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, demikian juga dengan morfologi spermatozoa normalnya.

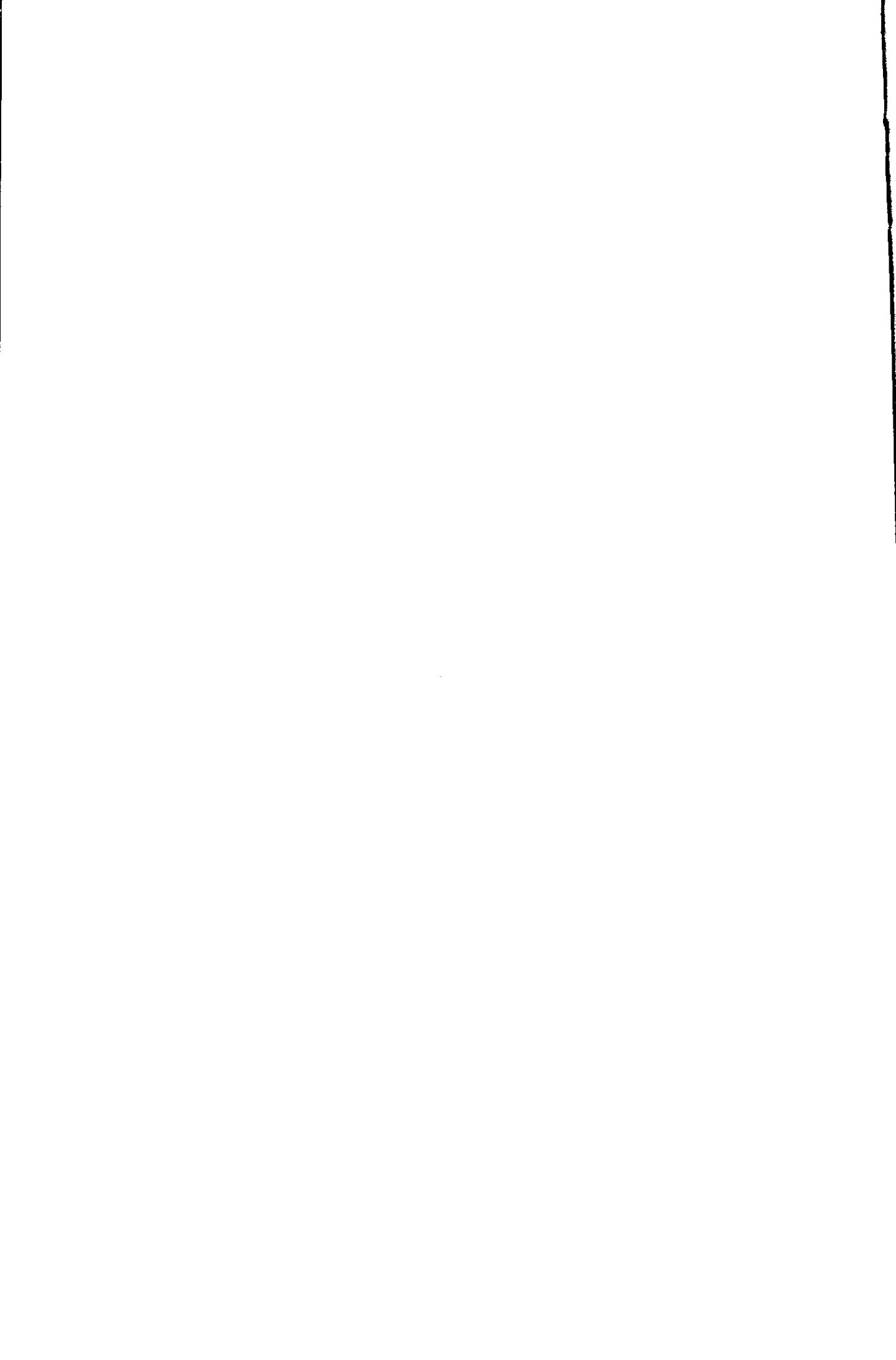


Perbedaannya terletak pada jumlah morfologi spermatozoa, semakin besar dosis amfetamin yang diberikan semakin besar jumlah spermatozoa dengan morfologi abnormal dan semakin kecil jumlah spermatozoa dengan morfologi normal. Morfologi spermatozoa yang abnormal sebagian besar terletak pada bagian ekor, kemudian berturut-turut bagian leher dan kepala. Bagian ekor yang tidak normal ditandai dengan bentuk ekor yang patah, pendek, bercabang, dan menggulung pada bagian ujung. Bagian lehernya ditandai dengan bentuk leher yang patah, adanya droplet sitoplasma, dan tidak berleher. Sedangkan kepala spermatozoa yang abnormal ditandai dengan perubahan bentuknya dan berukuran kecil (mikrosepali).

Sebagai senyawa golongan psikotropik, amfetamin mempunyai efek yang sama dengan kokain, diantaranya dapat menurunkan motilitas sperma dan penetrasi pada mukosa sapi (23%). Penurunan motilitas sperma salah satu penyebabnya adalah meningkatnya jumlah sperma yang abnormal (Hurd, 1992). Pemberian amfetamin dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Dari data penelitian yang telah dilakukan, semakin besar dosis dan lama pemberiannya semakin kecil tingkat motilitas spermatozoa. Ketidak-normalan pada morfologi dan menurunnya motilitas spermatozoa disebabkan karena kekurang-empurnaan pengubahan testosteron menjadi dihidro-testosteron. Hal ini berhubungan dengan efek amfetamin terhadap SSP, sehingga dapat menurunkan ABP di sel Sertoli, demikian halnya dengan kadar DHT yang berasal dari testosteron juga menurun. Adanya penurunan kadar DHT menyebabkan gangguan pada masa pendewasaan dari spermatozoa yang muda hingga spermatozoa dewasa yang dapat



bergerak bebas di epididimis (Foldes, 1981). Ada korelasi positif antara spermatozoa dengan morfologi normal di dalam sperma dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa secara *in vitro* (Jeyendran, 1986). Pemberian amfetamin dapat merangsang terjadinya stres dan dapat menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa. Hal ini bukan berarti bahwa tidak ada spermatozoa yang dapat membuahi sel telur, karena walau pemberian amfetamin pada dosis besar (4 mg/kg) dan lama pemberian 100 hari masih terdapat spermatozoa dengan morfologi normal. Spermatozoa inilah yang mempunyai peluang besar untuk membuahi sel telur pada tikus betina. Sehingga dalam penelitian ini ditemukan walaupun jumlah spermatozoa abnormal lebih banyak dari spermatozoa abnormal, tetapi beberapa spermatozoa normal diantara yang abnormal ternyata berhasil membuahi sel telur pada tikus betina pasangannya.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

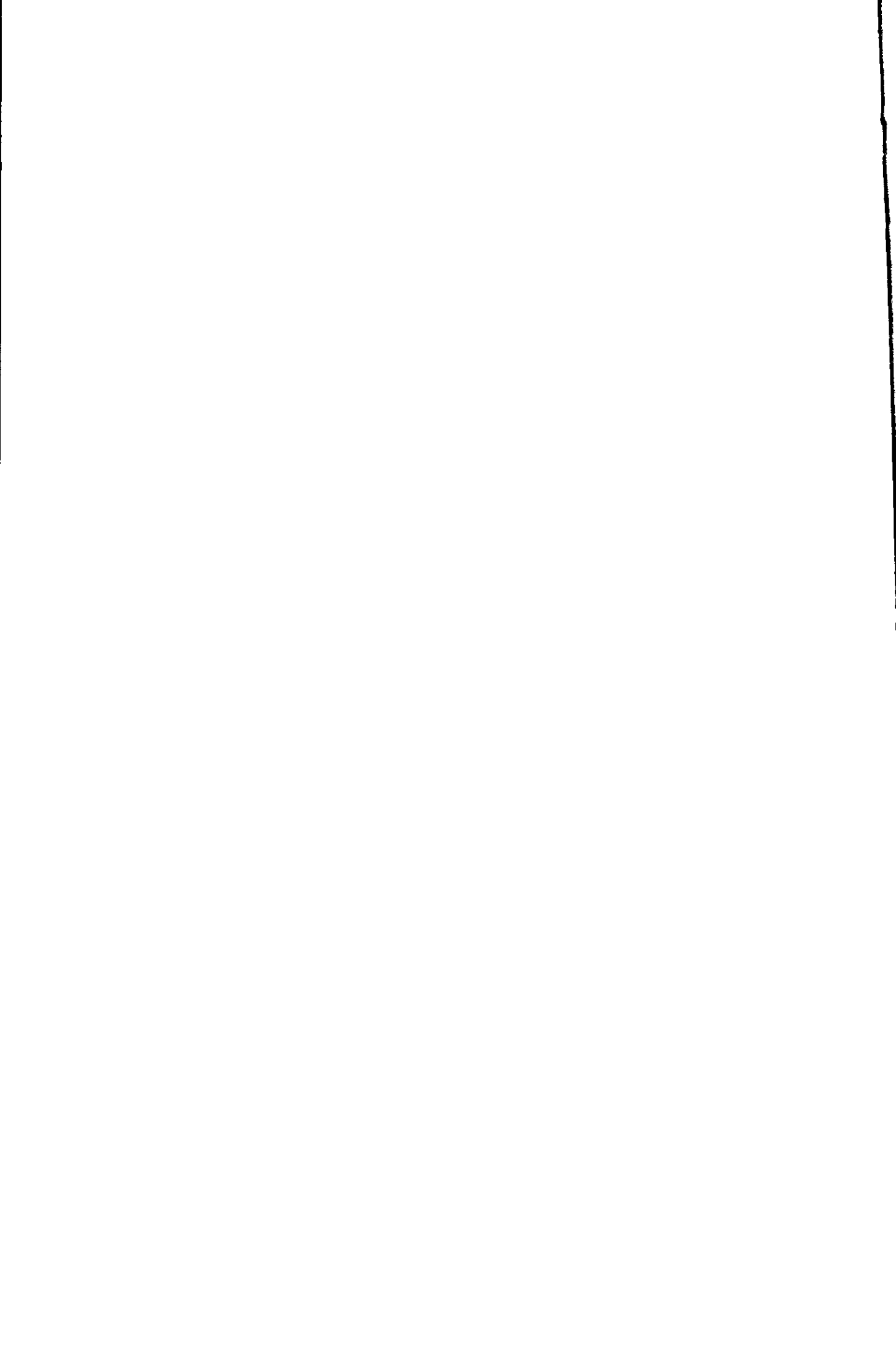
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. keadaan stres dalam hal ini yang distimuli amfetamin mempengaruhi fertilitas tikus jantan,
2. semakin besar dosis (4 mg/kg) dan lama pemberian amfetamin (100 hari), semakin menurunkan fertilitas tikus.

5.2 SARAN

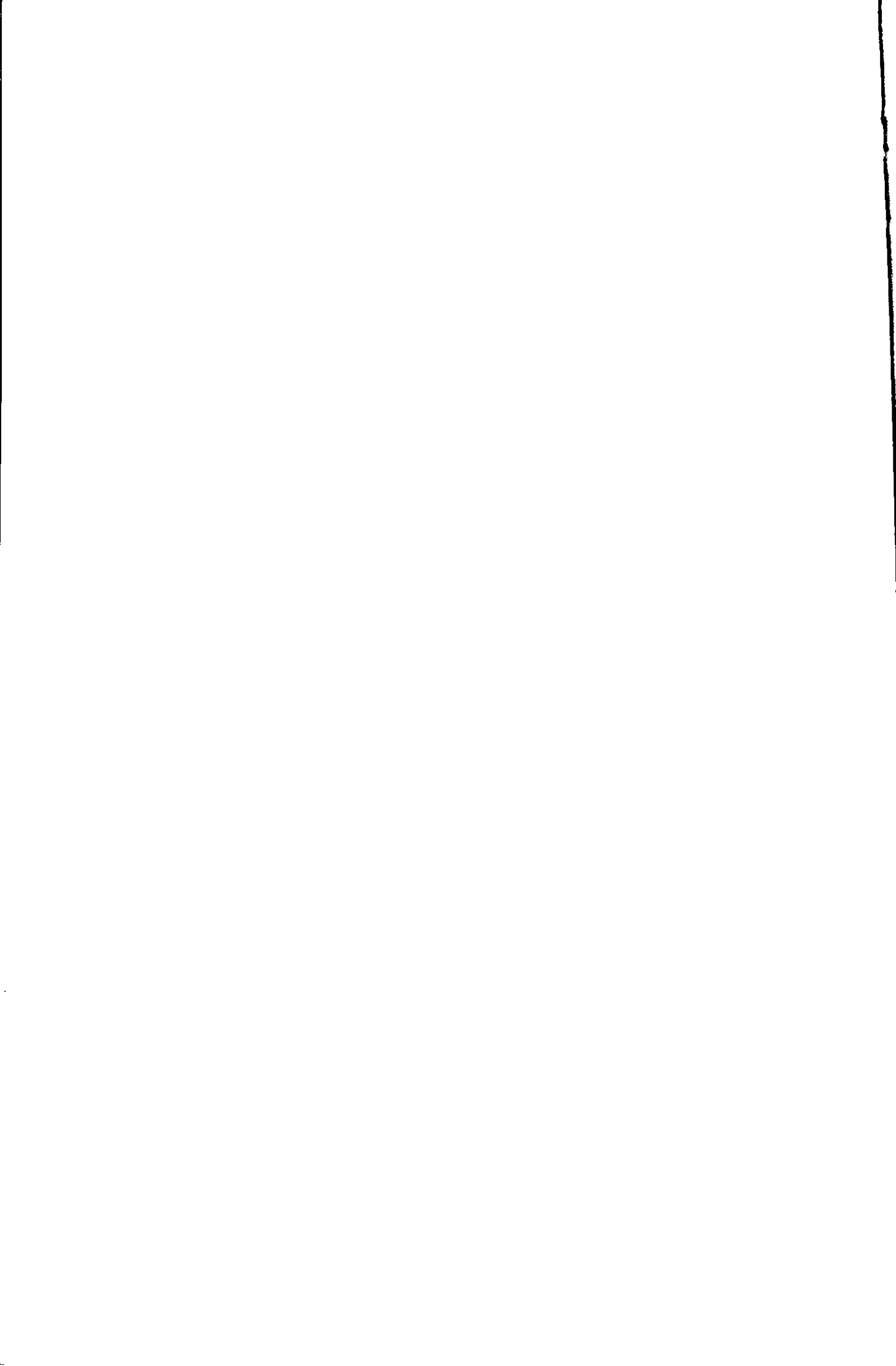
Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka perlu dipertimbangkan

1. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme seluler dan molekuler terhadap sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer yang mendasari terjadinya disfungsi spermatogenesis dan fertilitas.
2. Amfetamin dapat dipakai sebagai model obat psikotropik yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis.

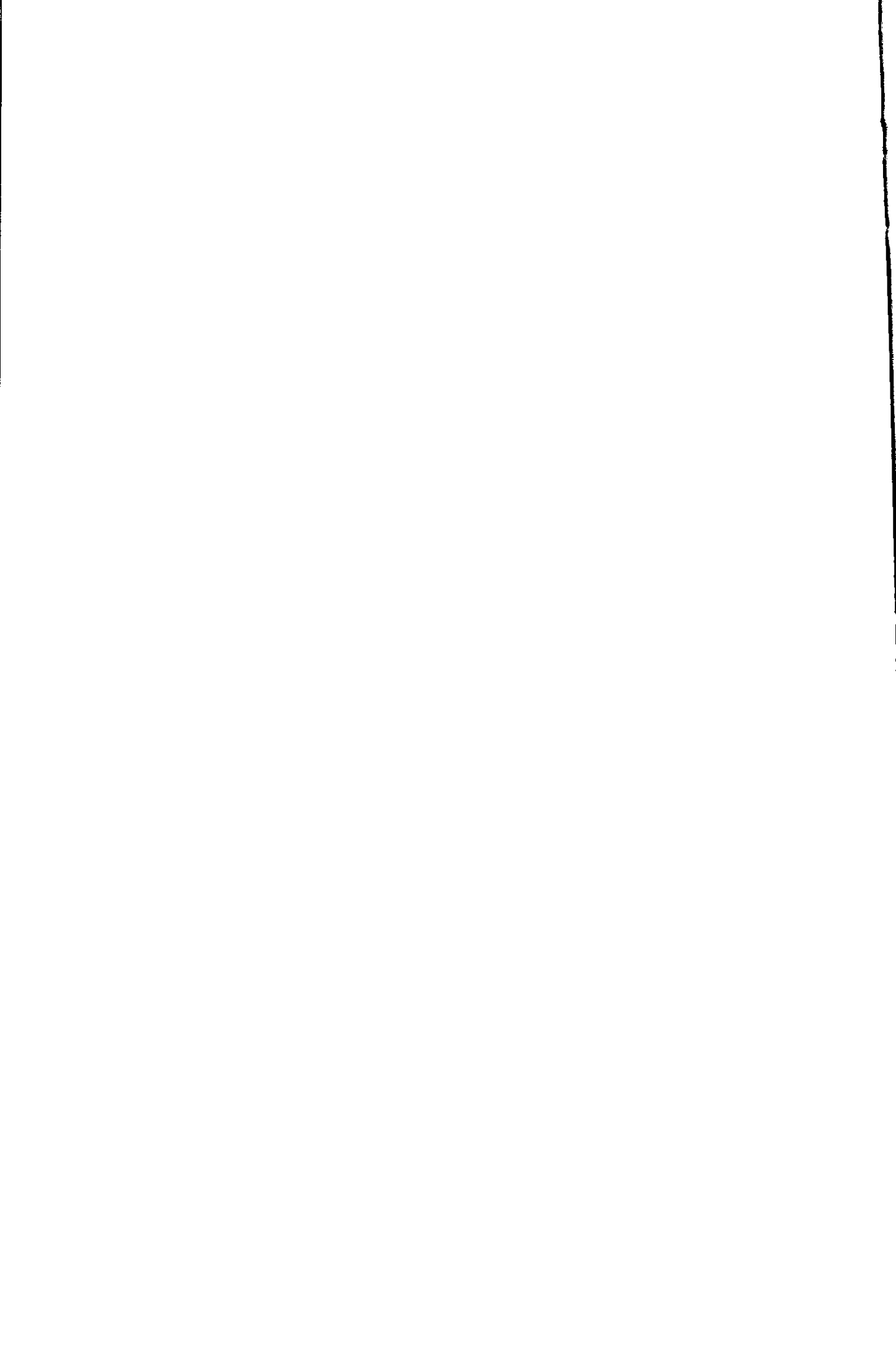


DAFTAR PUSTAKA

- Adimoelja, A., 1997, Pengobatan medikamentosa pada infertilitas pria, *Proseding Pelatihan standarisasi penatalaksanaan infertilitas wanita dan pria*, Bali.
- Antelman, M.S. *et al.*, 1980, Interchangeability of Stress and Amphetamine in Sensitization, *J. Science*, (207).
- Basori, A., 1997, *Ketergantungan Obat Ditinjau Dari Sudut Farmakologi*, Rakernas IKAFI, 27-29 Juni, Trawas.
- Foldes, R.G. dan J.H. Leatham, 1981, Age Related Changes In The Metabolism Of Testosterone In Vitro By The Epididymis Of The Immature Rat, *J. Endocrinology*, (91), 43-51.
- Giannini, J. dan A.E. Slaby, 1989, *Drugs of abuse*, Medical Economic Books Oradell, New Jersey.
- George, V.K., *et al.*, 1996, Effects of LongTerm Cocaine Exposure on Spermatogenesis and Fertility in Peripubertal Male Rats, *J. Urology*, (55), 327 - 331.
- Hamamura, T. dan C.F. Hand, Enhanced Stress Induced Dopamine Release in The Prefrontal Cortex of Amphetamine Sensitized Rats, *European J. Pharmacology*, (237).
- Hurd, W.W., *et al.*, 1992, The Effect of Cocaine on Sperm Mortality Characteristics and Bovine Cervical Mucus Penetration, *J. Fertility and Sterility*, (57), 1.
- Insler, V. dan L. Biwono, 1993, *Infertility : Male and Female*, Chenchi II Livingstone, London.
- Jennings, E.S. dan S. Lee, 1994, *Infertility Counselling and Medical Diagnosis*, (Edited by Jennings E.S.), Blackwell Science Ltd., London.
- Jeyendra, R.S., *et al.*, 1986, Association of the in vitro fertilizing capacity of human spermatozoa with sperm morphology by three classification system, *J. Human Reproduction*, (1), 305-308.
- Liu, D.Y. dan Barker H.W.G., 1992, Tests of human sperm function and fertilization in vitro, *J. Fertil Steril*, (58), 485-487.



- Morales, P., *et al.*, 1988, The relation ship between the mortility and morphology of spermatozoa in human semen, *J. Androl*, (9), 241-247.
- Schenker, G.J., D. Meirou, dan E. Schenker, 1992, Stres and human reproduction, *J. Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, (45), 1-8.
- Speroff, L., 1994, *Clinical Gynecologic Endocrnology and Infertility*, Williams and Wilkins Baltimore.
- Tienhoven, V.A., 1983, *Physiology of Vertebrates*, Cornell University Press, London.



* * * A N A L Y S I S O F V A R I A N C E * * *

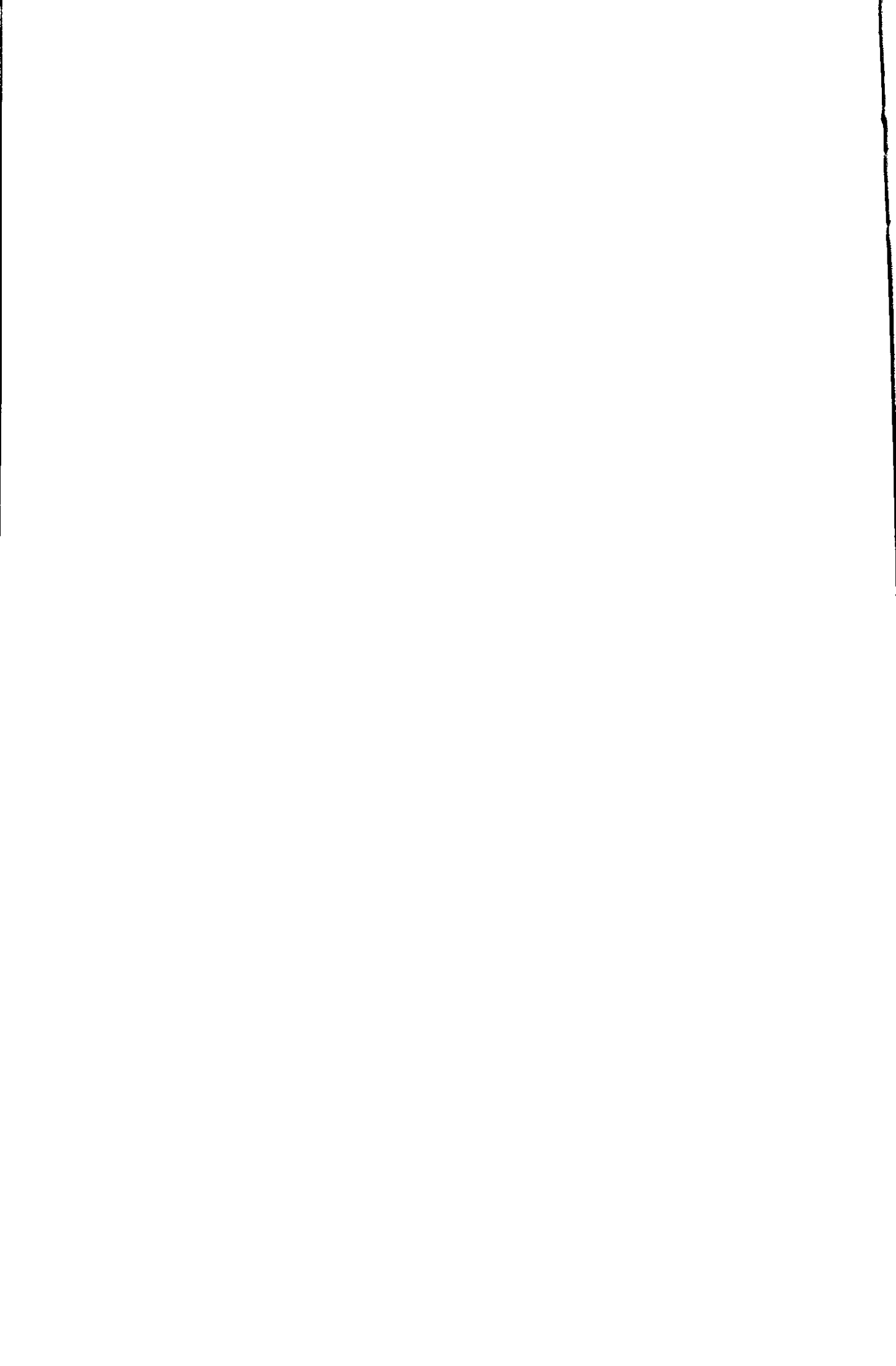
JUMLAH SISI IMPLANTASI FETUS TIKUS
 by DOSIS (0, 2, dan 4 mg/kg berat badan)
 HARI (50, 75, dan 100 hari)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	16.672	4	4.168	4.473	.009
DOSIS	14.784	2	7.392	7.933	.003
HARI	4.713	2	2.356	2.529	.103
2-Way Interactions	3.069	4	.767	.823	.524
DOSIS HARI	3.069	4	.767	.823	.524
Explained	25.242	8	3.155	3.386	.011
Residual	20.500	22	.932		
Total	45.742	30	1.525		

* * * A N A L Y S I S O F V A R I A N C E * * *

PERSENTASE JUMLAH MORFOLOGI NORMAL SPERMATOZOA TIKUS
 by DOSIS (0, 2, DAN 4 MG/RG BERAT BADAN)
 HARI (50, 75, DAN 100 HARI)

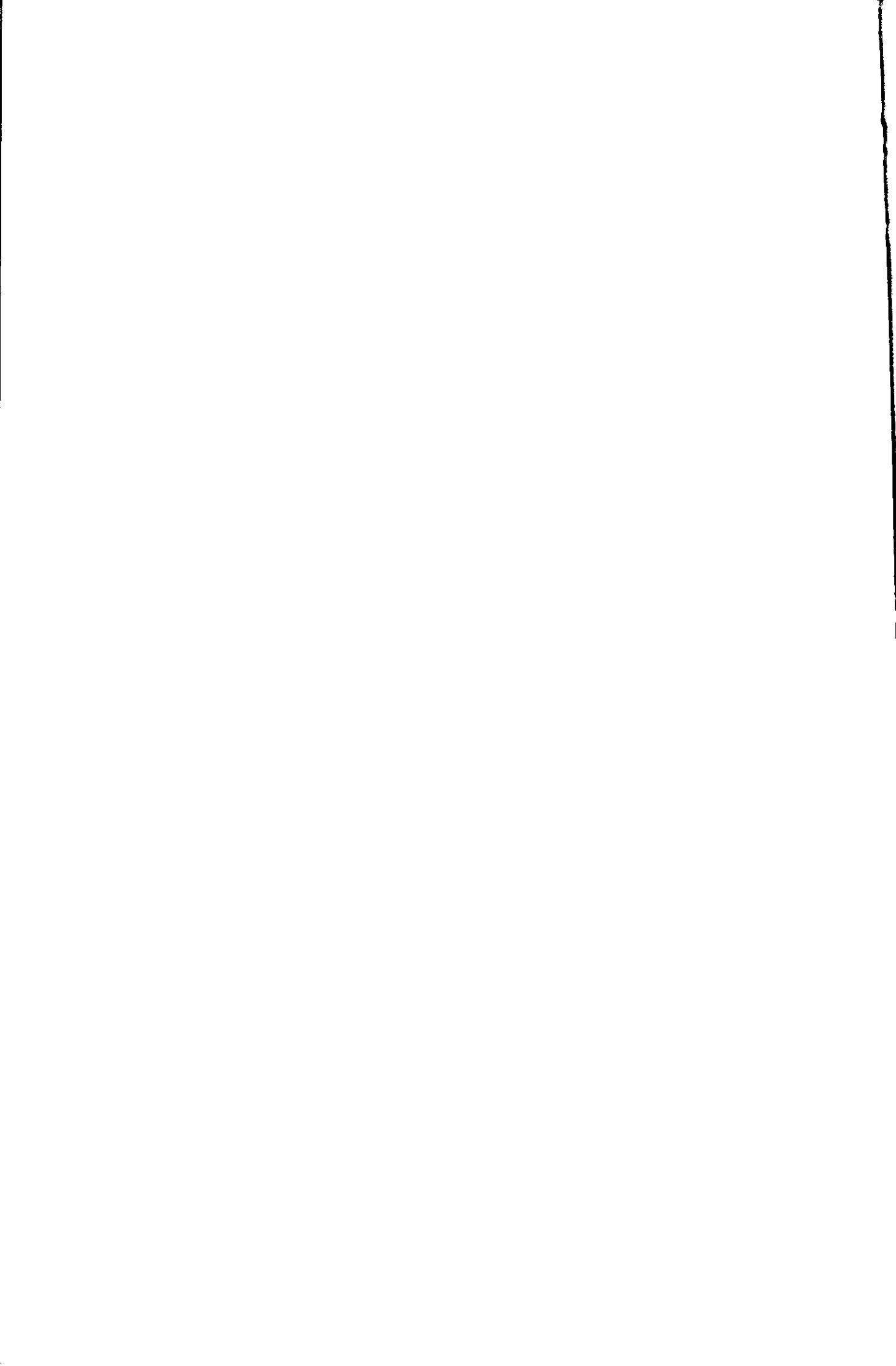
Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	3388.611	4	847.153	78.669	.000
DOSIS	3352.389	2	1676.194	155.657	.000
HARI	36.222	2	18.111	1.682	.205
2-Way Interactions	248.944	4	62.236	5.779	.002
DOSIS HARI	248.944	4	62.236	5.779	.002
Explained	3637.556	8	454.694	42.224	.000
Residual	290.750	27	10.769		
Total	3928.306	35	112.237		



*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

BESAR ABSORBANSI (MOTILITAS) SPERMATOZOA TIKUS
 by DOSIS (0, 2, DAN 4 MG/KG BERAT BADAN)
 HARI (50, 75, DAN 100 HARI)

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	.032	4	.008	53.046	.000
DOSIS	.013	2	.007	43.852	.000
HARI	.019	2	.009	62.241	.000
2-way Interactions	.001	4	.000	2.407	.074
DOSIS HARI	.001	4	.000	2.407	.074
Explained	.033	8	.004	27.727	.000
Residual	.004	27	.000		
Total	.037	35	.001		



--- -- O N E W A Y --- --

Variable Jumlah Sisi Implantasi Setelah Diberi 4 mg/kg Amfetamin
 By Variable Hari (50, 75, DAN 100 hari)

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	81.5000	40.7500	4.2277	.0507
Within Groups	9	86.7500	9.6389		
Total	11	168.2500			

--- -- O N E W A Y --- --

Variable Jumlah Sisi Implantasi Setelah Diberi 4 mg/kg Amfetamin
 By Variable Hari (50, 75, DAN 100 hari)

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 2.1953 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$
 with the following value(s) for RANGE: 3.20

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

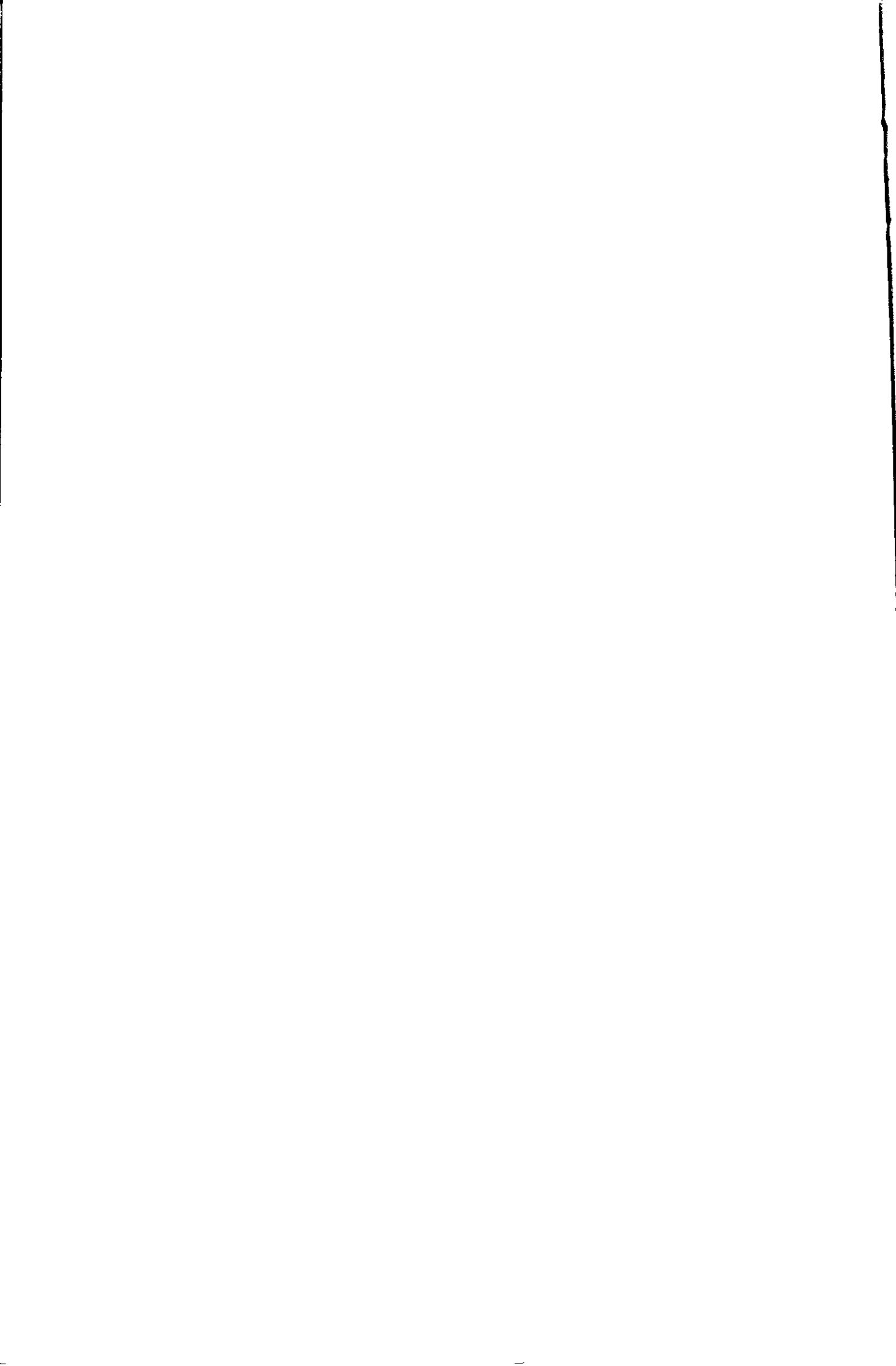
Mean	HAR	
1.7500	Grp 3	
6.0000	Grp 2	
8.0000	Grp 1	*

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1		
Group	Grp 3	Grp 2
Mean	1.7500	6.0000
Subset 2		
Group	Grp 2	Grp 1
Mean	6.0000	8.0000

--- -- O N E W A Y --- --

Variable Jumlah Sisi Implantasi Setelah Diberi 4 mg/kg Amfetamin



----- O N E W A Y -----

Variable Persentase Jumlah Morfologi Normal Spermatozoa Setelah Diberi 4 mg/kg Amfet
By Variable Hari (50, 75, DAN 100 hari)

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	151.1667	75.5833	13.1449	.0021
Within Groups	9	51.7500	5.7500		
Total	11	202.9167			

----- O N E W A Y -----

Variable Persentase Jumlah Morfologi Normal Spermatozoa Setelah Diberi 4 mg/kg Amfet
By Variable Hari (50, 75, DAN 100 hari)

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 1.6956 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
 with the following value(s) for RANGE: 3.20

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G
		r r r
		p p p
		3 1 2
Mean	HAR	
48.2500	Grp 3	
50.0000	Grp 1	
56.5000	Grp 2	* *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1		
Group	Grp 3	Grp 1
Mean	48.2500	50.0000

Subset 2		
Group	Grp 2	
Mean	56.5000	

F-1 SEP 2003
PAM

