

1. AMPHETAMINE

2. SPERMATOGENESIS

3. FERTILITY.

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK

TKR 03/00

Hay
p

TESIS

PENGARUH AMFETAMIN TERHADAP SPERMATOGENESIS DAN FERTILITAS TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus* L)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



ALFIAH HAYATI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1998**

**PENGARUH AMFETAMIN TERHADAP
SPERMATOGENESIS DAN FERTILITAS TIKUS
JANTAN (Rattus norvegicus L)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



**Oleh :
ALFIAH HAYATI
NIM. 099612278 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

Telah diuji pada
Tanggal 25 Februari 1999

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : dr. Aucky Hinting, PhD

**Anggota : 1. Prof. Kuntjoro Suhadi
2. DR. H. Sarmanu, MS
3. DR. Achmad Basori, MS
4. Prof. H.A. Soeparmo, MS**

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 25 FEBRUARI 1999**

Oleh
Pembimbing Ketua



Prof. H.A. Soeparmo, MS
NIP. 130058170

Pembimbing



DR. Achmad Basori, MS
NIP. 130675601

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



dr. Aucky Hinting, Ph. D
NIP. 130873509

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena hanya berkat rahmat-Nya saya mampu menyelesaikan seluruh penelitian serta penulisan tesis ini. Tesis ini disusun berdasarkan hasil serangkaian penelitian yang telah dilakukan selama 8 bulan yang bertujuan untuk mengetahui efek amfetamin sebagai psikostimulan golongan simpatomimetik amin terhadap spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan melalui perangsangan SSP. Namun demikian penelitian ini tidak akan selesai tanpa bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, sehingga sudah selayaknya bila saya dengan tulus menyampaikan rasa terima kasih.

Terima kasih saya ucapkan kepada :

1. Prof. H.A. Soeparmo, MSc, selaku dosen pembimbing utama yang meluangkan waktu dan dengan sabar membimbing penelitian dan penyelesaian tesis ini.
2. DR. Achmat Basori Abdullah, Drs.Apt.MS., selaku dosen pembimbing pendamping yang dengan sungguh-sungguh memberi semangat, pengarahan, dan motifasi dalam penyelesaian penelitian ini.
3. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, yang telah memberi ijin dan menyetujui pemberian dana pendidikan dan penelitian bagi penulis.
4. Dr. Aucky Hinting, PhD selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi dengan sungguh-sungguh memberi semangat, pengarahan dan dukungan dalam penyelesaian penelitian ini.

5. Keluarga besar Jurusan Biologi FMIPA UNAIR, yang telah memberi fasilitas dalam pemeliharaan hewan coba dan pelaksanaan penelitian.
6. dr. Hari Basuki, M.Kes dan Istri, atas bantuan dan saran-sarannya selama pelaksanaan dan penulisan tesis.
7. Suami dan putri-putraku terkasih, Aunur Rofiq, Vanda Rany Pratiwiningtyas dan Fachrian Anugrah yang menjadi pendorong dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis.
8. Dan yang terakhir disampaikan pada bapak Waris Amin, ibu Qoiriyah Romlah, bapak Gufron (Alm), ibu Aisyah, dan saudara-saudaraku terkasih yang telah memberi dukungan sepenuhnya dalam menyelesaikan penelitian ini.

Akhir kata, tak ada gading yang tak retak. Semoga dengan segala kekurangan yang ada, tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Penulis,

Alfiah Hayati

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL DALAM	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Tinjauan Umum Amfetamin	10
2.2 Ekstasi	19
2.3 Tinjauan Struktur Jaringan pada Testis	21
2.4 Infertilitas pada Pria	33
2.5 Suplai Darah Menuju Ke Organ Genital	35
2.6 Pemilihan Hewan Percobaan	39
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	41
3.1 Kerangka Konseptual	41
3.2 Hipotesis Penelitian	44
BAB IV METODE PENELITIAN	45
4.1 Jenis Penelitian	45
4.2 Rancangan Penelitian	45
4.3 Variabel Penelitian	46

4.4 Definisi Operasional Variabel	47
4.5 Bahan Penelitian	48
4.6 Alat-alat Penelitian	49
4.7 Tempat dan Waktu Penelitian	49
4.8 Prosedur Penelitian	50
4.9 Analisis Data	56
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN ...	59
5.1 Hasil penelitian	59
5.2 Analisis Hasil Penelitian	79
BAB VI PEMBAHASAN	94
BAB VII KESIMPILAN DAN SARAN	104
7.1 Kesimpulan	104
7.2 Saran	105
RINGKASAN	
DAFTAR PUSTAKA	108
LAMPIRAN	113

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Rata-rata diameter tubulus seminiferus testis tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (mikron)	63
Tabel 5.2 Rata-rata tebal tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (mikron)	65
Tabel 5.3 Rata-rata jumlah spermatisit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	67
Tabel 5.4 Rata-rata berat testis tikus kiri dan kanan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	69
Tabel 5.5 Prosentase rata-rata jumlah spermatozoa normal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	73
Tabel 5.6 Jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	75
Tabel 5.7 Rata-rata berat badan anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram)	77
Tabel 5.8 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap diameter tubulus seminiferus	79
Tabel 5.9 Rangkuman hasil uji LSD diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol	80
Tabel 5.10 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap tebal epitel tubulus seminiferus	81
Tabel 5.11 Rangkuman hasil uji LSD tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol	82
Tabel 5.12 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus	83
Tabel 5.13 Rangkuman hasil uji LSD jumlah spermatisit pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol	84

Tabel 5.14	Rangkuman analisis varian dua arah terhadap berat testis tikus kanan dan kiri	85
Tabel 5.15	Rangkuman analisis varian dua arah terhadap jumlah spermatozoa dengan morfologi normal	86
Tabel 5.16	Rangkuman hasil uji LSD jumlah spermatozoa pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol	87
Tabel 5.17	Rangkuman analisis varian dua arah terhadap jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya	88
Tabel 5.18	Rangkuman analisis varian dua arah terhadap berat badan anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya	89
Tabel 5.19	Rangkuman hasil uji LSD berat badan anak pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol	90
Tabel 5.20	Rangkuman hasil analisis data penelitian	92

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Hubungan antara poros hipotalamus-pituitari anterior-testis (Insler, 1993).....	25
Gambar 2.2 Tahap-tahap spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel-selnya	27
Gambar 2.3 Urutan 14 tingkatan (romawi I - XIV) dari siklus epitel seminiferus pada tikus	28
Gambar 2.4 Diskripsi dari proses proliferasi, meiosis, dan spermiogenesis (Insler,1993)	31
Gambar 2.5 Suplai darah dari pembuluh arteri menuju ke saluran genital pria (Insler, 1993)	36
Gambar 2.6 Suplai darah yang menuju ke pembuluh vena pada saluran genital pria (Insler, 1993)	38
Gambar 3.7 Kerangka konseptual penelitian	43
Gambar 4.8 Kerangka operasional penelitian	58
Gambar 5.9 Struktur anatomi tubulus seminiferus testis tikus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada pemberian amfetamin 1x1 hari	61
Gambar 5.10 Struktur anatomi tubulus seminiferus testis tikus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada pemberian amfetamin 2x1 minggu	62
Gambar 5.11 Histogram rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus setelah pemberian amfetamin	64
Gambar 5.12 Histogram rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus tikus setelah pemberian amfetamin	66

Gambar 5.13	Histogram rata-rata jumlah spermatisit tikus setelah pemberian amfetamin	68
Gambar 5.14	Histogram rata-rata berat testis tikus kanan (A) dan kiri (B) setelah pemberian amfetamin	70
Gambar 5.15	Morfologi spermatozoa tikus	72
Gambar 5.16	Histogram rata-rata jumlah spermatozoa normal (%) setelah pemberian amfetamin	74
Gambar 5.17	Histogram rata-rata jumlah anak (A) dan rata-rata berat badan anak (B) setelah pemberian amfetamin	76
Gambar 5.18	Histogram rata-rata berat badan anak setelah pemberian amfetamin.	78
Gambar 5.19	Kurva dosis dari amfetamin terhadap % efek penurunan diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatisit, normalitas spermatozoa, dan berat badan anak	93.

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Diameter tubulus seminiferus dari testis tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada dosis amfetamin yang berbeda (mikron)	113
Lampiran 2	Tebal epitel tubulus seminiferus dari testis tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada dosis amfetamin yang berbeda (mikron)	118
Lampiran 3	Jumlah spermatosit dari testis tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan dosis amfetamin yang berbeda	123
Lampiran 4	Prosentase jumlah spermatozoa yang normal dan tidak normal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan dosis amfetamin yang berbeda	128
Lampiran 5	Berat testis tikus kiri dan kanan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	132
Lampiran 6	Hasil analisis varian dua arah dari diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	133
Lampiran 7	Hasil uji LSD dari diameter tubulus seminiferus pada dosis amfetamin yang berbeda	134
Lampiran 8	Hasil analisis varian dua arah dari tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	135

Lampiran 9	Hasil uji LSD dari tebal epitel tubulus seminiferus pada dosis amfetamin yang berbeda	136
Lampiran 10	Hasil analisis varian dua arah dari jumlah spermatisit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	137
Lampiran 11	Hasil uji LSD dari jumlah spermatisit pada dosis amfetamin yang berbeda	138
Lampiran 12	Hasil analisis varian dua arah dari berat testis kanan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	139
Lampiran 13	Hasil analisis varian dua arah dari berat testis kiri pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	140
Lampiran 14	Hasil analisis varian dua arah dari jumlah spermatozoa dengan morfologi pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	141
Lampiran 15	Hasil uji LSD dari jumlah spermatozoa dengan morfologi normal pada dosis amfetamin yang berbeda	142
Lampiran 16	Hasil analisis varian dua arah dari jumlah anak yang dilahirkan oleh pasangannya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	143
Lampiran 17	Hasil analisis varian dua arah dari berat badan anak yang dilahirkan oleh pasangannya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan	144
Lampiran 18	Hasil uji LSD dari berat badan anak yang dilahirkan oleh pasangannya pada dosis amfetamin yang berbeda	145
Lampiran 19	Cara membuat sediaan mikroanatomi testis (Metode Parafin)	146

ABSTRACT

EFFECT OF AMPHETAMINE ON SPERMATOGENESIS AND FERTILITY OF MALE RATS (*Rattus norvegicus L*)

This research was conducted to evaluate the effect various dosage and dosage regiment of amphetamine on spermatogenesis and fertility of male rats (*Rattus norvegicus L*).

Fourty male rats were used in this study. They were divided in to 8 groups. Amphetamine were given sub-cutan injection with various dosage (0, 1, 2, 4 mg/kg body weight and either daily and twice weekly), and mated with female rats to prove the pregnancy after 50 days of exposure to the drug. Morphologic analysis of the testis were entailed to evaluate of quantitafife and qualitafife histologic parameters to assess the effect of amphetamine on spermatogenesis. The total amount of fetus and fetus weights were evaluated.

The result of this experiment revealed that : after 50 days of treatment, the rats receiving amphetamine showed significant differences between the amphetamine-treated group and their respective controls from morphometric analysis. The mean diameter of seminiferous tubules, thickness of the germinal epithelium, the number of step XIV spermatocyt, normal morphology of spermatozoa, and fetus weight were reduced when compared with their respective controls, but not for the total amount of fetus. These differences between treated groups and their control were statistically significant ($p = 0,05$).

The conclusion of this experiment revealed that amphetamine treatment inhibited spermatogenesis but not in fertility of white male rats.

Key word : Amphetamine, spermatogenesis, fertility, spermatocyt.

RINGKASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh pemberian amfetamin dengan dosis dan frekuensi pemberian yang berbeda terhadap proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan melalui perangsangan SSP.

Penelitian ini menggunakan tikus jantan dari strain Wistar, umur 50 - 60 hari sebanyak 40 ekor ; tikus betina umur 80 - 100 hari sebanyak 24 ekor. Amfetamine Sulfat dalam bentuk serbuk (gram) dengan dosis 1 mg/kg (dosis rendah), 2 mg/kg (dosis sedang) dan 4 mg/kg (dosis tinggi). Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 8 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Pemberian amfetamin dengan cara injeksi subkutan pada daerah leher dengan menggunakan disposable syringe 1 ml. Setelah waktu pemberian selesai, 8 ekor tikus jantan dipisahkan dari 40 ekor tikus jantan (masing-masing kelompok perlakuan diambil 1 ekor) secara acak. Kemudian dikawinkan dengan tikus betina dengan perbandingan satu jantan tiga betina dalam satu kandang selama 5 hari. Tiga puluh dua tikus jantan lainnya dibunuh untuk diambil pemeriksaan morfologi sperma dan histologi testisnya. Pengamatan mikroanatomi merupakan pengamatan kuantitatif terhadap diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus, dan jumlah sel Spermatisit (I dan II) pada stadium XIV, jumlah normalitas spermatozoa, jumlah dan berat badan anak yang dilahirkan induk pasangannya. Penentuan jenis sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus testis tikus mengacu pada Tienhoven (1993). Data yang telah terkumpul

diuji dengan analisis varian dua arah, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD bila terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

Hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap diameter tubulus seminiferus pada tahap XIV siklus epitelium menunjukkan adanya sel-sel penyusun tubulus yang lengkap, dengan sel yang berasosiasi berurutan ke lumen menurut tingkat perkembangannya. Melalui uji statistik dengan analisis varian dua arah dan dilanjutkan dengan uji LSD dapat diinformasikan bahwa dengan peningkatan dosis obat menyebabkan adanya penurunan rata-rata diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatosit, normalitas spermatozoa, dan berat badan anak mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis amfetamin tetapi tidak pada frekuensi pemberiannya. Sedangkan berat testis kanan dan kiri serta jumlah anak tidak mengalami perubahan.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa pemberian amfetamin pada dosis 0, 1, 2, dan 4 mg/kg dan frekuensi pemberian 1x1 hari dan 2x1 minggu berpengaruh terhadap proses spermatogenesis dan tidak mempengaruhi fertilitas tikus.

Peneliti menyarankan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memakai spesies golongan mamalia lainnya serta waktu pemberian yang lebih dari satu siklus spermatogenesis, mengetahui mekanisme seluler dan molekuler terhadap sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer yang mendasari terjadinya disfungsi spermatogenesis dan fertilitas, dan memakai amfetamin sebagai model obat psikotropik yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis dan fertilitas.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Penyalahgunaan obat psikotropika mempunyai efek negatif terhadap tubuh. Di negara Inggris pengguna obat jenis ini menduduki tingkat yang tertinggi di Eropa. Sekitar 500.000 orang yang mengkonsumsi obat tersebut setiap hari beresiko mengalami kerusakan otak menetap dan 7 orang meninggal dari satu juta pemakai obat ini. Pemakaian secara rutin atau pecandu obat terlarang seperti kokain, heroin, kanabis, morfin, dan ekstasi akan menurunkan kadar serotonin dalam otak. Rendahnya serotonin ini berhubungan dengan meningkatnya terjadi depresi dan dorongan untuk menyerang dan kecenderungan untuk bunuh diri. Kondisi tersebut beresiko serius terhadap kehidupan di masa mendatang (Logan, 1996; Basori, 1997).

Salah satu turunan dari obat-obat psikotropika tersebut adalah amfetamin. Pada manusia, penggunaan amfetamin secara rutin dan berulang-ulang pada dosis tinggi menyebabkan sindroma psikotik. Demikian juga pada hewan, pada dosis yang konstan menyebabkan terjadinya perubahan tingkah laku yaitu aktif bergerak atau panik, *stereotypy*, dan *schizophrenic* karena stres (Logan, 1996).



Penyalahgunaan obat-obat terlarang dalam jangka waktu lama akan mengakibatkan ketergantungan fisik dan adiksi dengan derajat toleransi yang bervariasi dengan aktivitas intrinsik obat (Basori, 1997). Ketergantungan dan toleransi terhadap obat-obat ini dipengaruhi oleh kerja sistem perangsangan susunan saraf. Obat-obat perangsang susunan saraf ini sebagian besar adalah golongan obat-obat psikotropika. Apabila obat-obat ini diberikan dalam dosis kecil maka efek susunan saraf akan terlihat, tetapi bila dosis ditingkatkan atau disalahgunakan akan memberikan efek kekejangan. Obat-obat ini tidak digunakan lagi dalam klinik mengingat bahaya yang ditimbulkan sangat besar (Katzung, 1996).

Mekanisme kerja obat yang mendasari terjadinya ketergantungan dapat diketahui melalui pemahaman bagaimana mekanisme kerja obat di dalam sistem saraf pusat (SSP). Untuk itu diperlukan pemahaman dasar fisiologi selluler, biologi molekular, dan biokimia fungsi otak yang sangat kompleks. Hubungan antara perilaku tiap sel dengan organ mudah dipahami. Akan tetapi hubungan perilaku sel neuron dengan efek psikotropik sangat sulit dipahami, sehingga pemahaman farmakologi SSP masih bersifat deskriptif. Pada dekade terakhir, efek biokimia dan selluler obat-obat psikoaktif telah berkembang pesat walaupun tidak seluruhnya dimengerti. Misalnya hubungan antara peptida-peptida penyusun obat yang dijumpai di dalam otak atau di dalam jaringan-jaringan lain dengan reseptor-reseptornya. Mekanisme bekerjanya adalah sebagai

neurotransmitter dan akan menunjukkan efeknya setelah berikatan dengan reseptornya. Reseptor-reseptor yang terdapat dalam otak maupun jaringan-jaringan jenisnya sangat banyak. Setiap jenisnya dapat memberikan efek yang berbeda-beda. Di antara reseptor tersebut adalah reseptor μ (mu) yang berperan dalam efek analgesik dan ketergantungan fisik; reseptor κ (kappa) yang berperan dalam efek analgesik spinal dan sedasi; reseptor Σ (sigma) yang berperan dalam efek halusinogenik dan perangsangan jantung; reseptor α (alfa) yang berperan dalam efek vasokonstriksi pembuluh darah; reseptor α_1 yang berperan dalam efek meningkatkan tekanan jantung. Tetapi mekanisme kerja secara biokimiawi dan biologi molekuler dari zat-zat ini belum diketahui. Di antara obat-obat psikotropika yang disalahgunakan telah dibuktikan dari berbagai penelitian bahwa obat-obat psikotropika merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi fertilitas. Rowe (1993) dan Zarrindast (1993) menyatakan bahwa marijuana dan morfin dapat menyebabkan adanya penurunan fertilitas. Sedangkan George (1996) menyatakan bahwa kokain juga dapat menurunkan kualitas spermatogenesis. Akan tetapi sampai sekarang belum diketahui secara jelas bagaimana mekanisme stimulan SSP dapat mempengaruhi fertilitas (menurunkan , fertilitas, kualitas spermatogenesis, dan lain-lain).

Amfetamin juga merupakan obat psikotropika yang bekerja sebagai simpatomimetik yang spesifik yaitu sebagai perangsang (stimulan) susunan saraf dan efek yang ditimbulkan sama seperti kokain. Secara farmakokinetik dan

farmakodinamik obat tersebut mempunyai persamaan. Pemberian amfetamin dalam tubuh dapat menimbulkan pembebasan dopamin dan norepinefrin (efek α_1 dan β_1 yang kuat). Hal ini menyebabkan meningkatnya kadar dopamin dan norepinefrin di dalam tubuh. Di dalam susunan saraf pusat, adanya peningkatan dopamin dapat menyebabkan penurunan kadar prolaktin dan gonadotropin. Dopamin tidak bekerja langsung pada sekresi gonadotropin di pituitari anterior, tetapi bekerja melalui pelepasan *gonadotropin releasing hormon* (GnRH) di hipotalamus. Beberapa percobaan termasuk secara *in vitro*, menunjukkan bahwa dopamin merangsang pelepasan GnRH dari hipotalamus. Hal ini menimbulkan paradoks, tetapi secara sederhana dapat dikatakan bahwa reseptor GnRH merupakan hasil interaksi yang kompleks dari hormon-hormon steroid dan neurotransmitter. Untuk memecahkan masalah ini maka yang paling baik berpegang bahwa dopamin merupakan inhibitor baik untuk GnRH maupun prolaktin (Speroff, 1994).

Pelepasan sekresi GnRH yang konstan sangat mempengaruhi siklus reproduksi. Di antara hasil sekresi gonadotropin yang berhubungan dengan sistem reproduksi adalah *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). Adanya hambatan dalam sekresi gonadotropin menyebabkan penurunan kadar LH dan FSH, hal ini mengganggu sekresi hormon-hormon steroid dari gonad. Pada testis, penurunan kadar LH dapat menghambat kerja sel-sel Leydig dalam menghasilkan testosteron, di mana testosteron ini diperlukan dalam

proses spermatogenesis. Testosteron di dalam sel Sertoli dengan bantuan androgen binding protein (ABP) dapat diubah menjadi dehidrotestosteron (DHT) dengan bantuan enzim 5α -reduktase yang diperlukan pada proses spermiogenesis (pematangan spermatozoa). Demikian juga penurunan kadar FSH dapat menghambat kerja sel-sel Sertoli, sehingga menghambat sintesis ABP dan menstimuli inhibin (McClure, 1987).

Selain berefek terhadap pelepasan dopamin, amfetamin juga menyebabkan pelepasan norepinefrin, menghambat reup take norepinefrin dan menghambat pengrusakan norepinefrin oleh enzim monoamin oksidase (MAO). Norepinefrin yang disintesa oleh ujung saraf yang terdapat dalam mesencepalon merupakan neurotransmitter. Norepinefrin mengadakan stimuli terhadap sekresi GnRH sedangkan dopamin dan serotin menghambat sekresi GnRH. Norepinefrin bekerja melalui aktivasi reseptor α_1 dan reseptor β_1 . Senyawa α -metilnya di samping menghambat oksidasi oleh MAO juga mampu menggeser katekolamin dari tempat penyimpanannya di dalam saraf noradrenergik. Sehingga sebagian aktivitasnya bergantung pada simpanan norepinefrin di dalam tubuh. Hal ini merupakan simpatomimetik yang bekerja tidak langsung. Efek perangsangan terhadap perilaku yang ditimbulkan oleh obat ini sangat jelas yaitu efek pada kewaspadaan, meningkatkan kebugaran tubuh, dan efek depresan terhadap nafsu makan (Katzung, 1996).

Sedangkan efek simpatomimetik perifernya terutama melalui pelepasan katekolamin. Katekolamin bekerja melalui 2 reseptornya yaitu reseptor α_1 dan reseptor β_1 . Aktivasi terhadap reseptor α_1 dapat menimbulkan vasokonstriksi dalam pada jaringan vaskuler sedangkan aktivasi reseptor β_1 dapat meningkatkan tekanan darah. Adanya vasokonstriksi ini bila terjadi secara terus-menerus dapat menyebabkan kegagalan fungsi pembuluh arteri-vena pada jantung sehingga dapat menyebabkan kematian (Karch, 1994; Selmi, 1995). Keadaan ini bila terjadi pada pembuluh darah yang menuju ke organ genital dapat menurunkan suplai nutrien, hormon, oksigen, dan lain-lain yang dibawa oleh darah menuju ke organ genital tersebut. Adanya penurunan suplai ini bila terjadi terus menerus dapat menimbulkan terjadinya kelainan morfologi, fungsional, seluler, dan lain-lain.

Berdasarkan uraian tersebut di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh amfetamin sebagai psikostimulan golongan simpatomimetik amin terhadap fertilitas pada tikus jantan. Alasan dipilihnya amfetamin sebagai obat model (*model drug*) adalah sebagai berikut.

- (1) Amfetamin mewakili karakteristik farmakodinamik (mekanisme kerja) dan farmakokinetik (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi) dari stimulan SSP golongan simpatomimetik amin,
- (2) Kesulitan mendapatkan bahan simpatomimetik amin lainnya, misalnya ekstasi, kokain, dan lain-lain,

Dengan harapan, hasil penelitian yang diperoleh dapat diaplikasikan untuk memahami model efek dari simpatomimetik amin terhadap fungsi normal testis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka yang menjadi pokok permasalahan penelitian adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana pengaruh pemberian amfetamin dengan dosis yang berbeda terhadap proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan melalui perangsangan SSP ?
2. Bagaimana pengaruh amfetamin dengan frekuensi pemberian yang berbeda terhadap spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan melalui perangsangan SSP ?
3. Bagaimana pengaruh interaksi antara dosis dan frekuensi pemberian amfetamin yang berbeda terhadap proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan melalui perangsangan SSP ?
4. Apakah ada hubungan antara kenaikan dosis amfetamin dengan persentase efek penurunan yang ditimbulkan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh amfetamin sebagai psikostimulan golongan simpatomimetik amin terhadap spermatogenesis dan fertilitas tikus putih melalui perangsangan SSP.

1.3.2 Tujuan khusus

Ingin mengetahui bagaimana pengaruh amfetamin dengan dosis dan frekuensi pemberian yang berbeda serta interaksi antara dosis dan frekuensi pemberian terhadap :

1. Spermatogenesis yang meliputi :

- (1) diameter tubulus seminiferus pada stadium XIV,
- (2) tebal epitel tubulus pada stadium XIV,
- (3) jumlah spermatisit (I dan II) pada stadium XIV,
- (4) berat testis kiri dan kanan,

2. Fertilitas tikus jantan yang meliputi :

- (1) morfologi spermatozoa,
- (2) jumlah anak yang dilahirkan oleh pasangannya (untuk menguji terjadinya pembuahan oleh spermatozoa), dan

(3) berat badan anak (untuk mendukung data jumlah anak yang lahir beratnya normal atau tidak normal).

1.4 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 Tinjauan Umum Amfetamin

2.1.1 Sejarah dan kimiawi

Amfetamin mulai disintesis pada tahun 1887 di Jerman tetapi penggunaannya belum tersebar luas (Will, 1993). Pada tahun 1920-an di Cina telah dilakukan suatu penelitian yang menggunakan ephedrine (satu golongan dengan amfetamin) sebagai anti asma yang diberikan secara oral. Pada tahun 1930-an, terjadi perdebatan di jurnal-jurnal kedokteran tentang pertanggungjawaban penyalahgunaan amfetamin. Tahun 1932 amfetamin dipasarkan dengan nama benzedrine dalam bentuk sediaan inhaler sebagai dekonjestan. Pada tahun 1935 amfetamin dipasarkan dalam bentuk tablet dexidrine yang merupakan bentuk rasemat amfetamin yang diberi nama deksamfetamin yang mempunyai potensi dua kali lipat dari amfetamin (Maddoch, 1987).

Pada Perang Dunia II banyak tentara Inggris menggunakan tablet amfetamin untuk menghilangkan kelelahan, memperbaiki keadaan jiwa dan meningkatkan rasa percaya diri. Hal ini juga dilakukan oleh tentara Amerika dalam Perang Vietnam antara tahun 1966 - 1969. Setelah Perang Dunia II Jepang

mengadakan pengawasan produksi dan penggunaan amfetamin di lingkungan militer, karena banyak yang disalahgunakan. Pada tahun 1950-an, pabrik obat mencoba mengembangkan analog amfetamin dengan efek yang selektif yaitu sebagai stimulan tanpa tekanan nafsu makan (contoh methylphenidate) atau menekan nafsu makan tanpa stimulan (contoh phenmentrazine, diethylpropion atau phenmentrazine). Tetapi di Swedia phenmentrazine secara endemik sering disalahgunakan, sehingga dihilangkan dari pasaran. Di Inggris, amfetamin meluas penyalahgunaannya dan sering dicampur dengan amobarbital. Di Amerika (tahun 1954) amfetamin dapat diperoleh di toko-toko obat dengan atau tanpa resep dan sangat populer dikalangan pelajar dan para atlit yang ingin meningkatkan daya tahan dan kesabarannya atau yang lain yang ingin memperbaiki keadaan jiwanya (*mood*). Selain amfetamin obat yang tergolong dengannya juga digunakan oleh pengemudi truk yang ingin tetap siaga (Logan, 1996).

Di tahun 1960-an penyalahgunaan amfetamin dan metamfetamin secara intravena untuk menghilangkan masalah-masalah di masyarakat Amerika Serikat. Pada tahun 1982 kurang lebih 13 juta orang Amerika menggunakan amfetamin atau metamfetamin tanpa pengawasan medis terutama para remaja atau pelajar tingkat atas.

Molekul amfetamin merupakan molekul yang sederhana tetapi mempunyai aksi yang besar. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa

amfetamin dan turunannya dapat merangsang SSP, agen anoreksi, menghambat kerja monoamin oksidase, dan sebagai psikostimulan.

Besarnya aksi amfetamin ditentukan oleh molekul dasar penyusunnya. Molekul tersebut adalah cincin aromatis, dua senyawa karbon, kelompok α_1 -metil (kelompok nitrogen), kelompok β_1 -hidroksil (kelompok nitrogen), dan kelompok amino. Cincin aromatis secara alami mempengaruhi SSP (psikostimulan), kelompok α_1 -metil dapat mengurangi efek perangsangan SSP, kelompok β_1 -hidroksil mempunyai efek anoreksi, dan gugus alkil dari kelompok amino dapat meningkatkan aksi anoreksi (Giannini, 1989).

Amfetamin merupakan larutan tidak berwarna, berasa membakar, pada suhu kamar secara perlahan-lahan menguap, sedikit larut dalam air, etanol, eter dan kloroform, bentuk garamnya mudah larut dalam air, mempunyai titik didih $200^{\circ} - 203^{\circ} \text{ C}$, dan dengan kertas lakmus menunjukkan sifat basa.

2.1.2 Efek amfetamin terhadap SSP

Amfetamin merupakan obat psikotropika golongan simpatomimetik amin. Obat ini bekerja dengan menstimuli susunan saraf pusat dan simpatomimetik perifernya. 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*. Di samping itu efek amfetamin dapat menimbulkan terjadinya pelepasan dan menghambat reuptake norepinefrin serta menghambat pengrusakan norepinefrin oleh enzim MAO (Basori, 1997; Brust, 1993; Lucas, 1994).

Meningkatnya kadar dopamin merangsang terjadinya peningkatan aktivitas neuron dopaminergik di mesencephalon. Di *nucleus arcuatus* (NA) dopamin bekerja langsung menekan aktivitas GnRH arcuatus dan melalui sistem portal secara langsung juga menekan sekresi pituitari anterior. Akibat dengan adanya penekanan pada gonadotropin ini menimbulkan penurunan sekresinya (FSH, LH, dan prolaktin) (Speroff, 1994; Hamamura, 1993).

Meningkatnya kadar norepinefrin menimbulkan teraktivasinya reseptor adrenergik pada tempat postsinaps sehingga menimbulkan efek pada katekolamin. Katekolamin bekerja melalui dua reseptornya yaitu reseptor α (α_1 dan α_2) dan reseptor β (β_1 dan β_2). Norepinefrin terutama mengaktivasi reseptor α_1 , α_2 dan reseptor β_1 .

Efek yang ditimbulkan oleh aktivasi reseptor α_1 dapat meningkatkan konsentrasi kalsium di sitoplasma. Efek ini tidak melibatkan perubahan aktivitas adenilat siklase tetapi mekanisme terjadinya peningkatan kalsium ini masih belum diketahui. Pada otot pembuluh darah menimbulkan terjadinya kontraksi sehingga menimbulkan vasokonstriksi. Sedangkan reseptor α_2 dapat

kontraksi sehingga menimbulkan vasokonstriksi. Sedangkan reseptor α_2 dapat menghambat aktivitas adenilat siklase dan menurunkan kadar cyclic adenosine 3'5' monophosphate (cAMP) intra sel (trombosit) serta menyebabkan terjadinya agregasi trombosit, tetapi belum jelas apakah terjadinya agregasi ini akibat dari penurunan cAMP. Timbulnya kontraksi pada beberapa otot polos vaskular juga disebabkan karena aktivasi reseptor ini sehingga dapat menimbulkan vasokonstriksi (Carcillo, 1996).

Sedangkan aktivasi reseptor β_2 pada jantung dapat meningkatkan influks kalsium. Hal ini mempunyai akibat listrik dan mekanik. Kecepatan hantaran pada nodus atrio ventrikular meningkat serta refrakturnya menurun. Terhadap tekanan darah dapat meningkatkan tahanan perifer dan tonus vena, yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan darah.

Adanya perubahan tekanan darah dan vasokonstriksi selain disebabkan karena efek amfetamin, hal ini juga , terjadi pada obat psikotropika lain yaitu kokain. Kokain mempunyai efek farmakokinetik dan farmakodinamika yang sama dengan amfetamin. Menurut Geroge (1996) pemberian kokain dapat menurunkan fungsi normal testis tikus jantan pada proses spermatogenesisnya, tetapi berpengaruh sedikit terhadap perubahan endokrinnya. Zhang (1996) menyatakan bahwa kokain dan metabolisemenya dapat menurunkan fungsi sel Sertoli, yaitu menurunkan produksi ABP. Dan Hurd *et al.* (1992) menyatakan bahwa kokain dapat menurunkan motilitas sperma.

2.1.3 Efek psikotropik amfetamin

Amfetamin yang bekerja sebagai simpatomimetik spesifik adalah penting untuk diperhatikan, karena penggunaannya dan penyalahgunaannya sebagai perangsang susunan saraf pusat. Amfetamin dapat dengan mudah memasuki susunan saraf pusat dan mempunyai efek perangsang yang sangat kuat. Di bagian perifer, obat ini mempunyai efek yang sama dengan kokain yaitu meningkatkan aktivitas katekolamin (Dipalma, 1989).

Sebagai obat psikostimulan, amfetamin dapat menimbulkan terjadinya peningkatan aktifitas lokomotor, euphoria, meningkatkan kesadaran, memperbaiki kondisi fisik, mencegah kelelahan fisik, eksitasi SSP, perilaku stereotype, merangsang kecepatan dan dalamnya pernafasan, insomnia, hipertensi, dan anoreksia. Pada pemberian yang berlebih atau penyalahgunaannya dapat menyebabkan ketergantungan, baik fisik maupun psikis dan sindroma putus obat (Brust, 1993; Anthelman, 1980).

Ketergantungan psikis adalah keadaan merasa senang atau puas yang disertai keinginan psikis yang sangat kuat untuk menggunakan obat terus menerus agar diperoleh rasa senang. Rasa ketergantungan ini sering diikuti dengan perilaku untuk memperoleh obat secara paksa. Pada umumnya penyalahgunaan obat ini dilakukan secara oral, injeksi intravena, dan inhalasi. Tetapi untuk memperoleh efek psikis yang sangat cepat dengan intensitas yang sangat tinggi

(*rush* atau *flash*) dilakukan dalam bentuk injeksi intra vena atau inhalasi dalam rokok. Namun cara yang paling disukai adalah melalui inhalasi, karena jarak antara paru-paru menuju otak lebih pendek dari pada jarak antara vena anteculital menuju otak (Maddock, 1987 ; Brust, 1993).

2.1.4 Efek somatik amfetamin

Efek amfetamin pada sistem respirasi, dengan dosis besar secara nyata dapat meningkatkan konsumsi oksigen setiap menitnya, sedangkan pada dosis terapi tidak ada perubahan atau hanya sedikit penurunan atau kenaikan konsumsi oksigen. Terhadap sel otot menyebabkan anoreksia, oleh karena itu obat tersebut kemungkinan dapat menghambat terjadinya hipertropi otot, hal ini terjadi karena anoreksi menghambat suplai nutrisi yang penting untuk pembentukan komponen otot. Hipertropi otot berhubungan langsung dengan sintesis bahan-bahan sel terutama protein penyusun elemen kontraktil. Di dalam sel miofibril akan menebal dan bertambah jumlahnya jika terjadi peningkatan sintesa protein (Hermanto, 1997). Selain itu amfetamin juga meningkatkan lokomotorius (gerak) pada tikus (Pierce, 1995).

Pada saluran cerna menyebabkan mulut menjadi kering, rasa pengecap menjadi legam, dan tidak berselera makan. Pada hewan percobaan, telah dibuktikan oleh Camanni (1993) bahwa amfetamin dapat menyebabkan rasa haus sehingga menimbulkan rasa ingin banyak minum.

Amfetamin juga mempengaruhi suhu tubuh, pada pemakaian yang berlebih dapat terjadi hipertermia (Capasso *et al.*, 1996). Kematian dapat terjadi karena meningkatnya suhu tubuh dan aktifitas motorik (Boschi *et al.*, 1993). Pada keadaan yang over dosis, di mata dapat membuat pupil membesar sedangkan pada sistem kardiovaskular dapat meningkatkan tekanan sistolik dan diastolik. Pada akhirnya dapat menyebabkan kematian karena terjadi pembengkakan pembuluh darah di otak (Davis, 1996; Logan, 1995).

2.1.5. Ketergantungan terhadap amfetamin

Faktor yang terpenting dari pemakaian amfetamin adalah timbulnya ketergantungan terhadap obat yang dapat menimbulkan banyak efek. Beberapa efek bila ditinjau secara farmakologi dibedakan menjadi :

(1) efek primer, yaitu efek yang ditimbulkan langsung setelah pemakaian obat.

Misalnya dapat merangsang peningkatan kebugaran tubuh, denyut nadi, tekanan darah, pernafasan, keringat, temperatur badan, dan metabolisme tubuh, besar dosis yang digunakan tergantung pada setiap individu, karena setiap individu mempunyai toleransi yang berbeda terhadap obat tersebut,

(2) efek sekunder, sering terjadi pada pemakaian secara klinis, misalnya pemakaian obat untuk menurunkan berat badan, antidepresan,

- (3) toksisitas, secara farmakologi dapat diukur dari kriteria akut dan kronis, psikologi dan medis dengan ketentuan ringan sampai parah, dan
- (4) kecanduan terhadap obat sangat tinggi pada pemakai amfetamin mempunyai kecenderungan untuk memakai berulang-ulang, termasuk morfin dan heroin.

2.1.6. 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 ($\text{pH} = 5$) 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).

2.2 Ekstasi

Ekstasi dengan nama populernya 3,4 *methylenedioxy methamphetamine* (MDMA), ADAM, XTC, Essence, EA, ICE dan Inex. Ekstasi adalah turunan dari amfetamin yang mempunyai sifat halusinogen (Singarajah, 1992). Obat ini di Amerika (1970) banyak digunakan di kalangan *psychotherapist* untuk pengobatan kejiwaan atau mengatasi kelelahan dan depresi. Selain itu di kalangan kampus sering disebut sebagai *recreational drug*. Tetapi secara kontradiktif obat ini dapat menyebabkan depresi serotonin (gangguan otak) dan vasokonstriksi pembuluh darah perifer sehingga dapat meningkatkan tekanan darah dua kali lipat serta dapat menimbulkan ekses penyakit pada liver dan ginjal. Secara patologis, di liver dapat menyebabkan terjadinya nekrosis satu sel menjadi nekrosis yang terpusat. Nekrosis secara besar-besaran ini dapat terjadi pada pemakaian berulang-ulang atau berlebihan sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstasi dapat memacu terjadinya hepatitis (Milroy, 1996).

Pemakaian pada dosis sedang (85 - 100 mg) selama 6 - 24 jam dapat menimbulkan perasaan melangit, mental emosional meningkat, perasaan transendenal dan paranoia. Secara fisik dapat menurunkan nafsu makan, mual, gemetar dan kaku, berkeringat, dan tekanan darah meningkat hingga sampai puncaknya satu jam setelah memakai obat tersebut. Pada pemakai tunggal bila digunakan secara terus menerus dapat terjadi toleransi terhadap kenaikan dosis yang dibutuhkan untuk mendapatkan efek yang sama. Pada pemakaian dosis tinggi (200 - 300 mg atau lebih) akan menimbulkan halusinasi, perasaan ringan melayang, dan adanya gangguan keseimbangan yaitu muntah, pandangan kabur, berkeringat, dan kejang-kejang. Efek lainnya adalah nafsu makan menurun, mual, depresi, sukar tidur. Bila terjadi over dosis dapat meningkatnya tekanan darah dan dapat berakhir dengan kematian (Suarez, 1988).

2.3. Tinjauan Struktur Jaringan pada Testis

2.3.1 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. Spermatosit primer tampak menonjol ke dalam lumen merupakan sel yang lebih besar, mempunyai kromatin dan berinti. Spermatosit 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.

2.3.2 Fungsi normal testis

Testis sebagai organ reproduksi pria mempunyai dua fungsi yaitu menghasilkan spermatozoa (dalam epitel tubulus seminiferus) dan hormon steroid (dalam sel Leydig) yang 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).

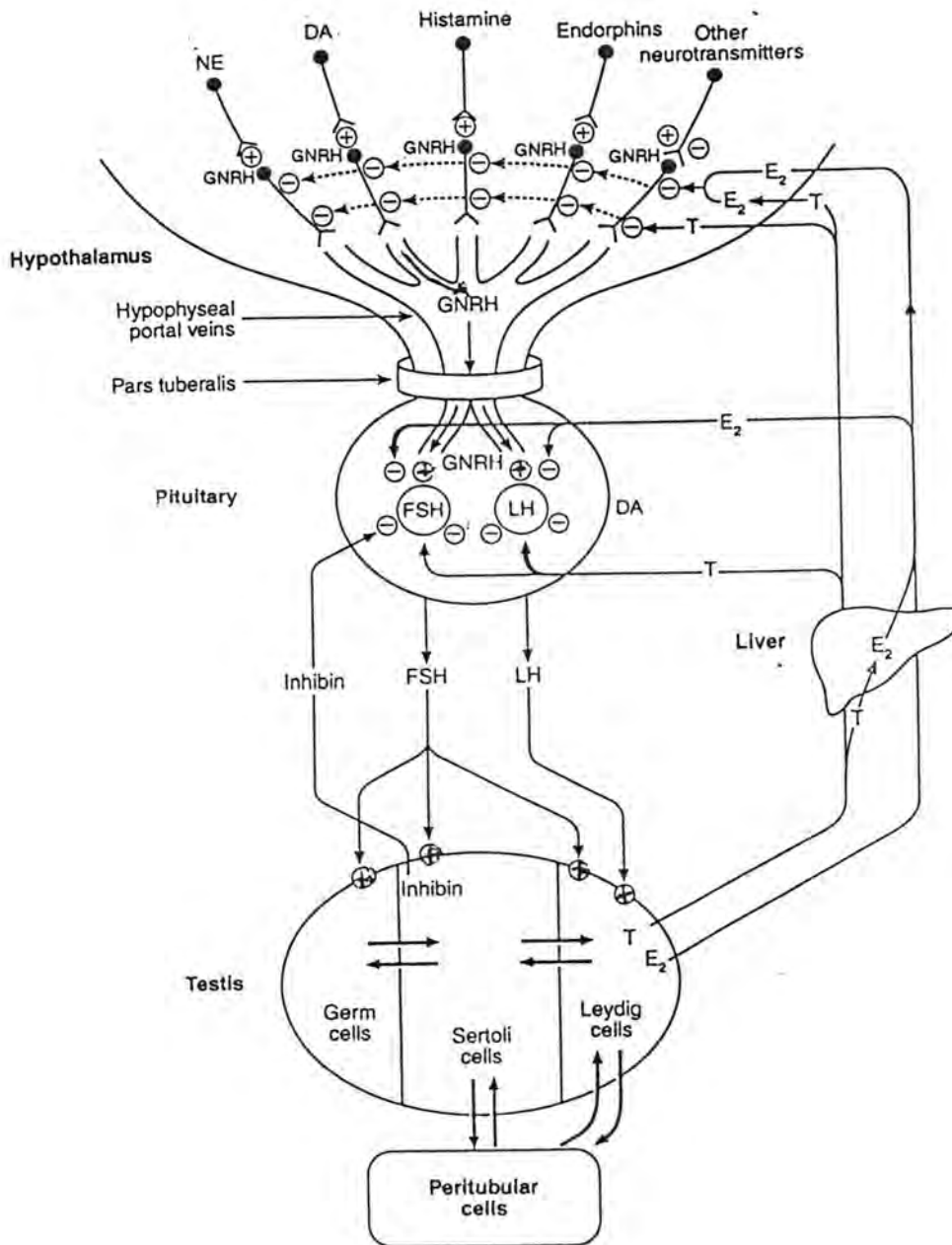
2.3.2.1 Endokrin

Testis pada vertebrata seperti halnya pada manusia mempunyai fungsi endokrin yang sama baiknya dengan fungsi spermatogenesis. Pada testis dibedakan 2 komponen fungsi tersebut, yaitu tubulus seminiferus (untuk spermatogenesis) dan sel Leydig (untuk menghasilkan testosteron). Fungsi komponen-komponen tersebut bergantung pada gonadotropin pituitari, yaitu FSH dan LH. LH bekerja dengan menstimuli sintesis dan sekresi testosteron pada sel Leydig ($\pm 5 - 10$ mg/hari). Testosteron yaitu hormon steroid yang diperlukan dalam perkembangan sistem reproduksi. Di dalam tubulus seminiferus pada sel Sertoli, testosteron ini diubah menjadi androgen yang lebih aktif yaitu dehidrotestosteron oleh aktivitas 5α -reduktase. Testosteron yang berikatan dengan androgen binding protein (ABP) yang dihasilkan oleh sel Sertoli akan berperan dalam proses spermatogenesis. Di dalam epididimis, DHT sangat diperlukan dalam proses spermiogenesis yaitu proses pematangan spermatozoa hingga dapat bergerak aktif. FSH memperkuat stimuli LH pada sel Leydig dengan meningkatkan jumlah reseptor LH dalam sel. Meningkatnya kadar testosteron dapat menghambat sekresi LH pada hipotalamus, hal ini



merupakan mekanisme umpan balik untuk menghambat produksi LH yang berlebihan (gambar 2.1.).

FSH bekerja dengan menstimuli sel Sertoli untuk membentuk ABP. Kecuali ABP juga membentuk inhibin yaitu hormon non steroid yang mempunyai mekanisme umpan balik untuk menghambat produksi FSH yang berlebihan (Hart, 1983; Sperof, 1994).



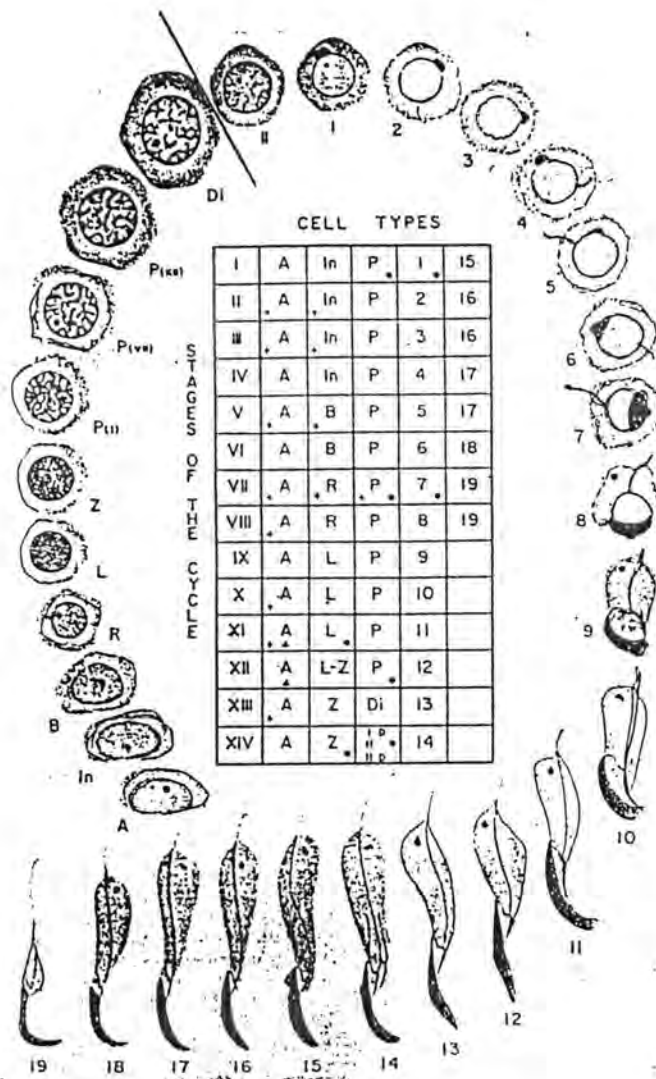
Gambar 2.1 Hubungan antara poros hipotalamus-pituitari anterior-testis (Insler, 1993)

2.3.2.2. Spermatogenesis

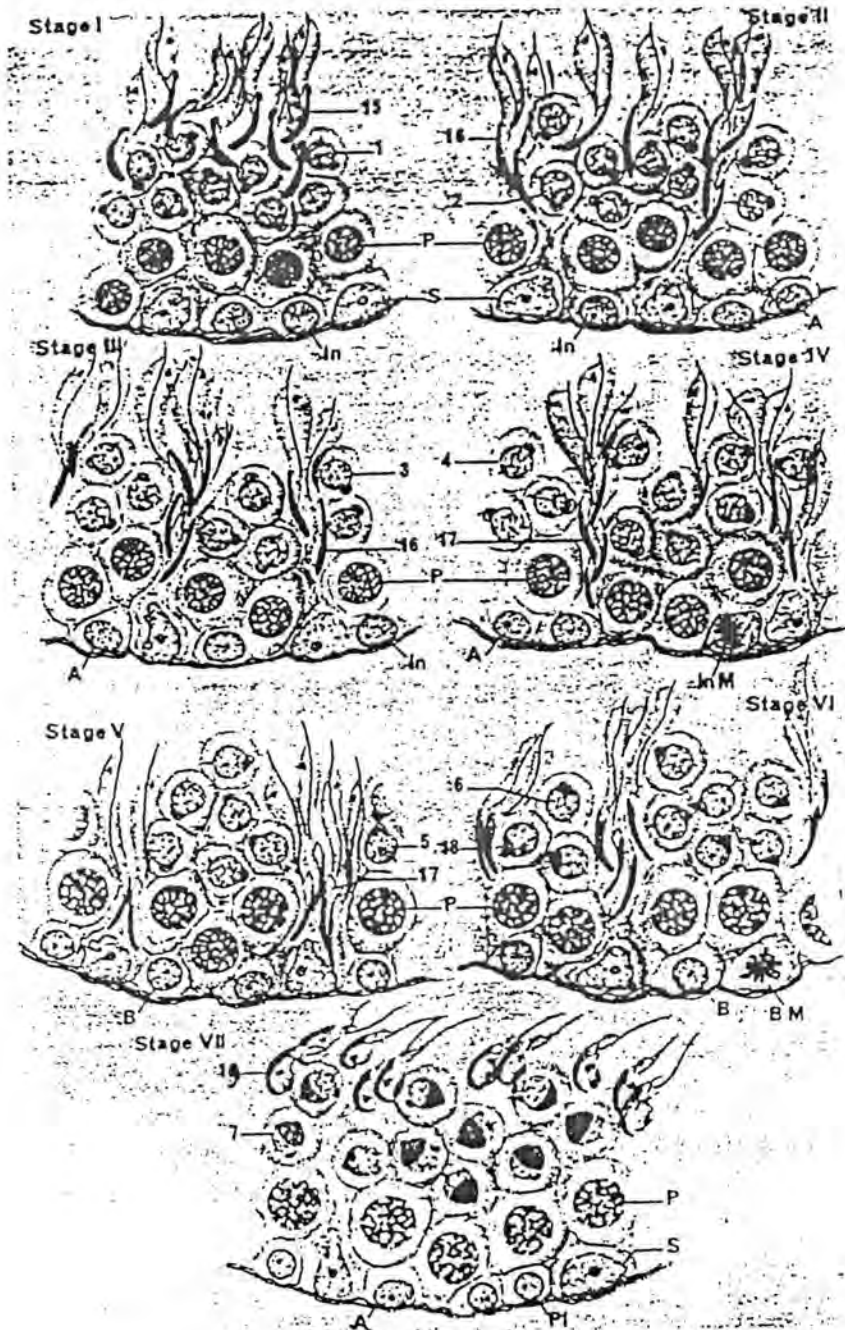
Spermatozoa dihasilkan melalui proses spermatogenesis. Spermatogenesis merupakan suatu proses terbentuknya spermatozoa dari spermatogonium melalui suatu perkembangan yang kompleks dan teratur.

Lama satu siklus spermatogenesis dapat diukur dari terjadinya perubahan spermatogonia tipe A sampai menjadi spermatozoa. Waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus spermatogenesis tikus adalah 49 hari dan lama satu daur epitel seminiferus adalah 12,3 hari (Tienhoven, 1983).

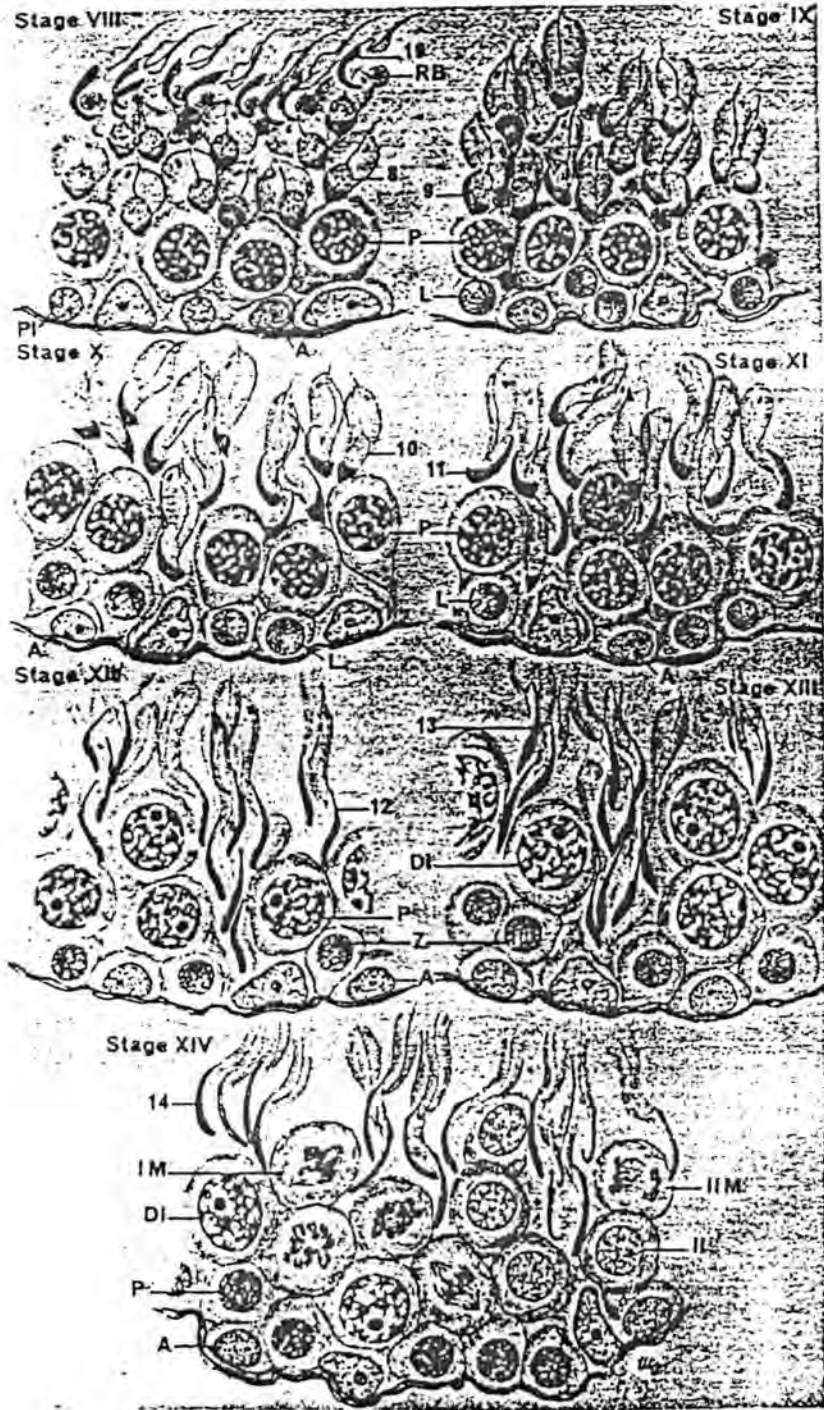
Tikus memiliki 14 tingkat daur epitel seminiferus yang diberi tanda dengan angka Romawi I-XIV (gambar 2.2). Pembagian tingkat berdasarkan perkembangan akrosom selama spermiogenesis. Spermiogenesis sendiri terdiri dari 19 tingkat, yang diberi tanda dengan angka Arab (1-19) (gambar 2.3).



Gambar 2.2 Tahap-tahap spermatogenesis tikus dengan asosiasi sel tertentu (baris). A = spermatogonia tipe A; In = spermatogonis intermedia; B = spermatogonia tipe B; R = spermatosit primer tahap dalam istirahat; L = spermatosit leptoten; Z = spermatosit sigoten; P2(I)1, P2(VII)1, P2(XII) = spermatosit pakiten awal, tengah, dan akhir; Di = diploten; II = spermatosit sekunder, 1-19 tahapan spermatid dalam spermatogenesis (Tienhoven, 1983)



Gambar 2.3 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; II = spermatosit sekunder, IM, IIM = meiosis I dan II; 1-19 variasi tahap spermatid dari spermatogenesis; RB = badan residual (Tienhoven, 1983)



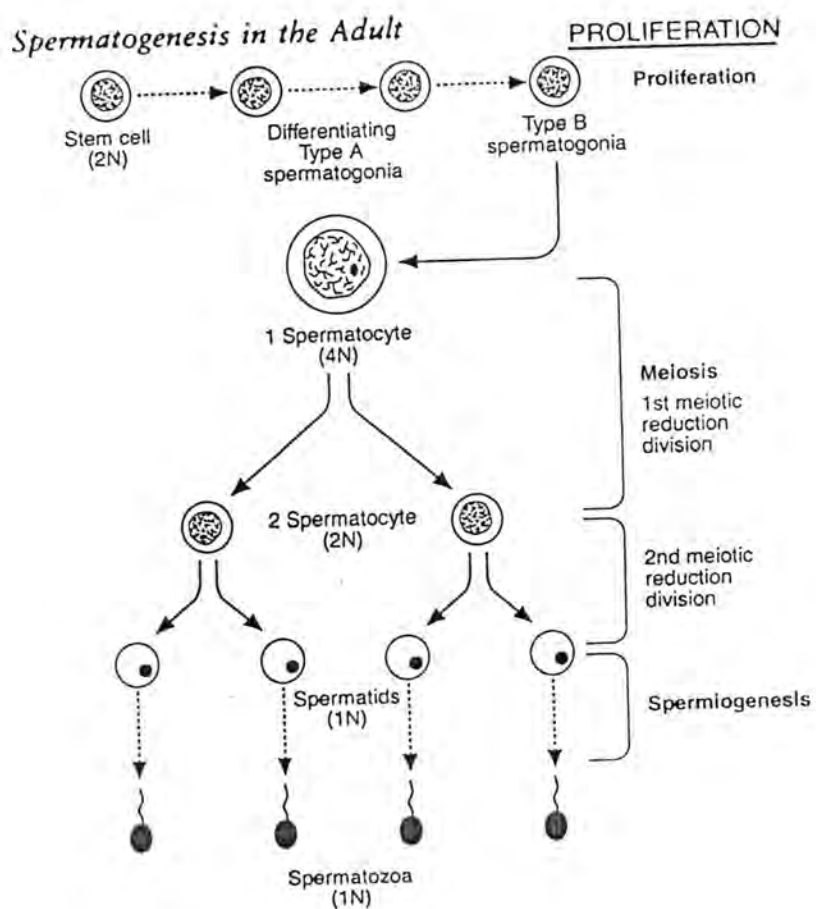
Dengan demikian urutan tingkat daur epitel seminiferus sama dengan urutan tingkat-tingkat spermiogenesis. Sedangkan kelebihan tingkat spermiogenesis berhimpitan dengan tingkat-tingkat daur epitel seminiferus atau tingkat-tingkat spermiogenesis sendiri. Tiap tingkat daur epitel seminiferus mengandung jenis sel spermatogenik tertentu disebut dengan istilah asosiasi sel. Anggota asosiasi dalam tiap tingkat terdiri dari empat sampai lima jenis sel spermatogenik. Beberapa tahap pembelahan dalam proses spermatogenesis, antara lain sebagai berikut.

(1) Spermatositogenesis (proliferasi),

Pada tahap ini spermatogonia membelah berturut-turut menghasilkan keturunan sel yang akhirnya akan menghasilkan spermatosit.

(2) Meiosis, yaitu spermatosit mengalami dua kali pembelahan yang berurutan dengan pengurangan setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel menghasilkan spermatid.

(3) Spermiogenesis, disebut juga tahap transformasi spermatid menjadi spermatozoa (gambar 2.4).



Gambar 2.4 Diskripsi dari proses proliferasi, meiosis, dan spermiogenesis (Insler,1993)

Proses spermatogenesis diawali dengan serangkaian mitosis spermatogonia. 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).

2.4 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.

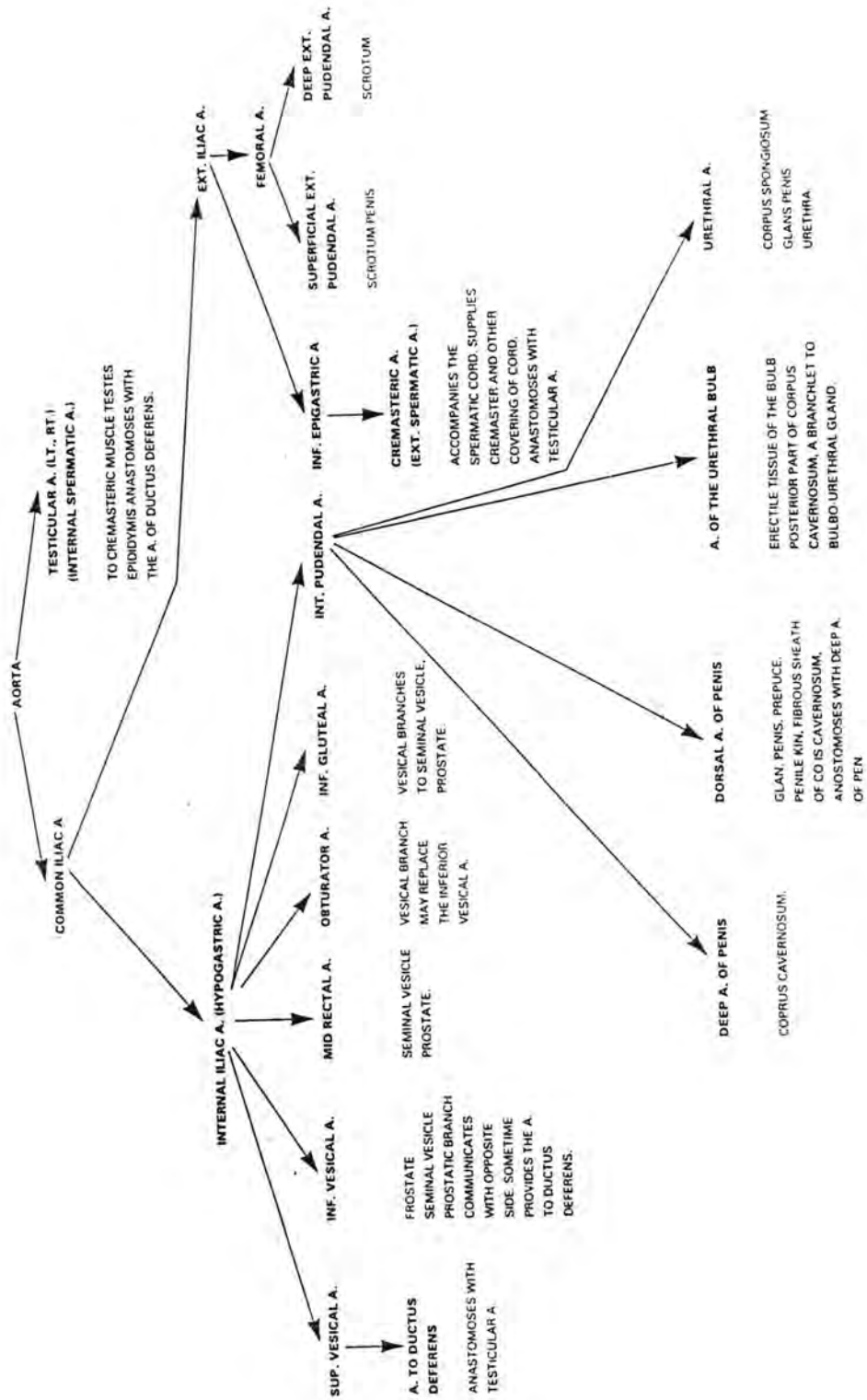
Menurut acuan WHO klasifikasi penyebab infertilitas pria adalah gangguan endokrin, disfungsi kelenjar asesoris, kelainan genetik, infeksi, imunologik, radiasi, dan keracunan obat-obatan. Beberapa obat psikotropik yang mempunyai mekanisme stimulan SSP dapat menyebabkan terjadinya penurunan fungsi reproduksi karena menurunnya suplai nutrisi 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.

2.5 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 (gambar 2.5). 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.



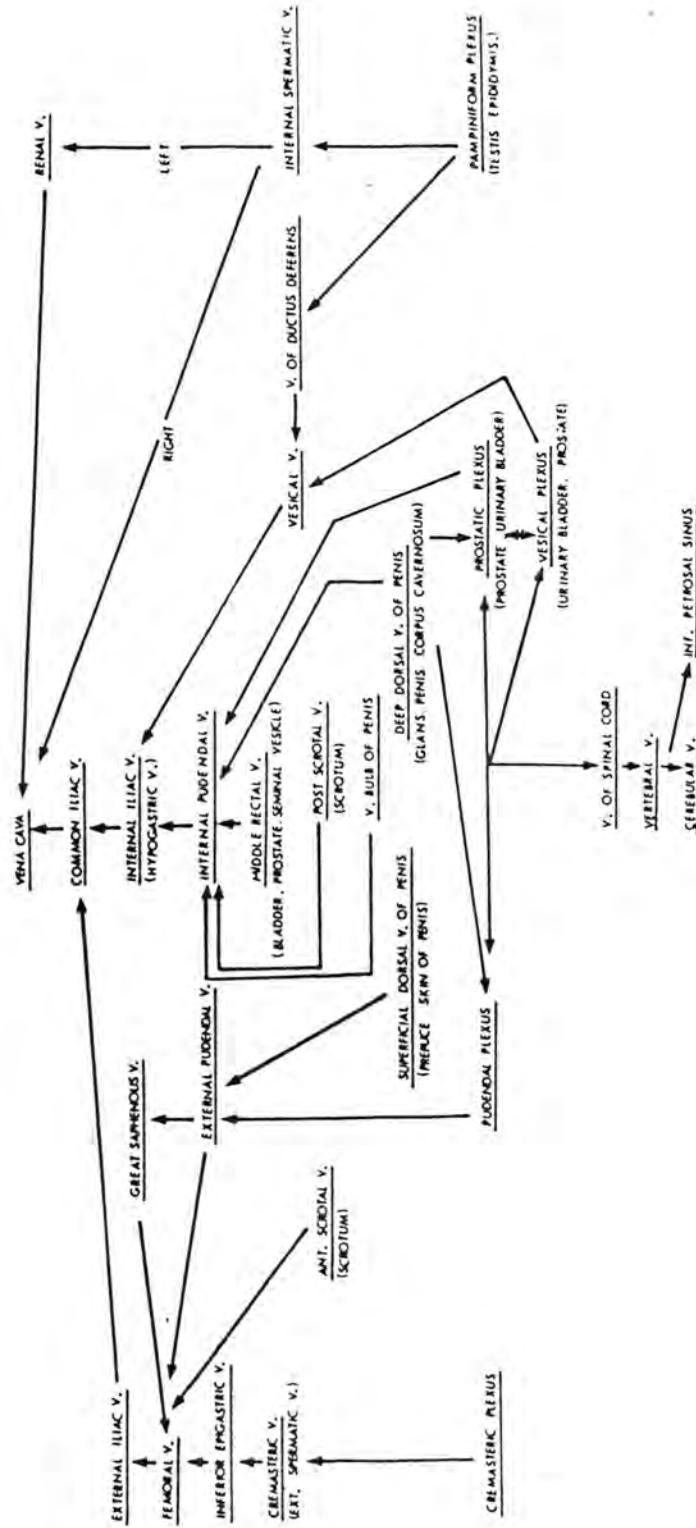
Gambar 2.5 Suplai darah dari pembuluh arteri menuju ke saluran genital pria (Insler, 1993)

Ada lima cabang pembuluh vena yang mengalir menuju vena dari berbagai organ, yaitu pleksus cremaster, pleksus pudendal, pleksus prostat, pleksus vesikal, dan pleksus pampiniformis (gambar 2.6). 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 spermatica 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 sumsum 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).



Gambar 2.6 Suplai darah yang menuju ke pembuluh vena pada saluran genital pria (Insler, 1993)

2.6 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).

Pendewasaan seksual tikus terjadi antara 6 - 8 minggu untuk kedua jenis kelamin jantan dan betina. Fase estrus pertama pada betina ± 15 minggu, testis

turun antara 15 - 51 hari dan dapat kembali masuk - keluar dari dalam perut secara penuh pada saat dewasa.

Fase estrus pada tikus betina terjadi 12 jam setiap 35 hari. Pejantan akan berhubungan dengan betina pada saat estrus dengan satu atau dua kali ejakulasi selama 15 - 20 menit. Koagulasi ejakulasi semen akan membentuk sumbat vagina pada bagian distal untuk beberapa jam setelah itu akan hilang. Kopulasi tikus terjadi pada malam hari. Waktu kehamilannya ditentukan oleh umur, strain, dan variabel lainnya. Lama waktu kehamilan sekitar 19 - 23 hari dengan rata-rata 21 - 22 hari (Kohn, 1984).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Koseptual

Kerangka konseptual yang diajukan berdasarkan landasan teoritis dan empiris adalah sebagai berikut.

Penyalahgunaan obat dan pemakaian obat terlarang di kalangan remaja sering terjadi. Obat tersebut sebagian besar dari golongan psikotropika yang menstimuli SSP.

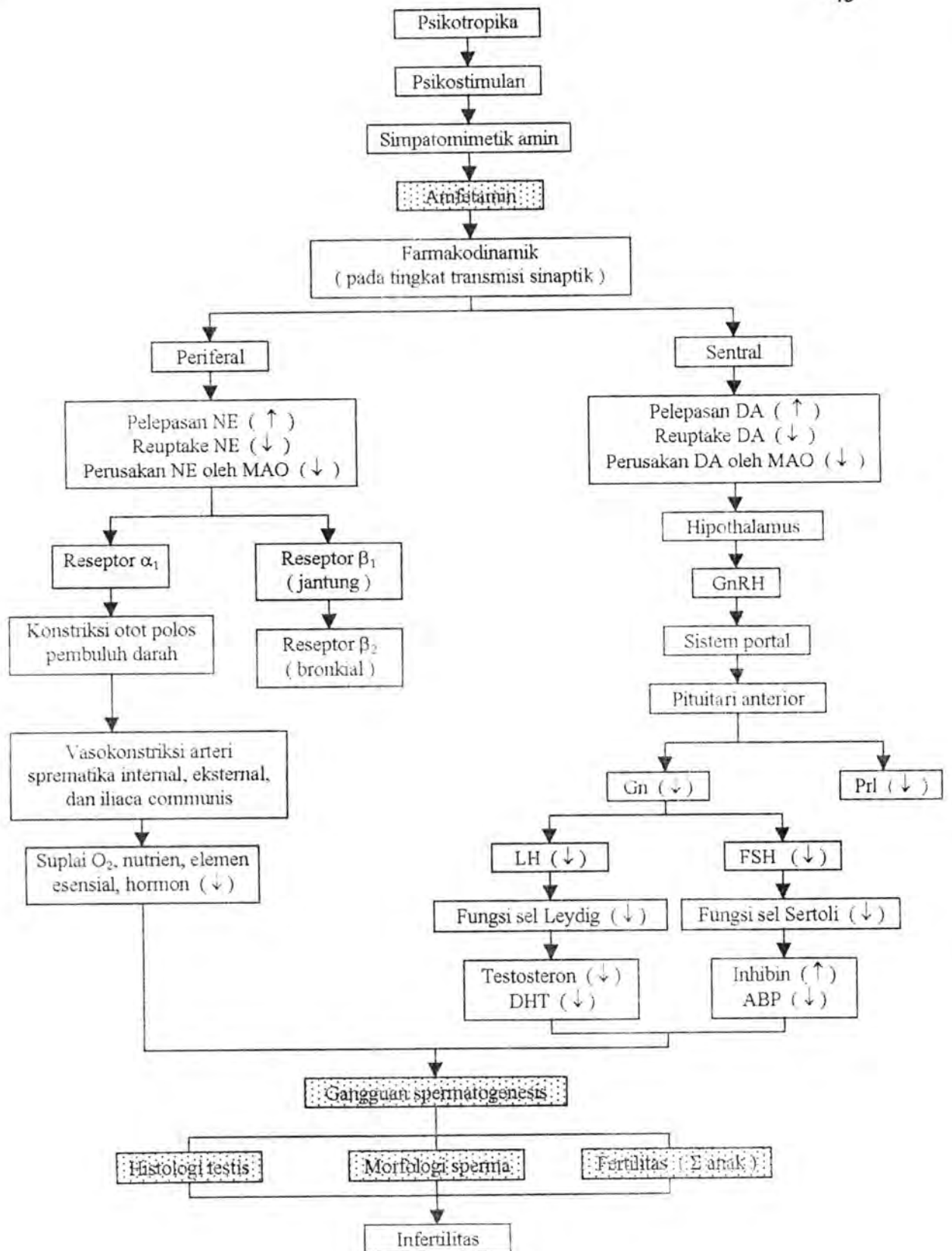
Amfetamin dari golongan obat simpatomimetik amin yang menstimuli SSP, melalui rangsangannya menimbulkan sinyal pada SSP untuk meningkatkan pelepasan norepinefrin dan dopamin, menghambat reuptake NE dan dopamin serta menghambat terjadinya kerusakan NE dan dopamin oleh MAO. Sehingga terjadi penumpukan NE dan dopamin dalam citoplasmic pool.

NE yang meningkat mengaktivasi reseptor α_1 dan β_1 . Aktivasi reseptor α_1 meningkatkan kontraksi otot polos pembuluh darah sehingga menimbulkan vasokonstriksi. Akibat yang ditimbulkan suplai oksigen, nutrien dan elemenelemen esensial yang dibutuhkan pada tingkat organ, jaringan dan seluler menurun. Demikian juga dengan peningkatan dopamin, menimbulkan inhibitor pada sekresi gonadotropin sehingga sekresinya menurun. Penurunan sekresi

gonadotropin dapat menurunkan sekresi testosteron dan pada akhirnya mengganggu fungsi normal testis.

Testis sebagai organ reproduksi memerlukan suplai nutrien melalui darah yang terdapat dalam pembuluh darah. Adanya vasokonstriksi atau gangguan fungsi pada pembuluh darah dapat menimbulkan kelainan morfologik, fungsional, dan seluler testis.

Beranjak dari hal tersebut di atas maka timbul dugaan bahwa mekanisme stimulan SSP dapat menyebabkan mempengaruhi fertilitas yang disebabkan oleh adanya mekanisme vasokonstriksi melalui stimulasi reseptor α_1 pada pembuluh darah.



Gambar 3.7 Kerangka konseptual penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual tersebut di atas, penulis mengajukan hipotesis sebagai berikut.

- (1) Pemberian amfetamin dengan dosis yang berbeda mempengaruhi proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan,
- (2) Pemberian amfetamin dengan frekuensi pemberian yang berbeda mempengaruhi proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan,
- (3) Interaksi antara dosis dan frekuensi pemberian amfetamin yang berbeda mempengaruhi proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan,
- (4) Ada hubungan antara peningkatan dosis amfetamin dengan peningkatan persentase efek penurunan yang ditimbulkannya.

BAB IV

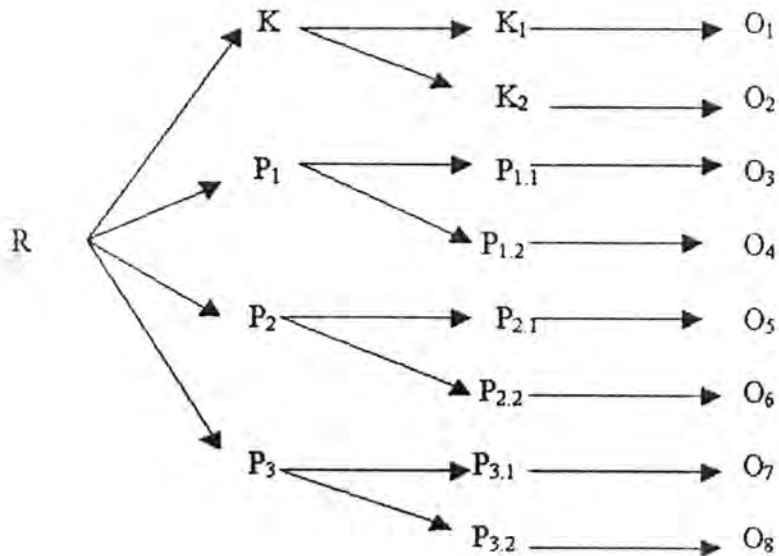
METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental sesungguhnya (*true experimental*) yang dilakukan di laboratorium.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan faktorial, dengan perlakuan sebagai berikut.



Faktor A : Dosis amfetamine yang terdiri dari :

K : Larutan garam fisiologis tanpa Amfetamin ,

P-1 : 1 mg/kg berat badan,

P-2 : 2 mg/kg berat badan,

P-3 : 4 mg/kg berat badan,

Faktor B : Frekuensi pemberian amphetamine yaitu :

1 : setiap hari selama 50 hari,

2 : setiap minggu dua kali selama 50 hari.

Interaksi Perlakuan :

K-1 P-1.1 P-2.1 P-3.1

K-2 P-1.2 P-2.2 P-3.2

4.3 Variabel Penelitian

- (1) Variabel bebas, yaitu larutan amfetamin dalam larutan garam fisiologis dengan variasi dosis dan frekuensi pemberian serta interaksi dosis dan frekuensi pemberian.
- (2) Variabel kendali, yaitu strain, umur, berat badan, pakan, dan perawatan tikus.
- (3) Variabel tergantung, yaitu diameter tubulus seminiferus, tebal epitel seminiferus, jumlah spermatisit, berat testis, morfologi sperma, jumlah dan berat badan anak, dan berat badan tikus selama penelitian.

4.4 Definisi Operasional Variabel

- (1) Amfetamin dalam penelitian ini adalah serbuk amfetamine sulfat yang diperoleh dari laboratorium, Bio Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Pengencerannya menggunakan larutan garam fisiologis.
- (2) Tikus jantan pubertas yang dimaksud adalah tikus jantan yang berumur 50 ± 10 hari.
- (3) Berat testis yang dimaksud adalah berat testis kanan dan kiri pada masing-masing tikus yang diukur dengan menggunakan timbangan.
- (4) Morfologi sperma yang dimaksud adalah menghitung jumlah sperma yang mempunyai bentuk normal dan abnormal (kepala, leher, dan ekor).
- (5) Diameter tubulus seminiferus yang dimaksud adalah jarak antara dua titik yang bersebrangan pada garis tengahnya dimana titik tersebut terletak pada membran basalis.
- (6) Tebal epitel tubulus seminiferus yang dimaksud adalah jarak antara membran basalis sampai ke permukaan lumen tubulus seminiferus.
- (7) Jumlah dan berat badan anak yang dimaksud adalah jumlah dan berat badan anak dari masing-masing induk pasangannya pada hari ke 1.
- (8) Fertilitas atau kesuburan tikus jantan yang dimaksud adalah fekundasi yaitu terjadinya fertilitas tikus selama satu siklus spermatogenesis.

4.5 Bahan Penelitian

(1) Hewan percobaan, meliputi :

Tikus jantan dari strain Wistar, umur 50 - 60 hari sebanyak 40 ekor ; tikus betina umur 80 - 100 hari sebanyak 24 ekor. Tikus diperoleh dari bagian Pemeliharaan Hewan Percobaan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

(2) Pakan tikus

Pakan tikus berupa pelet "Par G" yang diproduksi oleh PT. Comfeed Indonesia.

(3) Amfetamine Sulfat dalam bentuk serbuk (4 gram) yang diperoleh dari laboratorium Bio Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

(4) Bahan kimia untuk pengenceran sperma (larutan garam fisiologis) dan untuk mewarnai spermatozoa (Safranin kristal violet).

(5) Bahan kimia untuk pembuatan sediaan histologis testis meliputi :

a. larutan fiksatif Bouin, dengan komposisi asam pikrat jenuh, formalin, dan asam asetat glasial dengan perbandingan volume 15 : 5 : 1 (Drury , 1964).

b. bahan untuk *processing* yang meliputi alkohol bertingkat, xilol, dan parafin cair.

c. bahan pewarnaan jaringan yaitu *Harris Hematoxyline Eosin* 11%.

4.6 Alat-alat Penelitian

Alat-alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- (1) Disposabel siringe 1 ml untuk menyuntikan amfetamine.
- (2) Alat-alat untuk pemeliharaan dan pengamatan hewan coba seperti kandang tikus yang berukuran 40 x 50 cm, dengan kapasitas kandang 5 ekor tikus ; timbangan (dalam gram) untuk mengetahui berat badan tikus dan timbangan (dalam gram) dengan kepekaan 4 angka di belakang koma untuk mengetahui berat testis tikus.
- (3) Peralatan ntuk pembuatan dan pengamatan preparat histologis testis seperti seperangkat alat bedah (skapel, gunting, pipet dan papan seksi) untuk pengambilan testis dan epididimis; seperangkat alat pemrosesan jaringan untuk pembuatan preparat histologis testis, perangkat mikrofotografi, dan mikroskop cahaya.
- (4) Peralatan untuk pembuatan sediaan apus cairan sperma.

4.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di :

- (1) Laboratorium Biologi Reproduksi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga Surabaya.

- (2) Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, yaitu tempat pemrosesan preparat histologi testis.
- (3) Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juli sampai dengan Desember 1998.

4.8 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan menurut tahap-tahap berikut.

1. Tahap persiapan, yang meliputi :

a. penyediaan dan aklimatisasi hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Pemeliharaan Hewan Percobaan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Sebelum mendapatkan perlakuan hewan coba dikembangbiakkan untuk memperoleh keturunan ke dua, dengan harapan homogenitas sampel dapat dipertahankan yang meliputi berat badan, umur, strain, makanan, dan keadaan lingkungan sekitarnya.

b. penyiapan larutan amfetamin

Larutan amfetamin dibuat dengan berbagai dosis, dengan cara melarutkan serbuk amfetamin ke dalam larutan garam fisiologis sebanyak 0,2 ml. Penentuan besar dosis amfetamin yang digunakan mengacu pada penelitian-penelitian terdahulu (Camanni, 1994; Hans, 1993; Anthelman,

1980) berkisar antara 1 - 5 mg/kg berat badan. Dalam penelitian ini dosis yang dipilih adalah 1 mg/kg (dosis rendah), 2 mg/kg (dosis sedang) dan 4 mg/kg (dosis tinggi).

c. penyiapan larutan pewarnaan spermatozoa Safranin-kristal violet

Larutan pewarnaan spermatozoa dibuat dengan cara :

- (1) membuat larutan buffer 0,1 M yaitu dengan mencampurkan 1,42 gram Na_2HPO_4 dan 0,9 gram NaH_2PO_4 ke dalam 100 ml aquades,
- (2) membuat larutan safranin yaitu dengan mencampurkan 0,1 gram safranin O ke dalam 100 ml aquades,
- (3) membuat larutan kristal violet yaitu dengan mencampurkan 0,25 gram kristal violet ke dalam 100 ml aquades.

2. Tahap perlakuan, yang meliputi :

a. Pengelompokan hewan percobaan

Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 8 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor dengan rincian sebagai berikut.,

Kelompok K-1 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan dengan larutan garam fisiologis tanpa amfetamin setiap hari selama 50 hari (sebagai kelompok kontrol).

Kelompok P-1 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan amfetamin dengan dosis 1 mg/kg berat badan setiap hari selama 50 hari.

Kelompok P-2 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan amfetamin dengan dosis 2 mg/kg berat badan setiap hari selama 50 hari.

Kelompok P-3 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan amfetamin dengan dosis 4 mg/kg berat badan setiap hari selama 50 hari.

Kelompok K-2 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan dengan larutan garam fisiologis tanpa amfetamin, satu minggu dua kali selama 50 hari (sebagai kelompok kontrol).

Kelompok P-4 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan amfetamin dengan dosis 1 mg/kg berat badan, satu minggu dua kali selama 50 hari.

Kelompok P-5 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan amfetamin dengan dosis 2 mg/kg berat badan, satu minggu dua kali selama 50 hari.

Kelompok P- 6 :

Lima ekor tikus jantan diberi injeksi subkutan amfetamin dengan dosis 4 mg/kg berat badan, satu minggu dua kali selama 50 hari.

b. Pemberian amfetamin

Besar dosis yang telah ditentukan diberikan dengan cara injeksi subkutan pada daerah leher dengan menggunakan disposable siringe 1 ml. Setelah waktu pemberian selesai, delapan ekor tikus jantan dipisahkan dari 40 ekor tikus jantan (masing-masing kelompok perlakuan diambil 1 ekor) secara acak. Kemudian dikawinkan dengan tikus betina umur 90 hari dengan perbandingan satu jantan tiga betina dalam satu kandang selama 5 hari. Tiga puluh dua tikus jantan lainnya dibunuh untuk diambil pemeriksaan morfologi sperma dan histologi testisnya. Tikus betina dipelihara untuk mengetahui hasil konsepsinya. Untuk mengetahui apakah sudah terjadi kopulasi antara pasangan tikus tersebut, pada tikus betina dilakukan *vaginal plug* sebagai indikasi kopulasi berlangsung.

c. Pengambilan cuplikan

Cuplikan berupa testis dan cairan sperma. Testis diambil pada saat hewan coba pingsan dan cairan sperma diperoleh dari cauda epididimis yang banyak mengandung spermatozoa (Satcheel, 1988).

d. Pengukuran berat testis

Setelah tikus dibunuh, selanjutnya testis diambil, kemudian dibersihkan dan ditimbang (dalam satuan gram). Setelah itu testis dimasukkan ke dalam larutan fiksatif Bouin, kemudian dibuat sediaan histologisnya. Jaringan testis untuk sediaan ini, diambil satu testis selanjutnya dibuat 3 irisan sediaan. Tahap pembuatan sediaan histologisnya dapat dilihat pada lampiran 19. Setelah pemeriksaan selesai, dilakukan pemeriksaan mikroskop. Mula-mula dengan pembesaran lemah (10×10) dan dilanjutkan dengan pembesaran kuat (10×60).

e. Pengamatan mikroanatomi testis

Pengamatan mikroanatomi merupakan pengamatan kuantitatif terhadap diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus, dan jumlah sel Spermatisit (I dan II) pada stadium XIV. Penentuan jenis sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus testis tikus mengacu pada Tienhoven (1993).

f. Pengamatan morfologi spermatozoa

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.

g. Pengecatan spermatozoa

Teknik pengecatan sperma digunakan untuk mengamati morfologi sperma. Pengamatan morfologi dilakukan untuk menghitung jumlah sperma yang mempunyai bentuk normal dan abnormal. Teknik pengecatannya adalah sebagai berikut. Sediaan hapusan dikeringkan di udara, secara berturut-turut sediaan tersebut dimasukkan ke dalam larutan metanol, safranin, air bufer (pH 6,8), kristal violet (pH 2,9). Setelah kering di udara, lalu dilihat dibawah mikroskop dengan minyak emersi. Morfologi sperma setiap unit sampel diperiksa sebanyak 100 sperma. Kemudian dibedakan atas bentuk sperma normal dan abnormal.

h. Teknik mengawinkan tikus

Pertama dilakukan pemeriksaan hapus vagina selama satu minggu. Bila dalam pemeriksaan hapusan vagina dapat diketahui tikus dalam keadaan estrus, tikus tersebut diambil dan ditempatkan bersama tikus jantan untuk dikawinkan. Dua puluh empat jam kemudian diamati vaginanya, bila terdapat sumbat vagina (*vaginal plug*) berarti sudah terjadi kopulasi.

Hari ke nol kebuntingan didasarkan adanya sumbat vagina. Bila tidak ditemukan adanya sumbat vagina, maka dilakukan hapusan vagina, adanya sperma menunjukkan bahwa pada tikus tersebut telah terjadi kopulasi. Sedangkan usia kebuntingan ditentukan dengan menghitung 24 jam setelah kopulasi sebagai hari pertama kebuntingan.

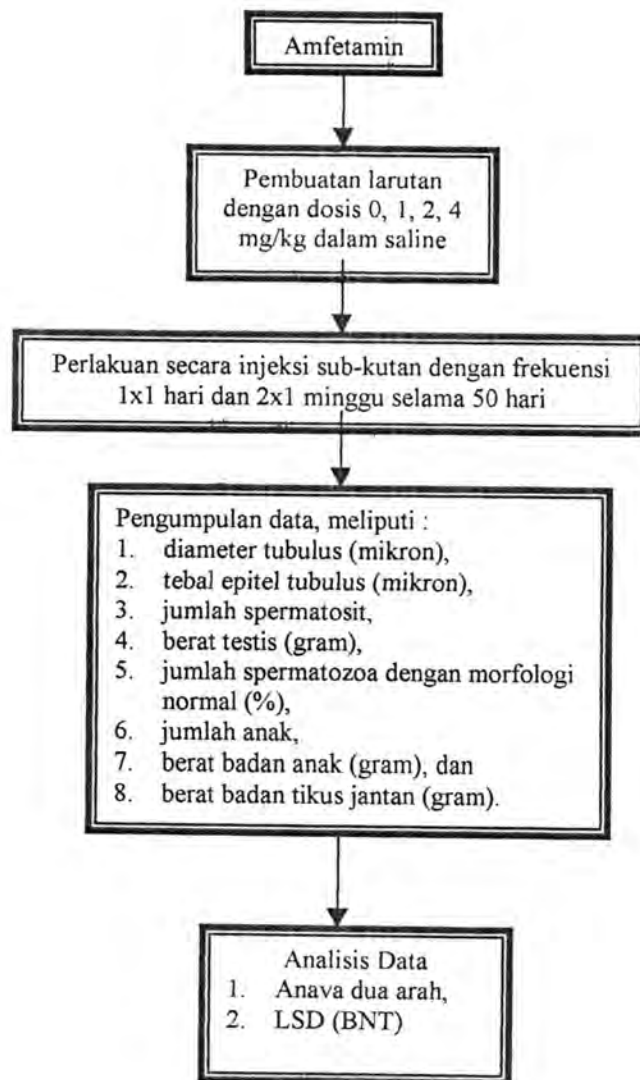
3. Tahap pengumpulan data, meliputi :

- a. pengukuran diameter tubulus seminiferus (dalam mikron),
- b. pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus (dalam mikron),
- c. penghitungan jumlah sel spermatosit,
- d. pengukuran berat testis kanan dan kiri (dalam gram),
- e. penghitungan jumlah spermatozoa dengan morfologi normal dan abnormal, dan
- f. penghitungan jumlah dan pengukuran berat badan anak yang dilahirkan dari tikus betina pasangannya pada hari ke 1.

4. 9 Tahap analisis data, meliputi :

- a. analisis varian dua arah, untuk mengetahui pengaruh pemberian amfetamin terhadap data : diameter tubulus, tebal epitel tubulus, jumlah sel Spermatosit, jumlah dan berat badan anak, prosentase morfologi spermatozoa antar

- kelompok perlakuan pada setiap kelompok perlakuan pada dosis dan frekuensi pemberian serta interaksinya,
- b. analisis varian satu arah, untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan pada dosis dan frekuensi pemberian yang berbeda,
 - c. jika dari hasil analisis varian didapatkan adanya perbedaan bermakna (dengan nilai probabilitas $(p) < 0,05$), untuk mengetahui letak perbedaannya dilanjutkan dengan uji LSD (BNT = Beda Nyata Terkecil).



Gambar 4.8 Kerangka operasional penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 HASIL PENELITIAN

Untuk menguji hipotesis bahwa amfetamin dapat menurunkan fungsi testis dalam proses spermatogenesis dan fertilitas tikus jantan, telah dilakukan serangkaian penelitian terhadap berikut ini.

- (1) Proses spermatogenesis, yang meliputi pengamatan terhadap :
 - (a) diameter tubulus seminiferus,
 - (b) tebal epitelium tubulus seminiferus,
 - (c) jumlah spermatosit,
 - (d) berat testis kiri dan kanan.
- (2) Uji fertilitas tikus jantan , yang meliputi :
 - (a) morfologi spermatozoa,
 - (b) penghitungan jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya (untuk mengetahui keberhasilan spermatozoa membuahi sel telur), dan
 - (c) berat badan anak untuk mendukung data jumlah anak dengan berat yang normal atau tidak.

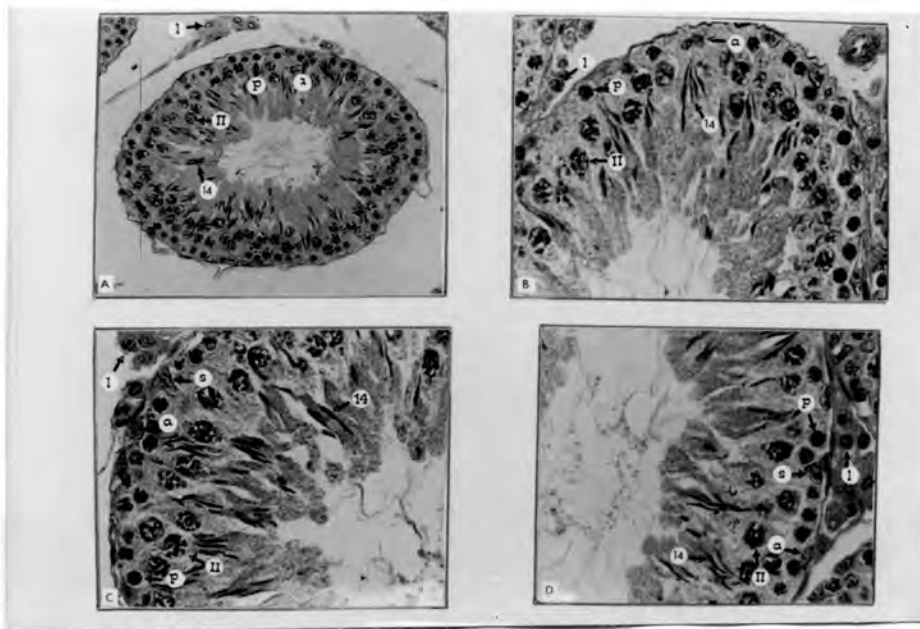
Data hasil pengamatan dan pengukurannya disajikan dalam tabel dan lampiran berikut ini.

5.1.1 Diameter tubulus seminiferus

Melalui pemeriksaan mikroskopis terhadap testis tikus dapat diamati sel-sel penyusun tubulus seminiferus dan diukur diameter tubulus seminiferus dengan menggunakan skala mikrometer (mikron). Tubulus seminiferus yang dipilih adalah tubulus pada tahap XIV siklus epitelium. Pada tahap ini dapat ditemukan sel-sel penyusun tubulus yang lengkap, yaitu sel spermatogonium (tipe A), sel spermatosit primer (fase zigoten), sel spermatosit sekunder, dan sel spermatid (step ke 14). Kriteria jenis-jenis sel penyusun tubulus seminiferus tersebut mengacu pada Tienhoven (1983).

Struktur anatomi tubulus seminiferus dari testis tikus jantan dewasa pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada gambar 5.9.





Gambar 5.9 Struktur anatomi tubulus seminiferus testis tikus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada pemberian amfetamin 1x1 hari

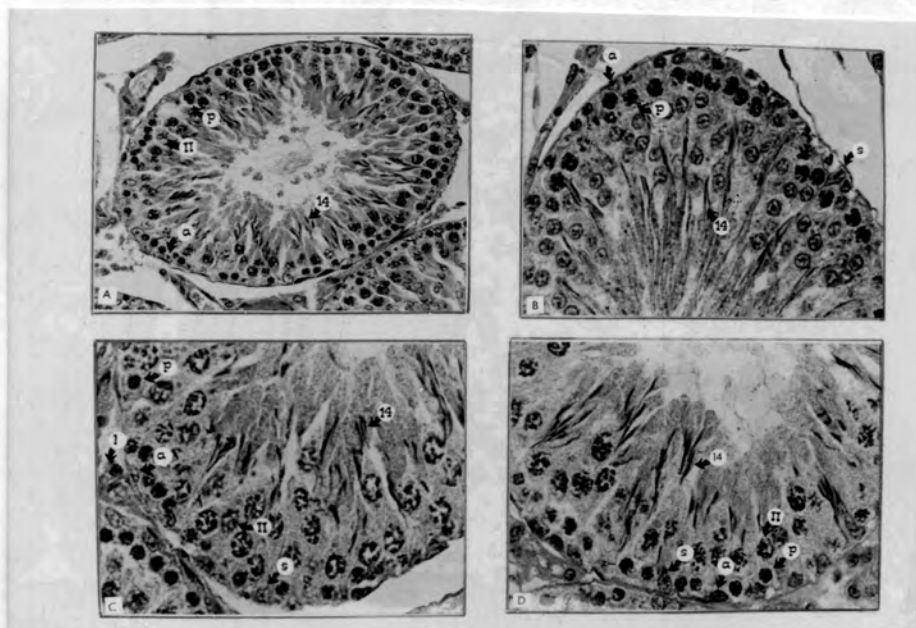
Perlakuan : Amfetamin

Penampang : melintang

Tebal irisan : 4 μ m

Pewarnaan : Hematoksilin – Eosin

Keterangan : A, B, C, dan D = kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 (P-1 = 1 mg/kg), 2 (P-2 = 2 mg/kg), dan 3 (P-3 = 4 mg/kg) pada pemberian amfetamin 1x1 hari. s = sel Sertoli, I = sel Leydig, a = sel Spermatogonium, p = sel Spermatosit primer fase pakiten, II = sel Spermatosit sekunder, 14 = sel Spermatid step ke 14.



Gambar 5.10 Struktur anatomi tubulus seminiferus testis tikus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada pemberian amfetamin 2x1 minggu

Perlakuan : Amfetamin

Penampang : melintang

Tebal irisan : 4 μ m

Pewarnaan : Hematoksilin – Eosin

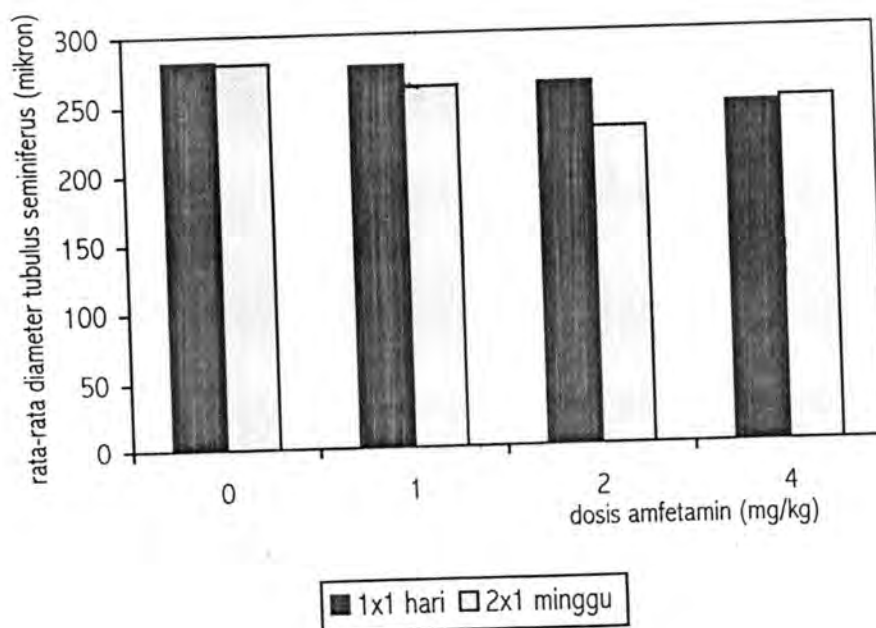
Keterangan : A, B, C, dan D = kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 (P-1 = 1 mg/kg), 2 (P-2 = 2 mg/kg), dan 3 (P-3 = 4 mg/kg) pada pemberian amfetamin 2x1 mgg. s = sel Sertoli, l = sel Leydig, a = sel Spermatogonium, p = sel Spermatosit primer fase pakiten, II = sel Spermatosit sekunder, 14 = sel Spermatid step ke 14.

Struktur mikroanatomi tubulus seminiferus kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B, C, D) menunjukkan adanya sel-sel penyusun tubulus yang lengkap, dengan sel yang berasosiasi berurutan ke lumen menurut tingkat perkembangannya. Peningkatan dosis obat menyebabkan adanya penurunan jumlah sel-sel spermatosit seperti tampak pada gambar B, C, dan D bila dibandingkan kelompok kontrol (A).

Hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 1. Sedangkan data hasil pengukuran rata-rata diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Rata-rata diameter tubulus seminiferus testis tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (mikron)

Kelompok Perlakuan	Besar dosis (mg/kg)			
	0	1	2	4
1 x 1 hari	289	266	256	246
	286	269	262	246
	276	269	270	250
	276	276	263	243
2 x 1 minggu	286	257	249	249
	281	266	256	249
	280	257	262	248
	273	266	253	252



Gambar 5.11 Histogram rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = kontrol; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

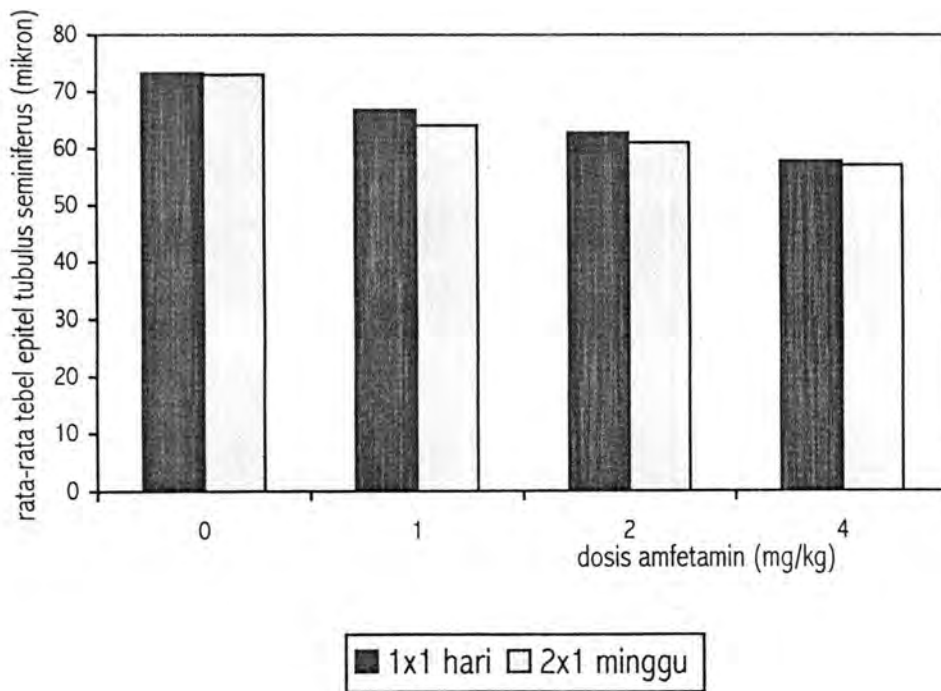
Rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis amfetamin tetapi tidak pada frekuensi pemberiannya (gambar 5.11).

5.1.2 Tebal epitel tubulus seminiferus

Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus dengan cara memilih potongan tubulus pada tahap XIV siklus epitelium, sehingga homogenitas ukurannya dapat dikendalikan, dan menggunakan skala mikrometer (mikron). Hasil pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 2. Sedangkan data hasil pengukuran rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rata-rata tebal tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (mikron)

Kelompok perlakuan	Besarnya dosis (mg/kg berat badan)			
	0	1	2	4
1 x 1 hari	78	64	62	57
	71	68	63	60
	72	67	61	58
	72	68	65	56
2 x 1 minggu	73	65	62	58
	75	64	62	55
	71	64	60	57
	73	63	60	58



Gambar 5.12 Histogram rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus tikus setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = kontrol; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

Rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis dan frekuensi pemberian amfetamin. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian amfetamin semakin menurun ukuran tebal epitel tubulus seminiferus (gambar 5.12).

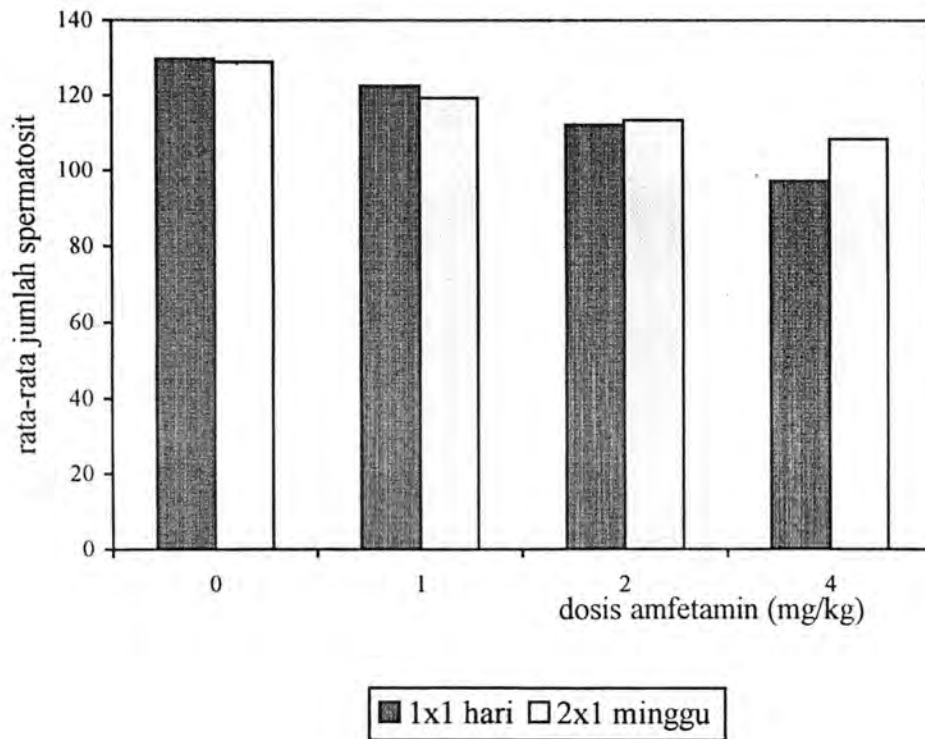
5.1.3 Jumlah spermatisit

Penghitungan jumlah spermatisit (spermatisit primer dan sekunder) pada tubulus seminiferus testis tikus dengan cara memilih potongan tubulus seminiferus pada tahap XIV siklus epitelium. Hasil penghitungan jumlah spermatisit pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 3. Sedangkan data hasil

penghitungan rata-rata jumlah spermatisit pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata jumlah spermatisit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	Besarnya dosis (mg/kg berat badan)			
	0	1	2	4
1 x 1 hari	128	123	107	95
	133	124	112	98
	129	120	115	98
	128	123	115	98
2 x 1 minggu	129	120	117	110
	126	122	111	109
	131	120	116	108
	129	115	110	107



Gambar 5.13 Histogram rata-rata jumlah spermatosit tikus setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = 0 mg/kg; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2 mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

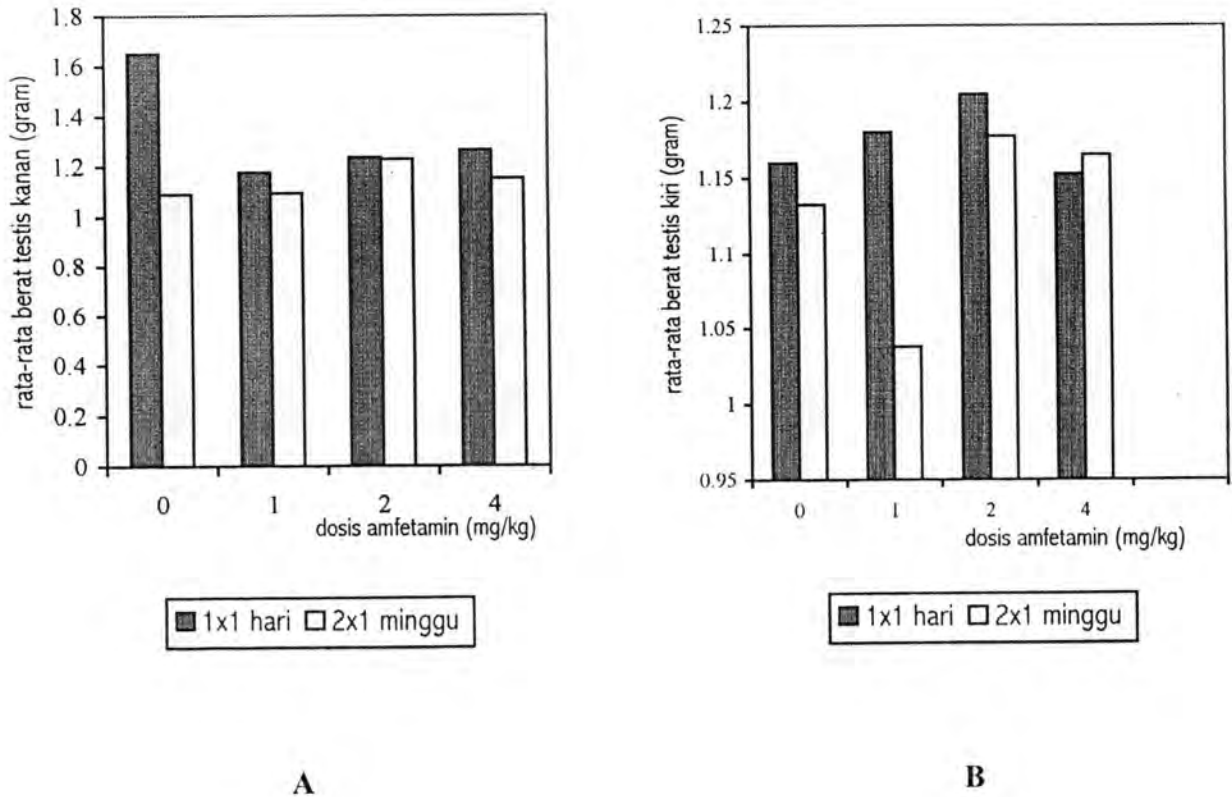
Rata-rata jumlah spermatosit tikus mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis dan frekuensi pemberian amfetamin. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian amfetamin semakin kecil jumlah spermatosit dalam satu penampang melintang tubulus seminiferusnya (gambar 5.13).

5.1.4 Berat testis tikus kanan dan kiri

Berat testis kanan dan kiri diukur secara bergantian segera setelah tikus dimatikan. Hasil pengukuran berat testis kiri dan kanan disajikan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Rata-rata berat testis tikus kiri dan kanan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram)

Kelompok perlakuan	Besarnya dosis (mg/kg)	Berat testis (gram)	
		Kanan	Kiri
1 x 1 hari	0	1,17	1,16
	1	1,18	1,18
	2	1,24	1,20
	4	1,27	1,15
2 x 1 minggu	0	1,05	1,13
	1	1,09	1,04
	2	1,23	1,18
	4	1,15	1,17

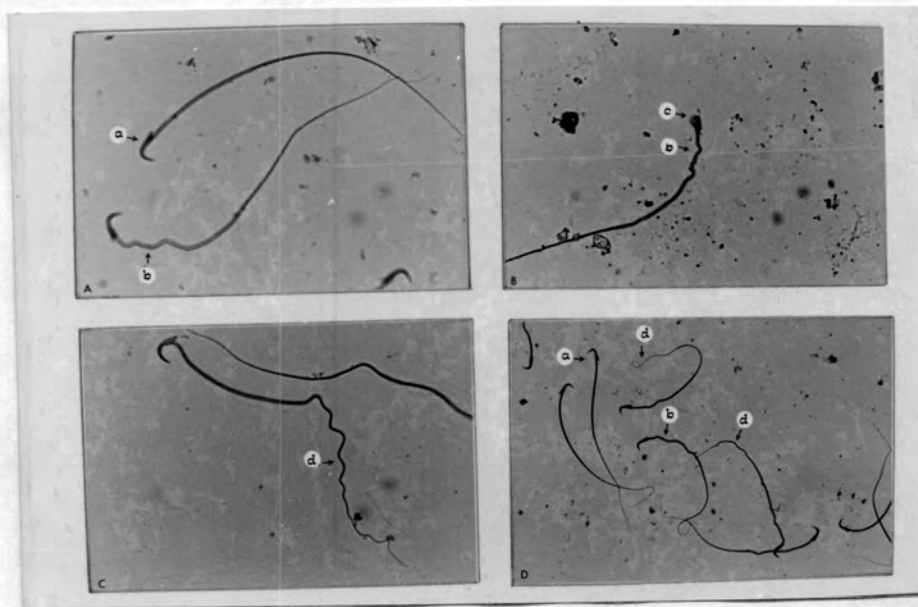


Gambar 5.14 Histogram rata-rata berat testis tikus kanan (A) dan kiri (B) setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = 0 mg/kg; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2 mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

Rata-rata berat testis tikus kanan dan kiri tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan setelah pemberian amfetamin (gambar 5.14).

5.1.5 Jumlah spermatozoa normal

Morfologi spermatozoa diamati dan dihitung pada hari ke 50 (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 spermatozoa tikus yang normal dan tidak normal dapat dilihat pada gambar 5.15. Morfologi yang tidak normal ditemukan berupa ketidaknormalan pada kepala, leher, dan ekor.



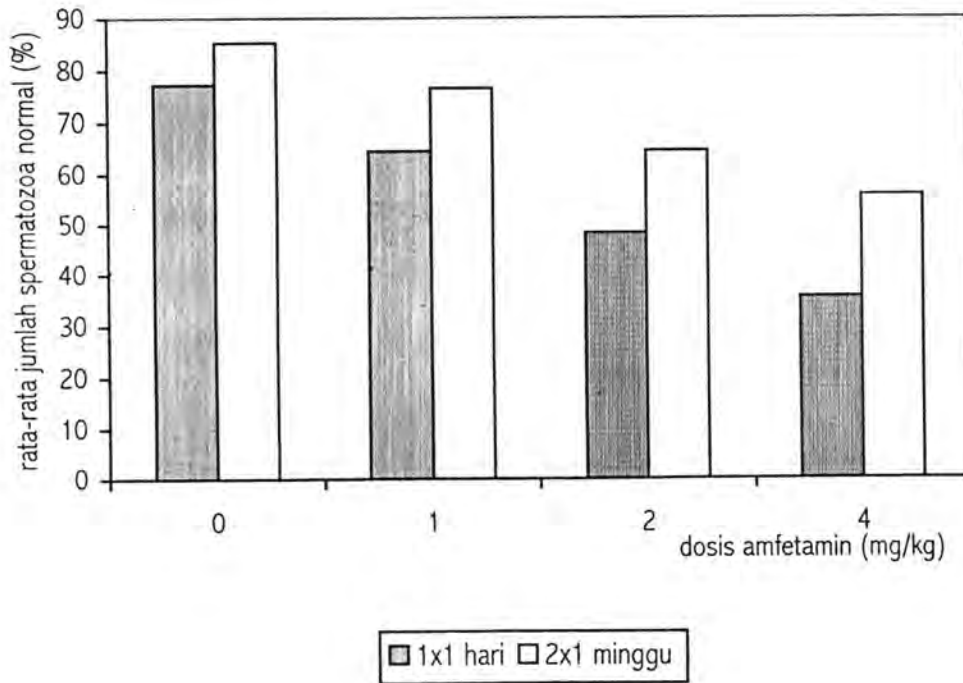
Gambar 5.15 Morfologi spermatozoa tikus. A = morfologi spermatozoa normal (a) dan tidak normal pada bagian leher (b); B = morfologi spermatozoa tidak normal pada bagian kepala (c) dan leher (b); C = morfologi spermatozoa tidak normal pada bagian ekor (d); D = morfologi spermatozoa normal (a) dan tidak normal (b, d)

- Perlakuan : Amfetamin
 Pembesaran lensa : 10x20 (A, B, C) dan 10x10 (D)
 Jenis sediaan : Apus (*smear*)
 Pewarnaan : Safranin – Kristal Violet
 Keterangan : Spermatozoa normal mempunyai bagian kepala dengan ujung akrosom melengkung, leher lurus, dan ekor tunggal berujung bebas.

Hasil penghitungan presentase jumlah spermatozoa dengan morfologi normal dan tidak normal pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 4. Sedangkan data hasil penghitungan presentase rata-rata jumlah spermatozoa dengan morfologi normal dan tidak normal pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Prosentase rata-rata jumlah spermatozoa normal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	Besar dosis (mg/kg)			
	0	1	2	4
1 x 1 hari	77	64	42	40
	78	67	47	34
	76	58	52	38
	78	69	52	30
2 x 1 minggu	86	77	58	52
	86	77	67	55
	87	76	66	56
	82	76	67	60



Gambar 5. 16 Histogram rata-rata jumlah spermatozoa normal (%) setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = 0 mg/kg; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2 mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

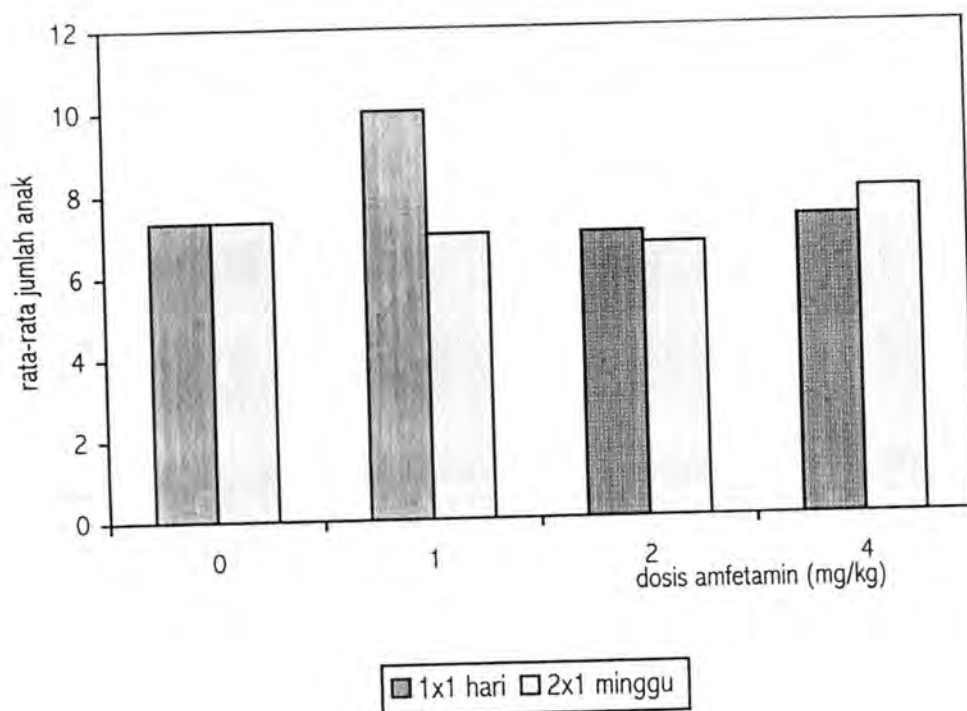
Rata-rata jumlah spermatozoa dengan morfologi normal mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis dan frekuensi pemberian amfetamin. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian amfetamin semakin kecil jumlah spermatozoa dengan morfologi normalnya (gambar 5.16).

5.1.6 Jumlah anak

Anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya dari setiap 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 sampai melahirkan anaknya. Hasil penghitungan jumlah anak pada tikus betina pasangannya disajikan pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	Besar dosis (mg/kg)			
	0	1	2	4
1 x 1 hari	8	9	7	5
	6	11	7	7
	8	9	9	6
2 x 1 minggu	8	7	6	8
	8	7	8	9
	8	6	7	6



Gambar 5.17 Histogram rata-rata jumlah anak (A) dan rata-rata berat badan anak (B) setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = 0 mg/kg; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2 mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

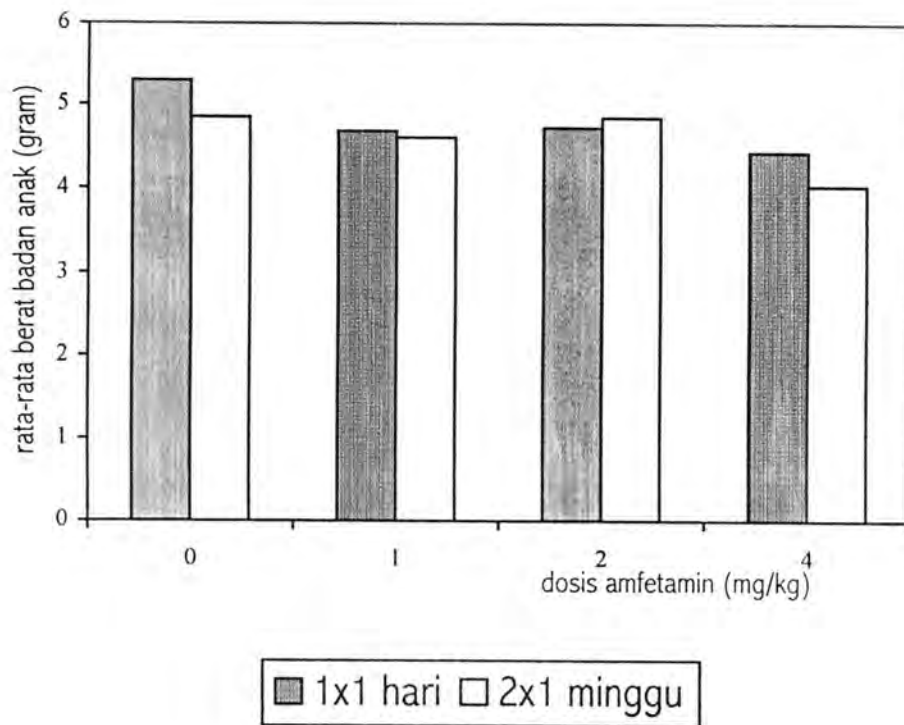
Rata-rata jumlah anak pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan mengalami perubahan tetapi tidak berbeda secara bermakna setelah pemberian amfetamin walaupun pada dosis 1 mg/kg dengan frekuensi pemberian 1x1 hari terdapat peningkatan (gambar 5.17).

5.1.7 Berat badan anak

Setelah dilakukan penghitungan terhadap anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya, kemudian dilakukan penimbangan terhadap berat badan anak pada masing-masing kelompok, selanjutnya dihitung rata-rata dari berat badan anak tersebut dan hasil penghitungan rata-ratanya disajikan pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Rata-rata berat badan anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram)

Kelompok perlakuan	Besar dosis (mg/kg)			
	0	1	2	4
1 x 1 hari	5,32	4,95	4,88	4,57
	5,19	4,41	4,94	4,31
	5,36	4,36	4,44	4,56
2 x 1 minggu	5,17	4,17	5,15	3,58
	4,80	4,60	4,57	4,10
	5,35	4,81	4,45	4,30



Gambar 5.18 Histogram rata-rata berat badan anak setelah pemberian amfetamin. Dosis amfetamin : 1 = 0 mg/kg; 2 = 1 mg/kg; 3 = 2 mg/kg; 4 = 4 mg/kg. Frekuensi pemberian amfetamin : 1x1 hari dan 2x1 minggu

Rata-rata berat badan anak mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis dan frekuensi pemberian amfetamin. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian amfetamin semakin menurun berat badan anaknya (gambar 5.18).

5.2 ANALISIS DATA PENELITIAN

5.2.1 Diameter tubulus seminiferus

Dari tabel 5.1 dapat diketahui bahwa diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol lebih besar dari pada kelompok perlakuan. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian obat (amfetamin) yang diberikan semakin kecil diameter tubulus seminiferusnya.

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna, dilakukan analisis varian dua arah. Sebelum diuji, data ditransformasi dalam \sqrt{y} (akar) untuk mendapatkan normalitas datanya. Hasil analisis varian dua arah dari diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 5. Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap diameter tubulus seminiferus

Sumber	SS	DF	MS	F	P
Dosis	4,112	3	1,371	62,667	0,000
Frekuensi	0,080	1	0,080	3,657	0,68
Interaksi	0,182	3	0,061	2,781	0,063

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) terdapat perbedaan yang bermakna pada dosis obat yang berbeda,

- (b) tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi pemberian,
 (c) tidak terdapat interaksi secara bermakna antara dosis dan frekuensi pemberian obat.

Untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan pada dosis obat yang berbeda, maka dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD diameter tubulus seminiferus pada masing-masing kelompok dengan dosis yang berbeda disajikan pada lampiran 6. Rangkuman hasil uji LSD tersebut dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Rangkuman hasil uji LSD diameter tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Pasangan kelompok penelitian	Kesimpulan
Kelompok kontrol – Kelompok perlakuan I	Bermakna
Kelompok kontrol – Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok kontrol – Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan II - Kelompok perlakuan III	Bermakna

Keterangan : Grup 1 = kelompok kontrol

Grup 2 = kelompok perlakuan I (1 mg/kg amfetamin)

Grup 3 = kelompok perlakuan II (2 mg/kg amfetamin)

Grup 4 = kelompok perlakuan III (4 mg/kg amfetamin)

Dari hasil uji dapat diinformasikan bahwa terdapat perbedaan rata-rata besar diameter tubulus seminiferus secara bermakna pada masing-masing kelompok penelitian (tabel 5.9).

5.2.2 Tebal epitel tubulus seminiferus

Dari tabel 5.2 dapat diketahui bahwa tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok kontrol lebih besar dari pada kelompok perlakuan. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian obat yang diberikan semakin tipis ketebalan epitel tubulus seminiferus.

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna, maka data diuji dengan analisis varian dua arah. Hasil analisis varian dua arah dari tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 7. Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya dapat dilihat pada tabel 5.10.

Tabel 5.10 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap tebal epitel tubulus seminiferus

Sumber	SS	DF	MS	F	P
Dosis	1062,375	3	354,125	81,835	0,000
Frekuensi	15,125	1	15,125	107,582	0,042
Interaksi	7,375	3	2,458	4,595	0,535

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) terdapat perbedaan yang bermakna pada dosis obat yang berbeda,
- (b) terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi pemberian obat,

(c) tidak terdapat interaksi secara bermakna antara dosis dan frekuensi pemberian obat.

Untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing kelompok penelitian pada dosis yang berbeda, dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD nya disajikan pada lampiran 8. Rangkuman dari hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.11.

Tabel 5.11 Rangkuman hasil uji LSD tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Pasangan kelompok penelitian	Kesimpulan
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan I	Bermakna
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan II - Kelompok perlakuan III	Bermakna

Keterangan : Kelompok kontrol = Grup 1

Kelompok perlakuan I (1 mg/kg amfetamin) = Grup 2

Kelompok perlakuan II (2 mg/kg amfetamin) = Grup 3

Kelompok perlakuan III (4 mg/kg amfetamin) = Grup 4

Dari hasil uji LSD dapat diinformasikan bahwa terdapat perbedaan rata-rata tebal epitel tubulus seminiferus yang bermakna pada masing-masing kelompok penelitian (tabel 5.11).

5.2.3 Jumlah spermatozoid

Dari tabel 5.3 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah spermatozoid pada kelompok kontrol lebih banyak dari pada kelompok perlakuan. Semakin besar dosis yang diberikan semakin sedikit jumlah spermatozoidnya.

Untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah spermatozoid yang bermakna, maka data tersebut diuji dengan analisis varian dua arah. Hasil analisis varian dua arah dari jumlah spermatozoid pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 9. Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya dapat dilihat pada tabel 5.12.

Tabel 5.12 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap jumlah spermatozoid dalam tubulus seminiferus

Sumber	SS	DF	MS	F	P
Dosis	3018,375	3	1006,125	152,803	0,000
Frekuensi	36,125	1	36,125	5,522	0,027
Interaksi	242,375	3	80,792	12,350	0,000

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) terdapat perbedaan yang bermakna pada dosis yang berbeda,
- (b) terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi pemberian yang berbeda,
- (c) terdapat interaksi secara bermakna pada dosis dan frekuensi pemberian obat.

Untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing perlakuan pada dosis yang berbeda, maka data tersebut dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD nya disajikan pada lampiran 10. Rangkuman dari hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.13.

Tabel 5.13 Rangkuman hasil uji LSD jumlah spermatisit pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Pasangan kelompok penelitian	Kesimpulan
Kelompok kontrol – Kelompok perlakuan I	Bermakna
Kelompok kontrol – Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok kontrol – Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan I – Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok perlakuan I – Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan II – Kelompok perlakuan III	Bermakna

Keterangan : Kelompok kontrol = Grup 1

Kelompok perlakuan I (1 mg/kg amfetamin) = Grup 2

Kelompok perlakuan II (2 mg/kg amfetamin) = Grup 3

Kelompok perlakuan III (4 mg/kg amfetamin) = Grup 4

Dari hasil uji LSD dapat diinformasikan bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah spermatisit yang bermakna pada masing-masing kelompok penelitian (tabel 5.13).

5.2.4 Berat testis kanan dan kiri

Hasil analisis varian dua arah dari berat testis kanan dan kiri disajikan pada lampiran 11 dan 12). Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya dapat dilihat pada tabel 5.14.

Tabel 5.14 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap berat testis tikus kanan dan kiri

Testis	Sumber	SS	DF	MS	F	P
Kanan	Dosis	0,070	3	0,023	1,161	0,345
	Frekuensi	0,064	1	0,021	2,080	0,162
	Interaksi	0,039	3	0,039	0,255	0,893
Kiri	Dosis	0,028	3	0,090	0,987	0,415
	Frekuensi	0,017	1	0,009	1,816	0,190
	Interaksi	0,027	3	0,010	0,950	0,432

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) pada testis kanan, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok perlakuannya,
- (b) pada testis kiri, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok perlakuannya.

5.2.5 Jumlah spermatozoa normal

Dari tabel 5.5 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah spermatozoa normal pada kelompok kontrol lebih besar dari pada kelompok perlakuan. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberian semakin kecil jumlah spermatozoa yang normal.

Untuk mengetahui adanya perbedaan rata-rata jumlah spermatozoa yang normal pada masing-masing kelompok, maka data tersebut diuji dengan analisis varian dua arah. Sebelum diuji, data ditransformasi dalam \sqrt{y} (akar) hal ini dilakukan untuk mendapatkan normalitas datanya. Hasil analisis varian dua arahnya disajikan pada lampiran 13. Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya disajikan pada tabel 5.15.

Tabel 5.15 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap jumlah spermatozoa dengan morfologi normal

Sumber	SS	DF	MS	F	P
Dosis	23,144	3	7,715	121,809	0,000
Frekuensi	7,801	1	7,801	123,178	0,000
Interaksi	0,964	3	0,321	5,072	0,007

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) terdapat perbedaan yang bermakna pada dosis yang berbeda,
- (b) terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi pemberian obat,

(c) terdapat interaksi secara bermakna antara dosis dan frekuensi pemberian obat.

Untuk mengetahui letak perbedaan antara masing-masing kelompok pada dosis yang berbeda, dilakukan uji LSD. Hasil uji LSD disajikan pada lampiran 14. Rangkuman dari hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.16.

Tabel 5.16 Rangkuman hasil uji LSD jumlah spermatozoa pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Pasangan kelompok penelitian	Kesimpulan
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan I	Tidak bermakna
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan II - Kelompok perlakuan III	Bermakna

Keterangan : Kelompok kontrol = Grup 1
 Kelompok perlakuan I (1 mg/kg amfetamin) = Grup 2
 Kelompok perlakuan II (2 mg/kg amfetamin) = Grup 3
 Kelompok perlakuan III (4 mg/kg amfetamin) = Grup 4

Dari hasil uji LSD dapat diinformasikan bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah spermatozoa normal yang bermakna pada masing-masing kelompok penelitian, kecuali antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan I (tabel 5.16).

5.2.6 Jumlah anak

Dari tabel 5.6 dapat diketahui bahwa jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya hampir sama pada masing-masing kelompok. Untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah anak tersebut dilakukan analisis varian dua arah.

Untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah anak tersebut dilakukan analisis varian dua arah. Hasil analisis varian dua arah dari jumlah anak yang dilahirkan pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada lampiran 15. Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya dapat dilihat pada tabel 5.17.

Tabel 5.17 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya

Sumber	SS	DF	MS	F	P
Dosis	6,125	3	2,042	1,195	0,343
Frekuensi	0,375	1	0,375	0,220	0,646
Interaksi	18,125	3	6,042	3,537	0,039

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada dosis yang berbeda,
- (b) tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi pemberian obat,
- (c) terdapat interaksi secara bermakna antara dosis dan frekuensi pemberian obat.

5.2.7 Berat badan anak

Dari tabel 5.7 dapat diketahui bahwa rata-rata dari berat badan anak pada masing-masing kelompok hampir sama. Untuk mengetahui adanya perbedaan berat badan anak, maka data tersebut diuji dengan analisis varian dua arah.

Hasil analisis varian dua arah dari berat badan anak disajikan pada lampiran 16. Sedangkan rangkuman hasil analisis variannya dapat dilihat pada tabel 5.18.

Tabel 5.18 Rangkuman analisis varian dua arah terhadap berat badan anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya

Sumber	SS	DF	MS	F	P
Dosis	2,913	3	0,971	10,348	0,000
Frekuensi	0,209	1	0,209	1,950	0,135
Interaksi	0,201	3	0,047	0,067	0,514

Dari hasil analisis varian dua arah tersebut dapat diinformasikan bahwa :

- (a) terdapat perbedaan yang bermakna pada dosis yang berbeda,
- (b) tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi pemberian obat,
- (c) tidak terdapat interaksi secara bermakna antara dosis dan frekuensi pemberian obat.

Untuk mengetahui letak perbedaan berat badan anak pada masing-masing kelompok pada dosis obat yang berbeda dilakukan uji LSD. Hasil uji LSD tersebut

disajikan pada lampiran 17. Rangkuman dari hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.19.

Tabel 5.19 Rangkuman hasil uji LSD berat badan anak pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Pasangan kelompok penelitian	Kesimpulan
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan I	Bermakna
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan II	Bermakna
Kelompok kontrol - Kelompok perlakuan III	Bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan II	Tidak bermakna
Kelompok perlakuan I - Kelompok perlakuan III	Tidak bermakna
Kelompok perlakuan II - Kelompok perlakuan III	Bermakna

Keterangan : Kelompok kontrol = Grup 1

Kelompok perlakuan I (1 mg/kg amfetamin) = Grup 2

Kelompok perlakuan II (2 mg/kg amfetamin) = Grup 3

Kelompok perlakuan III (4 mg/kg amfetamin) = Grup 4

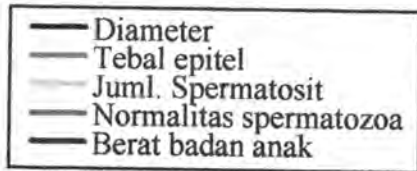
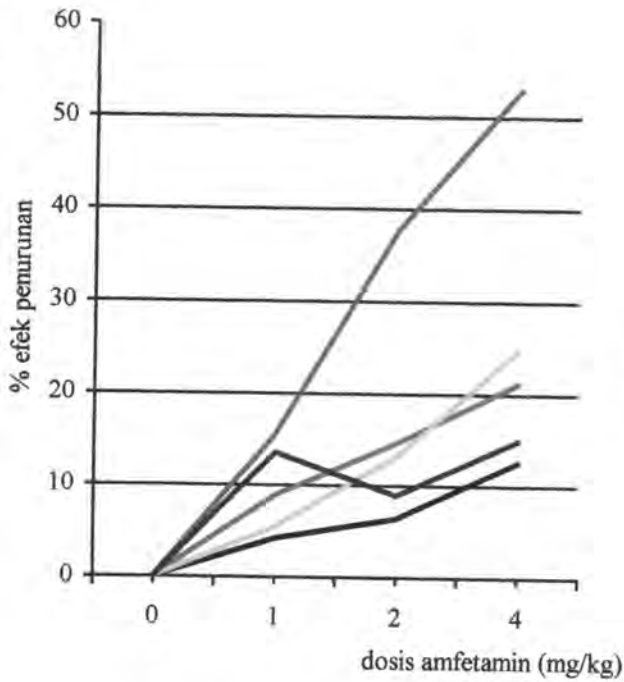
Dari hasil uji LSD dapat diinformasikan bahwa terdapat perbedaan rata-rata berat badan anak yang bermakna pada masing-masing kelompok penelitian, kecuali antara kelompok perlakuan I dengan kelompok perlakuan II, dan kelompok perlakuan I dengan kelompok perlakuan III (tabel 5.19).

Persentase efek penurunan diukur karena dari hasil perhitungannya dapat diketahui ada-tidaknya hubungan antara besar dosis dan frekuensi pemberian amfetamin terhadap efek yang ditimbulkannya. Perhitungannya dilakukan dengan cara mengurangi rata-rata hasil pengukuran pada kelompok kontrol dengan rata-rata hasil pengukuran pada kelompok perlakuan dibagi rata-rata hasil pengukuran kelompok kontrol dikalikan seratus persen. Peningkatan persentase efek penurunan dapat dicapai apabila rata-rata hasil pengukuran pada kelompok perlakuan lebih kecil dari pada rata-rata pengukuran pada kelompok kontrol. Hasil penelitian yang diperoleh adalah terdapat peningkatan persentase efek penurunan hanya pada diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatosit dan normalitas morfologi spermatozoa, dan berat badan anak baik pada dosis maupun frekuensi pemberian yang berbeda (gambar 5.19).

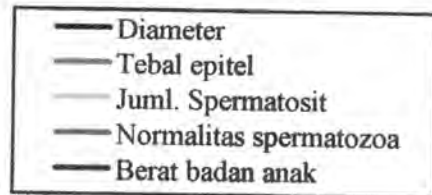
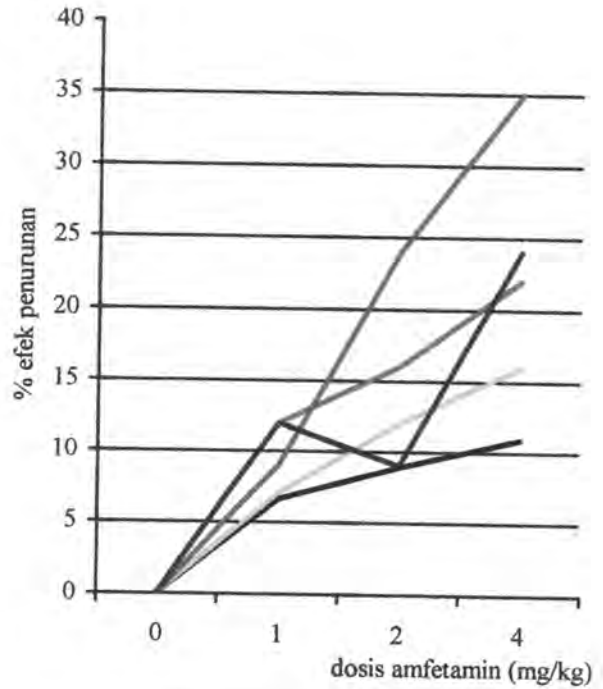
Tabel 5.20 Rangkuman hasil analisis varian dua arah dari semua data penelitian

Data penelitian	Kesimpulan		
	Dosis	Frekuensi	Interaksi
Diameter tubulus	S	NS	NS
Tebal epitel tubulus	S	S	NS
Jumlah spermatosit	S	S	S
Berat testis kanan	NS	NS	NS
Berat testis kiri	NS	NS	NS
Morfologi normal spermatozoa	S	S	S
Jumlah anak	NS	NS	NS
Berat badan anak	S	NS	NS

Keterangan : S = Signifikan (berbeda secara bermakna)
 NS = Non Signifikan (tidak ada perbedaan secara bermakna)



A



B

Gambar 5.19 Kurva dosis dari amfetamin terhadap % efek penurunan diameter tubulus seminiferus, tebal epitel tubulus seminiferus, jumlah spermatisit, normalitas spermatozoa, dan berat badan anak pada pemberian 1x1 hari (A) dan 2x1 minggu (B)

BAB VI

PEMBAHASAN

Amfetamin merupakan obat golongan psikotropika yang dapat mempengaruhi kerja sistem saraf pusat (Katzung, 1996). Adanya perangsangan pada SSP menyebabkan terjadinya penumpukan NE dan DA karena adanya pelepasan dan penghambatan reuptake serta hambatan pengrusakan oleh enzim MAO (Basori, 1997; Kankaanpaa, 1996; Shen, 1995). Adanya peningkatan NE menyebabkan terjadinya vasokonstriksi, apabila terjadi pada pembuluh arteri spermatika dapat menyebabkan terjadinya gangguan suplai oksigen, nutrien, dan mineral, selain itu amfetamin juga dapat merusak pembuluh arteri-vena pada pecandunya (over dosis) (Selmi, 1995). Melalui perangsangan SSP secara sentral, pemberian amfetamin mempunyai efek terjadinya penumpukan DA dalam *cytoplasmic pool*. Peningkatan DA ini menimbulkan inhibitor pada sekresi gonadotropin melalui poros hipotalamus – hipofisis – gonad. Diantara hormon-hormon tersebut adalah FSH, LH, dan prolaktin. FSH dan LH dapat mempengaruhi perkembangan gonad untuk memproduksi hormon seks steroid, sedangkan prolaktin secara tidak langsung juga berperan karena dalam keadaan normal dapat menstimuli sekresi testosteron (Speroff, 1994). Apabila kadar hormon-hormon ini tidak mencukupi kebutuhan sel dan jaringan pada organ reproduksi dapat menyebabkan timbulnya gagal testis. Gagal testis yang ditimbulkan oleh pengaturan FSH dan LH

yang tidak normal dapat berupa gagal testis primer (kadar FSH dan LH tinggi tetapi tidak terjadi kenaikan pada kadar testosteron) dan gagal testis sekunder (kadar FSH dan LH menurun, terjadi kenaikan kadar testosteron tetapi masih di bawah kadar normal) (Adimoelja, 1988; Jennings, 1994). Terganggunya sintesis dan sekresi ke dua hormon tersebut akan berakibat sebagai berikut. Penurunan LH menyebabkan terjadinya penurunan fungsi sel Leydig, sehingga produksi testosteron berkurang. Penurunan testosteron selain mempengaruhi perkembangan spermatogenesis juga perilaku seksual pada tikus dewasa dan diferensiasi seksual pada embrio tikus (Sodersten, 1980; Gogan, 1981). Selain itu sel Leydig mengandung reseptor prolaktin. Apabila fungsi sel Leydig terganggu sampai menjadi atropi maka dapat menurunkan jumlah reseptor prolaktin yang ada pada sel tersebut. Prolaktin dalam keadaan yang normal menstimuli sekresi testosteron, tetapi pada keadaan tidak normal dapat menurunkan sekresi testosteron (Speroff, 1994). Menurut Keenan (1981) pemberian prolaktin pada mencit jantan dapat meningkatkan proliferasi androgen pada vesika seminalis, tetapi tidak pada kelenjar prostat. Penurunan sintesis dan sekresi FSH pada GnRH menyebabkan terjadinya penurunan kadar FSH, dimana FSH berperan mengontrol fungsi sel Sertoli. Selain FSH, sel Sertoli dikontrol oleh testosteron. FSH di dalam sel Sertoli bekerja dengan cara menstimuli sintesis protein yang spesifik, yaitu ABP (Ritzen, 1983; Zhang, 1996). ABP kemudian disekresikan ke luar tubulus seminiferus dan mengikat testosteron yang diubah terlebih dahulu oleh enzim 5α -reduktase menjadi DHT, kemudian mereka

berdifusi masuk ke dalam lumen tubulus seminiferus. Testosteron dalam epitel tubulus seminiferus diperlukan dalam proses spermatogenesis khususnya proses meiosis I yaitu proses pembelahan sel dari sel spermatosit primer menjadi sel spermatosit sekunder, sedangkan DHT dalam epididimis diperlukan dalam proses maturasi (masa pendewasaan) spermatozoa yaitu suatu proses pendewasaan spermatozoa dari yang belum bisa atau sedikit dapat menggerakkan ekornya menjadi spermatozoa yang aktif bergerak (Speroff, 1994). Sehingga adanya penurunan FSH dan LH menyebabkan fungsi sel Sertoli dalam mensintesis ABP dan fungsi sel Leydig dalam mensintesis testosteron terganggu, dan pada akhirnya dapat mengganggu fungsi testis dalam proses spermatogenesis (George, 1996).

Tubulus seminiferus merupakan bagian dari penyusun testis selain jaringan ikat dan pembuluh darah testis. Di dalam tubulus seminiferus diproduksi spermatozoa sebagai hasil pembelahan dari sel epitel germinalis yang berurutan. Sel-sel tersebut membentuk sel-sel baru yang arah perkembangannya menuju ke lumen tubulus seminiferus. Selanjutnya akan terbentuk spermatozoa yang bergerak bebas di lumen tubulus seminiferus (Tienhoven, 1983). Jadi pembelahan dan perkembangbiakan sel berjalan dari perifer ke arah medial menuju ke lumen. Dalam keadaan normal, proses spermatogenesis berjalan seperti biasanya, tetapi dalam keadaan tertentu misalnya dengan pemberian obat yang dapat mempengaruhi proses tersebut maka akan terjadi gangguan pada saat pembelahan atau perkembangan dari sel epitel germinalis sampai menjadi sel spermatozoa. Terganggunya proses

spermatogenesis secara histologi dapat dilihat dari jumlah dan ukuran sel-sel penyusun tubulus seminiferus yang berkurang, terputusnya perkembangan sel pada salah satu tahapan, terjadinya pelepasan sel-sel germinalis. Adanya gangguan ini di antaranya dapat dilihat dari ukuran diameter tubulus seminiferus. Berdasar pada landasan teoritis dan empiris tersebut di atas, pemberian amfetamin menyebabkan terjadinya penurunan sintesis dan sekresi testosteron. Penurunan testosteron di dalam tubulus seminiferus menyebabkan terjadinya gangguan saat meiosis I yaitu terbentuknya sel spermatosit sekunder dari sel spermatosit primer (Suhadi, 1989).

Adanya gangguan pada saat pembelahan ini menyebabkan jumlah sel spermatosit sekundernya menjadi berkurang. Hal ini salah satu yang menyebabkan menurunnya diameter tubulus seminiferus tikus. Semakin besar dosis dan frekuensi pemberiannya semakin kecil diameter tubulus seminiferusnya (tabel 5.1; gambar 5.11). Hal ini terlihat dari hasil analisis varian dua arahnya yang menunjukkan bahwa ada perbedaan diameter tubulus seminiferus yang bermakna pada kelompok penelitian (tabel 5.8; lampiran 6).

Tebal epitel tubulus seminiferus adalah jarak antara lapisan sel epitel germinalis sampai lumen tubulus seminiferus. Demikian halnya dengan tebal epitel tubulus seminiferus juga dipengaruhi oleh pemberian amfetamin. Semakin besar dosis yang diberikan semakin kecil jarak lapisan sel epitel germinalis dengan lumen (tabel 5.2; gambar 5.12). Hal ini terlihat dari hasil analisis varian dua arahnya yang menunjukkan bahwa ada perbedaan tebal epitel tubulus seminiferus yang bermakna

pada kelompok penelitian (tabel 5.10; lampiran 8). Salah satu penyebabnya adalah terjadinya pengurangan sel-sel penyusun tubulus seminiferus yaitu sel spermatosit sekunder.

Perhitungan terhadap jumlah spermatosit dilakukan untuk mengetahui adanya efek atau gangguan pada proses pembelahan (meiosis I) pada proses spermatogenesis karena adanya perlakuan dengan pemberian amfetamin. Spermatosit yang dihitung adalah spermatosit primer dan sekunder, dan hasil penghitungannya menunjukkan bahwa rata-rata jumlah spermatosit dalam tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan mengalami penurunan dibandingkan kelompok kontrol (tabel 5.3; gambar 5.13). Melalui pengujian data dengan analisis varian dua arah dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan jumlah spermatosit secara bermakna diantara kelompok penelitian (tabel 5.12; lampiran 10). Amfetamin melalui perangsangannya terhadap SSP, dapat menurunkan sekresi hormon steroid yang pada akhirnya dapat menurunkan jumlah spermatosit karena ada gangguan pada proses pembelahan selnya.

Berat testis tikus, testis merupakan organ genital yang dapat memproduksi spermatozoa dan hormon seks. Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus, jaringan ikat, dan pembuluh darah. Tubulus seminiferus merupakan bagian penyusun testis yang terbesar (Tienhoven, 1983). Keadaan ini yang menentukan berat testis, bila ada kerusakan, atropi, pengelupasan dan inflamasi pada tubulus seminiferus secara bermakna maka akan mempengaruhi berat testisnya. Hasil pengukuran berat testis

tikus kanan dan kiri menunjukkan terdapat perbedaan berat testis kanan dan kiri pada setiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (tabel 5.4; gambar 5.14), tetapi setelah data diuji dengan analisis varian dua arah, hasilnya tidak terdapat perbedaan berat testis kanan atau kiri secara bermakna pada setiap kelompok penelitian (tabel 5.14; lampiran 12-13). Dengan demikian pemberian amfetamin dengan variasi dosis dan frekuensi pemberian tidak mempengaruhi berat testis kanan dan kiri. Hal ini disebabkan oleh dosis amfetamin yang diberikan (0, 1, 2, dan 4 mg/kg selama 50 hari) tidak merusak sel-sel penyusun tubulus seminiferus sehingga tidak menyebabkan terjadinya atropi sel-sel penyusun tubulus seminiferus. Pada dosis tersebut, amfetamin tidak bersifat toksik pada tubulus semoniferus dan sel penyusunnya, hal ini terlihat pada penampang melintangnya tidak ada kerusakan, inflamasi dan pengelupasan sel pada tubulus seminiferus dan sel penyusunnya, melainkan pengurangan jumlah sel penyusunnya bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (gambar 5.9 dan 5.10). Dengan demikian pemberian amfetamin pada dosis tersebut tidak merusak jaringan penyusun testis sehingga berat testisnya pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol hampir sama.

Morfologi spermatozoa merupakan salah satu parameter penting 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 prosentase

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 hari). Hasil penghitungan spermatozoa pada penelitian ini terdapat perbedaan jumlah normalitas spermatozoa pada setiap kelompok penelitian (tabel 5.5; gambar 5.16). Melalui uji statistik dengan analisis varian dua arah dapat diinformasikan terdapat perbedaan jumlah spermatozoa yang normal secara bermakna pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (tabel 5.15; lampiran 14). 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 (gambar 5.15). 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 mempengaruhi normalitas morfologi spermatozoa. Dari data penelitian yang telah dilakukan, semakin besar dosis dan frekuensi pemberiannya semakin besar jumlah spermatozoa dengan morfologi abnormal. Ketidak-normalan pada morfologi spermatozoa disebabkan karena kekurangan perubahan 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 (Foldesy, 1981). Adanya gangguan pendewasaan inilah salah satu penyebab timbulnya morfologi spermatozoa yang abnormal. Mekanisme filtrasi mukosa serviks terhadap spermatozoa manusia yang morfologinya abnormal, diketahui bahwa kepala spermatozoa yang abnormal mengalami resistensi yang lebih besar dari mukosa serviks sehingga gerakkannya menjadi lebih lambat bila dibandingkan dengan spermatozoa yang morfologinya normal. Ada korelasi positif antara spermatozoa dengan morfologi normal di dalam sperma dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa secara *in vitro* (Jeyendran, 1986). Pemberian amfetamin 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 frekuensi pemberian 1x1 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 normal, tetapi beberapa spermatozoa normal ($\pm 25\%$) diantara yang abnormal ternyata berhasil membuahi sel telur pada tikus betina pasangannya. Selain itu lama pemberian amfetamin dalam penelitian ini (satu siklus spermatogenesis) juga mempengaruhi prosentase normalitas morfologi spermatozoa. Berdasarkan data-data penelitian yang telah dikumpulkan dapat diduga bahwa semakin lama pemberian amfetaminnya (lebih dari dua siklus spermatogenesis) semakin besar menurunkan prosentase normalitas spermatozoa dan pada akhirnya dapat mencapai keadaan yang azoospermia. Apa bila keadaan azoospermia ini tercapai, maka dapat dikatakan bahwa pemberian amfetamin pada dosis dan waktu tertentu dapat mengakibatkan terjadinya infertilitas.

Tikus jantan yang telah diberi perlakuan (kelompok perlakuan) dikawinkan dengan tikus betina dewasa. Selain dari normalitas morfologi spermatozoa, hal ini juga dilakukan untuk menguji fertilitas tikus jantan untuk satu siklus spermatogenesis, kemudian dibandingkan dengan tikus yang tidak diberi amfetamin (kelompok kontrol). Dari hasil penghitungan jumlah anak yang dilahirkan oleh tikus pasangannya (tabel 5.6; gambar 5.17) dapat diinformasikan bahwa ada beda pada

setiap kelompok penelitian, tetapi setelah diuji dengan analisis varian dua arah menunjukkan bahwa pemberian amfetamin pada dosis dan frekuensi pemberian yang berbeda tidak mempengaruhi jumlah anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya (tabel 5.17; lampiran 16). Hal ini disebabkan karena banyak sekali faktor-faktor yang mempengaruhi fertilitas dan kelahiran anaknya, selain dari faktor pejection keadaan tikus betina juga menentukan terjadinya fertilitas. Penelitian ini mengamati terjadinya kesuburan tikus jantan setelah diberi perlakuan amfetamin selama satu siklus spermatogenesis, sehingga kesuburan ini dikenal dengan istilah fekundasi yaitu masa kesuburan selama satu siklus saja sedangkan istilah fertilitas adalah kesuburan selama beberapa siklus atau bahkan sampai tahunan. Karena pasangan suami istri dikatakan fertil bila dalam kurun waktu satu tahun sudah mendapat kehamilan pada istrinya. Kurang-besarnya dosis dan lamanya waktu (hanya satu siklus spermatogenesis) pemberian amfetamin pada tikus jantan juga dapat menyebabkan terjadinya pembuahan antara sel telur dengan spermatozoa. Jadi dapat dikatakan bahwa besarnya dosis dan frekuensi pemberian yang diberikan merupakan dosis sub akut, sehingga masih ada kemungkinan terjadinya pembuahan walaupun pada tikus jantan sudah diberi perlakuan amfetamin dengan dosis tertinggi (4 mg/kg berat badan).

Pemberian amfetamin berpengaruh secara bermakna terhadap berat badan anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya (tabel 5.18; lampiran 17). Hal ini kemungkinan disebabkan karena ada gangguan pada masa perkembangan dan

pertumbuhan embrio yang berasal dari sel telur dan sperma yang kurang baik karena pengaruh amfetamin yang diberikan pada tikus jantannya atau faktor lingkungannya. Pada kelompok kontrol tidak mengalami gangguan pertumbuhan dan perkembangan, sehingga pertumbuhan fetus berjalan lancar sampai kelahirannya dengan berat badan yang normal (4-5 gram) bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil data penelitian dan analisis data penelitian tersebut di atas maka secara umum dapat diinformasikan bahwa semakin besar dosis dan frekuensi pemberian amfetamin semakin besar persentase efek penurunan yang ditimbulkan pada testis tikus jantan (gambar 5.19). Efek penurunan tertinggi yang mengganggu proses spermatogenesis terdapat pada dosis 4 mg/kg dengan pemberian 1x1 hari dari pada dosis 0, 1, dan 2 mg/kg baik pada pemberian 1x1 hari maupun 2x1 minggu. Efek penurunan tidak terjadi pada uji fertilitas, hal ini disebabkan karena kurangnya parameter fertilitas yang diamati, waktu pemaparan amfetamin pada tikus jantan hanya satu siklus spermatogenesis, dan dosis amfetamin yang diberikan merupakan dosis yang sub-akut.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh melalui serangkaian penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Pemberian amfetamin secara sub-kutan pada dosis 0, 1, 2, dan 4 mg/kg (a) berpengaruh terhadap proses spermatogenesis yang ditandai dengan penurunan diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus serta jumlah spermatisit, (b) tidak berpengaruh terhadap fertilitas tikus yang ditandai dengan tidak adanya perbedaan yang bermakna pada jumlah anak walaupun terdapat penurunan pada jumlah normalitas spermatozoa.
2. Pemberian amfetamin secara sub-kutan pada frekuensi pemberian 1x1 hari dan 2x1 minggu (a) berpengaruh terhadap proses spermatogenesis yang ditandai dengan penurunan tebal epitel tubulus seminiferus, (b) tidak berpengaruh terhadap fertilitas tikus yang ditandai dengan tidak adanya perbedaan yang bermakna pada jumlah dan berat badan anak walaupun terdapat penurunan pada jumlah normalitas spermatozoa.

3. Interaksi antara pemberian amfetamin secara sub-kutan pada dosis 0, 1, 2, dan 4 mg/kg dan frekuensi pemberian 1x1 hari dan 2x1 minggu (a) berpengaruh terhadap proses spermatogenesis yang ditandai dengan penurunan jumlah spermatisit walaupun tidak terdapat penurunan yang bermakna pada diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus, (b) tidak berpengaruh terhadap fertilitas tikus yang ditandai dengan tidak adanya perbedaan yang bermakna pada jumlah anak walaupun terdapat penurunan pada jumlah normalitas spermatozoa.
4. Ada hubungan antara peningkatan pemberian amfetamin secara sub-kutan pada dosis 0, 1, 2, dan 4 mg/kg dan waktu pemberian 1x1 hari dan 2x1 minggu dengan peningkatan persentase efek penurunan spermatogenesis yang ditandai dengan peningkatan persentase efek penurunan dari diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus serta jumlah spermatisit, tetapi tidak pada uji fertilitasnya.

7.2 SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka perlu dipertimbangkan

1. Pada penelitian ini faktor fertilitas tidak dipengaruhi oleh amfetamin karena kurangnya waktu pemaparan amfetamin dan dosis yang diberikan. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fertilitas dengan memakai spesies golongan mamalia lainnya dan waktu pemberian yang lebih dari satu siklus spermatogenesis serta dosis yang lebih besar.

2. 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.
3. Amfetamin dapat dipakai sebagai model obat psikotropik yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimoelja, A., 1988, *Infertilitas, hormon seks, dan poros hipotalamus-pituitari-gonad*, Bagian I, Program Pustaka Prodia.
- 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.
- Boschi, G., L. Nicole dan P. Richard, 1993, Involvement of Hydroxylated Metabolites in Amphetamine Induced Hypothermia in Mice, *J. Gen. Pharmac.*, (24), 1, 59-67.
- Brust, M.C.J., 1993, *Substance Abuse*, Butterwort Heinemann, London.
- Camanni, S. dan P. Nencini., 1994, Physiological and Environmental Aspects of Drinking Stimulated by Chronic Exposure to Amphetamine in Rats., *J. Gen Pharmac.*, (25), 1, 7 - 13.
- Capasso, A., *et al.*, 1996, Actinomycin D Blocks the Reducing Effect of Dexamethasone on Amphetamine and Cocaine Hypermotility in Mice, *J. Gen. Pharmac.*, (27), 4, 707-712.
- Carcillo, A. J. *et al.*, 1996, Treatment with the Type IV Phosphodiesterase Inhibitor Ro 20 1724 Protects Renal and Mesenteric Blood Flow in Endotoxemic Rats Treated with Norepinephrine. *J. Pharmac and Ex. Ther.*, (279), 3, 1197-1204.
- Dipalma, R.J., dan G.J. Digregorio, 1989, *Basic Pharmacology in Medicine*, McGRAW HILL Publishing Company, Tokyo.
- Davis, G.G. dan I.S. Christopher, 1996, The Incidence of Acute Cocaine or Methamphetamine Intoxication in Deaths Due to Ruptured Cerebral (Berry) Aneurysms. *J. Forens Ces*, (41), 4, 626 - 628.

- Foldesy, R.G. dan J.H. Leathem, 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.
- Gogan, F. *et al.*, 1981, Importance Of perinatal Testosterone In Sexual Differentiation In The Male Rat, *J. Endocrinology*, (91), 75-79.
- Hamamura, T. dan C.F. Hand , Inhanced Stress Indveed Dipamine Release in The Prefrontal Cortex Afanphetamine Sensitized Rats, *Euopen J. Pharmacology*, (237).
- Hafez, E.S.E., 1993, *Reproduction in farm animal*, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hurd, W.W., *et al.*, 1992, The Effect of Cocaine on Sperm Mortality Characteristics and Bovine Certical Mercus Penetration, *J. Fertility and Sterility*, (57), 1.
- Hart, I.R. dan R.W. Newton , 1983, *Endocinology*, Baltimore University, Park Press.
- Hermanto, B., 1997, Pengaruh Pemberian Amfetamin Sulfat Pada Waktu Latihan Terhadap Hipertrofi Otot Tikus, *Folia Medica Indonesiana*, (33), 10-13.
- Insler, V. dan L. Biwno, 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, Associstion of the in vitro fertilizing capacity of human spermatozoa with sperm morphology by three classification system, *J. Human Reproduction*, (1), 305-308.

- Johnson, M. dan J.E. Barry , 1995, *Essential Reproduction*, Department of Anatomy, University of Cambridge Follow Christ's College, Cambridge.
- Karch, B.S. *et al.*, Myocardial Hypertrophy and Coronary Artery Disease in Male Cocaine User, *J. Forensic Sciences*, (40), 4, 591-595.
- Katzung, G.B., 1996, *Basic and Clinical Pharmacology*, edisi 6, Publishing Division Prentice Hall.
- Keenan, E.J., P.A. Klase dan J.A. Thomas, 1981, Interaction Between prolactin and Androgens in The Accessory Sex Organs of Male Mice, *J. Endocrinology*, (90), 323-330.
- Kohn, D.F., dan W.B. Stephen, Biology and Disease of Rat in *Laboratory Animal Medicine* (edited by : J.G. Fox, B.J. Cohen and F.M. Loew), Orlando : Akademik Press Inc.
- Kretser, 1988, Abnormal sperm morphology and other semen parameter related to the hamster oocytes human semen penetrasi assay, *J. Andrology*, (11), 395-404.
- Labrie, F., *et al.*, 1980, Sex Steroids Interact Units Depanine at The Hypothalamine and Pitnitary Levels to Modulate Prolactin Secretion, *J Steroid Biochemistry*, (12).
- Logan, B.K., E.L.Weiss, dan R.C.Harruff, 1995, Case Report : Distribution of Methamphetamine in a Massive Fatal Ingestion, *J. Forensic Sciences*, (41), 2, 322-323.
- Logan, B.K., 1996, Methamphetamine and Driving Impairment, *J. Forensic Sciences*, (41), 3, 457-464.
- Liu, D.Y. dan Barker H.W.G., 1992, Tests of human sperm function and fertilization in vitro, *J. Fertil Steril*, (58), 485-487.
- Long, C., dan C. Joseph , 1995, Methamphetamine Identification in Four Forensic Cases, *Forensic Toxicology*, (15).
- Lucas, E.C., 1994, A New Look at Dopamine and Norepinephrine for Hyperdynamic Septic Shock, *J. Chest*, (125), 1, 78.

- Maddock, D.H., 1987, *Drug Abuse, a guide for Pharmacist*, Pharmaceutical Press, London.
- Mc Clure, D., 1987, Endocrine Investigation and Therapy³, *J Virology Clinic of North America*, (14), 3.
- Morales, P., *et al.*, 1988, The relation ship between the mortility and morphology of spermatozoa in human semen, *J. Androl*, (9), 241-247.
- Moriya, F. dan Y. Hashimoto, 1996, Postmortem stability of cocaine and cocaethylene in blood and tissues of humans and rabbits, *J. of Forensic Science*, (41), 4, 612-616.
- Nicol, RA., 1995, *Introduction to The Pharmacology of CNS Drug, In: Basic and Clinical Pharmacology*, edited by BG Katzung, Prentice Hall International Inc., USA, 6th edition.
- Pierce, R.C., dan WK. Peter , 1995, Amphetamine Produces Sensitized Increases in locomotion and Extracellular Dopamine Preferentially in the Nucleus Accumbens Shell on Rats Administered Repeated Cocaineine, *J. Pharmac and Exper Therap.* (275), 2, 1019-1029.
- Ritzen, M.E., 1983, Chemical Messengers Between Sertoli Cells and Neighbouring Ceels, *J. Steroid Biochem.*, (19), 1, 499-504.
- Rowe, P.J., *et al.*, 1993, *WHO Manual for The Standardized Diagnosis of The Infertile Couple*, Published on behalf of the Word Health Organization by Cambridge University Pres.
- Selmi, F., K.G. Davis, R.R. Sharma, dan J.W. Neal, 1995, Intracerebral Haemorrhage Due to Amphetamine Abuse : Report of Two Cases With Underlying Arteriovenous Malformation, *J. Neurosurgery*, (9), 93-96.
- Shen, R.Y, J.H. Hannigan, dan L.A. Chiodo, 1995, The Effect of Chronic Amphetamine Treatment on Prenatal Ethanol Induced Changes in Dopamine Receptor Function : Electrophysiological Findings, *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics*, (274), 3, 1054-1060.
- Singarajah, L., 1992, An Overdose of Ecstasy, arole of Dantrolen, *Anesthesia*, (47), 686-687.

- Sodersten. P., *et al.*, 1980, Testosteron In The Control of Rat Sexual Behavior, *J. Steroid Biochemistry*, (12), 337-346.
- Speroff, L., 1994, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, Williams and Wilkins Baltimore.
- Suarez, R.V., dan R. Richard, "Ecstasy" and Sudden Cardiac Death, 1988, *J. Foren Medic and Phato*, (9), 4, 339 -341.
- Suhadi, K., 1989, Pengaruh Regulasi Diabetes Militus Terhadap Profil Spermiogram, Hormon Reproduksi dan Potensi Seks Pria, *Disertasi*, Program Pascasarjana.
- Will, S., 1993, Amphetamine and hallucinogen, *J. The Parmacentical*, (26), 871-874.
- Tienhoven, V.A., 1983, *Physiology of Vertebrates*, Cornell University Press, London.
- Zarrindast, R.M., S.M. Mamanpush dan A.R. Pour, 1994, Morphine Inhibits Dopaminergic and Cholinergic Induced Ejaculation in Rat, *J. Gen. Pharmac*, (25), 4.
- Zhang, H. dan RL. Kevin, 1996, The Effect of Cocaine and Its Metabolites on Sertoli Cell Function, *J Urology*, (155).

Lampiran 1

Diameter tubulus seminiferus dari testis tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada dosis amfetamin yang berbeda (mikron)

Kelompok perlakuan	Diameter tubulus seminiferus
K-1.1	280
	303
	290
	300
	270
K-1.2	295
	275
	298
	278
	285
K-1.3	291
	268
	283
	268
	273
K-1.4	279
	274
	269
	279
	279
P-1.1	268
	260
	263
	280
	258
P-1.2	263
	251
	283
	283
	266

P-1.3	256 248 271 296 261
P-1.4	290 270 280 270 270
P-2.1	237 259 272 267 247
P-2.2	262 257 257 270 267
P-2.3	270 273 270 270 268
P-2.4	273 270 268 255 253
P-3.1	253 245 248 243 243

P-3.2	250
	238
	250
	238
	255
P-3.3	245
	248
	253
	245
	258
P-3.4	248
	248
	241
	243
	236

Diameter tubulus seminiferus dari testis tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada frekuensi pemberian amfetamin yang berbeda (mikron)

Kelompok perlakuan	Diameter tubulus seminiferus
K-2.1	290
	298
	293
	278
	270
K-2.2	298
	290
	258
	280
	280
K-2.3	278
	293
	278
	275
	278

K-2.4	286 264 269 276 271
P-4.1	255 255 263 260 250
P-4.2	261 266 274 271 259
P-4.3	250 258 245 255 275
P-4.4	249 231 239 236 234
P-5.1	243 245 253 255 250
P-5.2	264 261 246 249 259

P-5.3	260 258 273 270 248
P-5.4	273 250 248 245 250
P-6.1	256 251 246 241 249
P-6.2	248 250 250 253 245
P-6.3	258 248 253 238 245
P-6.4	248 253 248 250 260

Lampiran 2

Tebal epitel tubulus seminiferus dari testis tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada dosis amfetamin yang berbeda (mikron)

Kelompok perlakuan	Tebal epitel tubulus seminiferus
K-1.1	84
	84
	74
	64
	86
K-1.2	70
	65
	80
	70
	70
K-1.3	76
	71
	71
	67
	74
K-1.4	74
	64
	71
	74
	76
P-1.1	68
	65
	63
	60
	75
P-1.2	60
	70
	75
	65
	68

P-1.3	70 70 65 60 68
P-1.4	63 60 63 65 63
P-2.1	66 59 66 61 59
P-2.2	70 67 65 67 65
P-2.3	60 63 58 65 58
P-2.4	68 65 58 63 70
P-3.1	63 55 63 50 53

P-3.2	59
	64
	57
	59
	62
P-3.3	60
	58
	55
	60
	55
P-3.4	68
	52
	60
	55
	52

Tebal epitel tubulus seminiferus dari testis tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada frekuensi pemberian amfetamin yang berbeda (mikron)

Kelompok perlakuan	Tebal epitel tubulus seminiferus
K-2.1	83
	78
	70
	70
	65
K-2.2	70
	73
	75
	78
	80
K-2.3	80
	73
	68

K-2.4	70 65 80 70 67 75 72
P-4.1	65 63 65 63 68
P-4.2	60 63 65 68
P-4.3	63 60 63 65 68
P-4.4	65 63 60 63 65 63
P-5.1	65 60 62 65
P-5.2	60 62 60 60 62 65

P-5.3	65 60 55 60 58
P-5.4	63 58 60 60 58
P-6.1	58 60 58 60 53
P-6.2	53 53 58 55 58
P-6.3	58 53 55 58 60
P-6.4	58 58 60 58 55

Lampiran 3

Jumlah spermatisit dari testis tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan dosis amfetamin yang berbeda

Kelompok perlakuan	Jumlah spermatisit
K-1.1	124
	127
	134
	126
	129
K-1.2	138
	138
	135
	125
K-1.3	127
	137
	132
	122
K-1.4	132
	130
	125
	138
	130
P-1.1	126
	128
	130
	130
	132
P-1.2	111
	116
	127
	134
	119



P-1.3	116 130 112 116 121 125 117
P-1.4	118 123 117 129 133
P-2.1	102 110 110 105 103
P-2.2	115 114 108 105 117
P-2.3	107 119 117 114
P-2.4	115 114 100 116 125 121
P-3.1	111 102 96 107 112

P-3.2	115
	109
	87
	93
	89
P-3.3	89
	96
	92
	102
P-3.4	111
	113
	95
	89
	103
	90

Jumlah spermatis dari testis tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan frekuensi pemberian amfetamin yang berbeda

Kelompok perlakuan	Jumlah spermatis
K-2.1	138
	140
	123
	124
	120
K-2.2	132
	128
	135
	120
K-2.3	117
	140
	136
	133

K-2.4	110 125 125 123 128 147 133
P-4.1	127 117 124 115 118
P-4.2	128 121 124 123 117
P-4.3	136 125 115 117 118
P-4.4	112 111 120 114 105
P-5.1	120 115 118 115 119
P-5.2	112 113 109 113 108

P-5.3	115 109 117 118 122
P-5.4	104 112 107 112 116
P-6.1	108 105 110 115 109
P-6.2	111 108 112 105 109
P-6.3	114 108 110 104 107
P-6.4	106 111 105 106 108

Lampiran 4

**Prosentase jumlah spermatozoa yang normal dan tidak normal
pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan dosis
amfetamin yang berbeda**

Kelompok perlakuan	Replikasi	Sperma normal	Sperma tidak normal			
			Kepala	Leher	ekor	Total
K-1.1	1	77	-	3	20	23
	2	78	-	2	21	23
	3	78	-	2	20	22
K-1.2	1	80	-	-	20	20
	2	81	-	3	16	19
	3	72	-	2	26	28
K-1.3	1	78	-	-	22	22
	2	80	-	-	20	20
	3	72	2	4	22	28
K-1.4	1	73	-	3	24	27
	2	81	-	3	16	19
	3	80	-	2	18	20
P-1.1	1	63	-	3	34	37
	2	62	-	5	33	38
	3	67	-	3	30	33
P-1.2	1	70	-	2	28	30
	2	69	-	2	29	31
	3	61	-	-	39	39
P-1.3	1	57	-	4	39	43
	2	59	-	4	37	41
	3	57	-	5	38	43
P-1.4	1	70	-	1	29	30
	2	68	-	5	27	32
	3	70	-	3	27	30

P-2.1	1	42	-	3	55	58
	2	40	-	3	57	60
	3	44	1	6	50	56
P-2.2	1	45	-	5	50	55
	2	46	-	2	54	56
	3	50	-	2	48	50
P-2.3	1	54	-	4	42	46
	2	53	-	-	47	47
	3	50	-	3	47	50
P-2.4	1	47	-	3	50	53
	2	56	-	-	44	44
	3	54	-	-	46	46
P-3.1	1	42	-	3	55	58
	2	37	-	2	61	63
	3	41	-	2	57	59
P-3.2	1	41	-	3	56	68
	2	32	-	3	65	72
	3	28	-	3	69	60
P-3.3	1	40	-	-	60	63
	2	37	-	-	63	65
	3	35	-	2	63	75
P-3.4	1	29	-	2	69	71
	2	37	-	1	62	63
	3	25	-	1	74	75

Prosentase jumlah spermatozoa yang normal dan tidak normal pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan frekuensi pemberian amfetamin yang berbeda

Kelompok perlakuan	Replikasi	Sperma normal	Sperma tidak normal			Total
			Kepala	Leher	ekor	
K-2.1	1	88	1	1	10	12
	2	86	-	2	12	14
	3	85	-	1	14	15



K-2.2	1	86	-	2	12	14
	2	85	-	2	13	15
	3	89	-	-	11	11
K-2.3	1	88	-	3	9	12
	2	88	-	-	12	12
	3	86	-	2	12	14
K-2.4	1	89	-	4	7	11
	2	84	-	3	13	16
	3	88	-	2	10	12
P-4.1	1	82	-	3	15	18
	2	84	-	-	16	16
	3	75	-	-	25	25
P-4.2	1	75	-	2	23	25
	2	76	-	-	24	24
	3	81	-	-	19	19
P-4.3	1	75	-	-	25	25
	2	76	-	4	20	24
	3	77	-	-	23	23
P-4.4	1	77	-	1	22	23
	2	75	-	-	25	25
	3	76	-	4	20	24
P-5.1	1	58	-	3	39	42
	2	59	-	2	39	41
	3	56	-	-	44	44
P-5.2	1	68	-	1	31	32
	2	68	-	3	29	32
	3	64	-	3	33	36
P-5.3	1	59	-	-	41	41
	2	64	-	-	36	36
	3	74	-	1	25	26
P-5.4	1	62	-	-	38	38
	2	67	-	-	33	33
	3	72	-	2	26	28

P-6.1	1	57	-	2	41	43
	2	59	-	2	39	41
	3	70	-	-	30	30
P-6.2	1	52	-	-	48	48
	2	56	-	-	44	44
	3	58	-	3	39	42
P-6.3	1	60	1	2	38	40
	2	57	-	5	38	43
	3	51	-	-	49	49
P-6.4	1	60	-	-	40	40
	2	59	-	-	41	41
	3	60	-	-	40	40

Lampiran 5

Berat testis tikus kiri dan kanan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (gram)

Kelompok perlakuan	Besarnya dosis (mg/kg)	Berat testis (gram)	
		Kanan	Kiri
1 x 1 hari	0	1,25	1,23
		1,05	1,08
		1,21	1,21
		1,15	1,12
	1	1,12	1,17
		1,17	1,14
		1,22	1,23
		1,20	1,18
	2	1,20	1,24
		1,24	1,15
		1,21	1,23
		1,30	1,20
	4	1,50	1,04
		1,04	1,05
		1,34	1,36
		1,18	1,16
2 x 1 minggu	0	1,30	1,31
		1,16	1,17
		0,95	1,06
		0,97	0,99
	1	1,30	1,03
		1,16	1,17
		0,94	0,96
		0,97	0,99
	2	1,39	1,20
		0,99	1,02
		1,26	1,20
		1,27	1,29
	4	1,02	1,10
		1,29	1,23
		1,14	1,12
		1,16	1,21

Lampiran 6

Basil analisis varian dua arah dari diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (dengan program SPSS MS WINDOWS)

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

DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS TESTIS TIKUS JANTAN
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

UNIQUE sums of squares
All effects entered simultaneously

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	4.192	4	1.048	47.914	.000
DOSIS	4.112	3	1.371	62.667	.000
FREKUENS	.080	1	.080	3.657	.068
2-way Interactions	.182	3	.061	2.781	.063
DOSIS FREKUENS	.182	3	.061	2.781	.063
Explained	4.375	7	.625	28.571	.000
Residual	.525	24	.022		
Total	4.900	31	.158		

Lampiran 7

Basil uji LSD dari diameter tubulus seminiferus pada dosis amfetamin yang berbeda

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

Variable DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS TESTIS TIKUS JANTAN
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	4.1125	1.3708	48.7407	.0000
Within Groups	28	.7875	.0281		
Total	31	4.9000			

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

Variable DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS TESTIS TIKUS JANTAN
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05
The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq .1186 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
with the following value(s) for RANGE: 2.90

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

G G G G
r r r r
P P P P
4 3 2 1

Mean	DOSIS
15.7625	Grp 4
16.0875	Grp 3
16.3000	Grp 2
16.7500	Grp 1

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

Subset 1		Subset 2	
Group	Grp 4	Group	Grp 3
Mean	15.7625	Mean	16.0875
-----		-----	
Subset 3		Subset 4	
Group	Grp 2	Group	Grp 1
Mean	16.3000	Mean	16.7500

Lampiran 8

Hasil analisis varian dua arah dari tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (dengan program SPSS MS WINDOWS)

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

TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS

by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

EXPERIMENTAL sums of squares
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	1077.500	4	269.375	81.835	.000
DOSIS	1062.375	3	354.125	107.582	.000
FREKUENS	15.125	1	15.125	4.595	.042
2-Way Interactions	7.375	3	2.458	.747	.535
DOSIS FREKUENS	7.375	3	2.458	.747	.535
Explained	1084.875	7	154.982	47.083	.000
Residual	79.000	24	3.292		
Total	1163.875	31	37.544		

Lampiran 9

Hasil uji LSD dari tebal epitel tubulus seminiferus pada dosis amfetamin yang berbeda

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

Variable Tebal epitel tubulus seminiferus
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	1062.3750	354.1250	97.6897	.0000
Within Groups	28	101.5000	3.6250		
Total	31	1163.8750			

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

Variable Tebal epitel tubulus seminiferus
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05
The difference between two means is significant if
MEAN(J)-MEAN(I) >= 1.3463 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))
with the following value(s) for RANGE: 2.90

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

		G G G G
		r r r r
		p p p p
		4 3 2 1
Mean	DOSIS	
57.3750	Grp 4	
61.8750	Grp 3	*
65.3750	Grp 2	* *
73.1250	Grp 1	* * *

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

Subset 1		Subset 2	
Group	Grp 4	Group	Grp 3
Mean	57.3750	Mean	61.8750
Subset 3		Subset 4	
Group	Grp 2	Group	Grp 1
Mean	65.3750	Mean	73.1250

Lampiran 10

Hasil analisis varian dua arah dari jumlah spermatosit pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (dengan program SPSS MS WINDOWS)

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

JUMLAH SPERMATOSIT DALAM TUBULUS SEMINIFERUS
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

EXPERIMENTAL sums of squares
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	3054.500	4	763.625	116.732	.000
DOSIS	3018.375	3	1006.125	153.803	.000
FREKUENS	36.125	1	36.125	5.522	.027
2-Way Interactions	242.375	3	80.792	12.350	.000
DOSIS FREKUENS	242.375	3	80.792	12.350	.000
Explained	3296.875	7	470.982	71.997	.000
Residual	157.000	24	6.542		
Total	3453.875	31	111.415		

Lampiran 11

Hasil uji LSD dari jumlah spermatozoid pada dosis amfetamin yang berbeda

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

Variable JUMLAH SPERMATOSIT
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	3018.3750	1006.1250	64.6877	.0000
Within Groups	28	435.5000	15.5536		
Total	31	3453.8750			

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

Variable JUMLAH SPERMATOSIT
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$MEAN(J) - MEAN(I) \geq 2.7887 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$

with the following value(s) for RANGE: 2.90

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

G G G G
r r r r
p p p p
4 3 2 1

Mean	DOSIS
102.8750	Grp 4
112.8750	Grp 3
120.8750	Grp 2
129.1250	Grp 1

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

Subset 1		Subser 2	
Group	Grp 4	Group	Grp
Mean	102.8750	Mean	102.8750

Subset 3		Subset 4	
Group	Grp 2	Group	Grp
Mean	120.8750	Mean	120.1250

Lampiran 12

Hasil analisis varian dua arah dari berat testis kanan
pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol
(dengan program SPSS MS WINDOWS)

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

BERAT TESTIS KANAN TIKUS
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

EXPERIMENTAL sums of squares
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	.103	4	.026	1.391	.267
DOSIS	.064	3	.021	1.161	.345
FREKUENS	.039	1	.039	2.080	.162
2-Way Interactions	.011	3	.004	.203	.893
DOSIS FREKUENS	.011	3	.004	.203	.893
Explained	.114	7	.016	.882	.535
Residual	.444	24	.019		
Total	.559	31	.018		

lampiran 13

Hasil analisis varian dua arah dari berat testis kiri
pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol
(dengan program SPSS MS WINDOWS)

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

BERAT TESTIS KIRI TIKUS
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

EXPERIMENTAL sums of squares
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	.045	4	.011	1.194	.339
DOSIS	.028	3	.009	.987	.415
FREKUENS	.017	1	.017	1.816	.190
2-Way Interactions	.027	3	.009	.950	.432
DOSIS FREKUENS	.027	3	.009	.950	.432
Explained	.072	7	.010	1.090	.401
Residual	.226	24	.009		
Total	.298	31	.010		

Lampiran 14

Hasil analisis varian dua arah dari jumlah spermatozoa dengan morfologi normal pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (dengan program SPSS MS WINDOWS)

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

Jumlah spermatozoa dengan morfologi normal
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

EXPERIMENTAL sums of squares
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	30.945	4	7.736	122.151	.000
DOSIS	23.144	3	7.715	121.809	.000
FREKUENS	7.801	1	7.801	123.178	.000
2-Way Interactions	.964	3	.321	5.072	.007
DOSIS FREKUENS	.964	3	.321	5.072	.007
Explained	31.909	7	4.558	71.975	.000
Residual	1.520	24	.063		
Total	33.429	31	1.078		



Lampiran 15

Hasil uji LSD dari jumlah spermatozoa dengan morfologi normal pada dosis yang berbeda

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

Variable JUMLAH SPERMATOZOA DENGAN MORFOLOGI NORMAL
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	23.1438	7.7146	21.0023	.0000
Within Groups	28	10.2850	.3673		
Total	31	33.4288			

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

Variable Jumlah spermatozoa dengan morfologi normal
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05
The difference between two means is significant if
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq .4286 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$
with the following value(s) for RANGE: 2.90

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

		G G G G
		r r r r
		p p p p
		4 3 2 1
Mean	DOSIS	
6.7000	Grp 4	
7.4750	Grp 3	*
8.3750	Grp 2	* *
8.9250	Grp 1	* *

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

Subset 1		
Group	Grp 4	
Mean	6.7000	

Subset 2		
Group	Grp 3	
Mean	7.4750	

Subset 3		
Group	Grp 2	Grp 1
Mean	8.3750	8.9250

Lampiran 16

Hasil analisis varian dua arah dari jumlah anak yang dilahirkan induk pasangannya pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (dengan program SPSS MS WINDOWS)

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

JUMLAH ANAK YANG DILAHIRKAN INDUK PASANGANNYA
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

UNIQUE sums of squares
All effects entered simultaneously

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	6.500	4	1.625	.951	.460
DOSIS	6.125	3	2.042	1.195	.343
FREKUENS	.375	1	.375	.220	.646
2-Way Interactions	18.125	3	6.042	3.537	.039
DOSIS FREKUENS	18.125	3	6.042	3.537	.039
Explained	24.625	7	3.518	2.059	.110
Residual	27.333	16	1.708		
Total	51.958	23	2.259		

Lampiran 17

Hasil analisis varian dua arah dari berat badan anak yang dilahirkan induk pasangannya pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (dengan program SPSS MS WINDOWS)

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

BERAT BADAN ANAK YANG DILAHIRKAN INDUK PASANGANNYA
by DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
FREKUENS : 1x1 hari dan 2x1 minggu

EXPERIMENTAL sums of squares
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	3.122	4	.781	9.258	.000
DOSIS	2.913	3	.971	11.517	.000
FREKUENS	.209	1	.209	2.480	.135
2-Way Interactions	.201	3	.067	.796	.514
DOSIS FREKUENS	.201	3	.067	.796	.514
Explained	3.323	7	.475	5.631	.002
Residual	1.349	16	.084		
Total	4.672	23	.203		

Lampiran 18

Hasil uji LSD dari berat badan anak yang dilahirkan oleh induk pasangannya pada dosis amfetamin yang berbeda

----- ONEWAY -----

Variable BERAT BADAN ANAK
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	2.9131	.9710	11.0388	.0002
Within Groups	20	1.7593	.0880		
Total	23	4.6724			

----- ONEWAY -----

Variable BERAT BADAN ANAK
By Variable DOSIS : 0, 1, 2, dan 4 mg/kg Amfetamin
Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05
The difference between two means is significant if
MEAN(J)-MEAN(I) >= .2097 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))
with the following value(s) for RANGE: 2.95
(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G
		r r r r
		p p p p
		4 2 3 1
Mean	DOSIS	
4.2367	Grp 4	
4.5500	Grp 2	
4.7383	Grp 3	*
5.1983	Grp 1	* * *

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

Subset 1		
Group	Grp 4	Grp 2
Mean	4.2367	4.5500

Subset 2		
Group	Grp 2	Grp 3
Mean	4.5500	4.7383

Subset 3		
Group	Grp 1	
Mean	5.1983	

Lampiran 19

CARA MEMBUAT SEDIAAN MIKROANATOMI TESTIS (METODE PARAFIN)

A. FIKSASI

Testis setelah dipotong, difiksasi selama kurang lebih 1-4 jam di dalam larutan bouin. Kemudian testis diiris menggunakan silet tipis tajam, kemudian fiksasi dilanjutkan.

B. DEHIDRASI

Dehidrasi dilakukan dengan jalan mencuci testis yang telah difiksasi dengan alkohol bertingkat berturut-turut 70% (2 jam), 80% (1 jam), 90% (1 jam), 96% (30 menit), dan alkohol absolut (30 menit).

C. CLEARING

Clearing adalah proses penjernihan sediaan. Untuk keperluan ini potongan testis dapat direndam dalam xylol sampai semalam (*overnight*)

D. INFILTRASI

Infiltrasi adalah proses menyusupkan parafin ke dalam jaringan, dilakukan dengan merendam potongan testis ke dalam campuran xylol : parafin berturut-turut dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, dan yang terakhir dalam parafin murni pada suhu 55⁰ C. Tiap tahapan dilakukan selama 1 jam.

E. EMBEDDING

Embedding dilakukan dengan jalan menanam potongan testis ke dalam parafin cair dan kemudian membiarkannya membeku membentuk blok yang mudah diiris dengan mikrotome.

F. PENGIRISAN DAN PENEMPELAN

Blok parafin yang mengandung potongan testis diiris setebal 4 μ m. Irisan yang bagus kemudian ditempelkan pada gelas obyek yang sudah diolesi perekat Meyer's albumin, ditetesi dengan aquades kemudian diletakkan di atas *hot plate*.

G. PEWARNAAN DAN PENUTUPAN SEDIAAN

Irisan testis yang akan diwarnai dengan Hematoxyline-Eosine diperlakukan dengan proses berturut-turut sebagai berikut.

- (1) Deparafinisasi, gelas obyek berisi irisan testis dicelupkan di dalam xylol dua kali, masing-masing selama 10 menit.

- (2) Dipindahkan ke dalam alkohol dengan konsentrasi menurut mulai dari alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, dan yang terakhir air.
- (3) Dipindahkan ke dalam pewarna Harris Hematoxyline 10 menit. Sisa pewarna dicuci segera dengan air mengalir sekitar 5 menit.
- (4) Dipindahkan ke dalam pewarna Eosine selama 5 menit.
- (5) Dipindahkan ke dalam alkohol bertingkat dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, dan terakhir 96%.
- (6) Dipindahkan ke dalam xylol, dua kali, masing-masing 10 menit.
- (7) Direkat dengan gelas penutup menggunakan perekat Entellan.

