

- NIFEDIPINE
- FERTILITY

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK
KKA
THR. 08/11
Ern
P

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN NIFEDIPIN PER ORAL
TERHADAP
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS DAN SEL
SPERMATOGENIK
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



ERNAWATI

PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010

TESIS

INSTRUMEN PENELITIAN
KUALITAS
PENGARUH PEMBERIAN NIFEDIPIN...
ERNAWATI



ERNAWATI

ERNAWATI
KEMAHARAJARAN

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN NIFEDIPIN PER ORAL
TERHADAP
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS DAN SEL
SPERMATOGENIK
PADA MENCIT (*Mus Musculus*) JANTAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

**ERNAWATI
NIM. 090710283 M**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 27 JANUARI 2010**

Oleh :

Pembimbing Ketua



dr. Aucky Hinting, Ph.D, SpAnd
NIP.130 873 509

Pembimbing



Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh, Ph.D
NIP. 131 406 098

Mengetahui:
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga



Prof. Dr. Erry Gumilar, Dachlan, dr., SpOG(K)
NIP.140 092 103

Tesis ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji pada
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga
Pada tanggal 27 Januari 2010

Panitia Penguji,

1. Prof. Dr.Erry Gumilar Dachlan,dr., SpOG(K).
2. dr. Aucky Hinting, Ph.D, SpAnd
3. Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D
4. Dr. Rina Yudiwati, dr., MS
5. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada dr.Aucky Hinting,Ph.D,SpAnd, sebagai pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian memberikan dorongan, bimbingan dan saran dalam penyusunan proposal, persiapan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Sri Agus Sudjarwo,drh,Ph.D, selaku pembimbing yang dengan penuh kesabaran memberikan dorongan, bimbingan dan saran dalam penyusunan proposal, persiapan penelitian hingga selesainya tesis ini

Dengan selesainya tesis ini, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof.Dr.Fasich,Apt. atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan pada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan program pendidikan magister.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof.Dr., Muhammad Amin dr.SpP(K) atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti program pendidikan magister.
3. Rektor Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Prof.DR.H.Soedijono Tirtowidardjo,SpTHT (K) yang telah memberikan ijin untuk menempuh pendidikan magister di Program Pascasarjana Unair.

4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, dr.F.Y.Widodo,M.Kes yang telah memberikan ijin untuk menempuh pendidikan magister di Program Pascasarjana Unair.
5. Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi, Prof.Dr.Erry Gumilar Dachlan,dr.,SpOG(K) yang telah memberikan ijin dan dukungan pada saya dalam menempuh pendidikan magister di Program Pascasarjana Unair
6. Dr.Rina Yudiwati,dr.,MS dan Dr.Hari Basuki Notobroto,dr.,M.Kes, selaku tim penguji yang telah banyak memberikan masukan, saran dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan tesis.
7. Dr.Alfiah Hayati,Dra.,M.Kes dan seluruh staf di departemen Biologi Fakultas Saintek Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya melakukan penelitian.
8. Semua dosen pengajar Program Ilmu Kesehatan Reproduksi yang banyak membantu selama menempuh pendidikan
9. Semua staf dan karyawan Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan.
10. Semua teman-teman seangkatan di program Ilmu Kesehatan Reproduksi yang telah banyak memberikan dukungan dan kerjasamanya.
11. Semua teman-teman di FK Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan program pendidikan.

12. Kedua orang tuaku tercinta yang telah banyak memberikan dukungan sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan magister ini.
13. Suamiku tercinta (dr.Charles Kimura) dan kedua anakku (Matthew dan Michael) yang telah memberikan dorongan, semangat, perhatian dan pengorbanan selama saya mengikuti pendidikan magister.
14. Semua pihak yang membantu yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Akhirnya dengan segenap kerendahan hati, saya mohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kekurangan yang ada.

RINGKASAN**PENGARUH PEMBERIAN NIFEDIPIN PER ORAL
TERHADAP
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS DAN SEL
SPERMATOGENIK
PADA MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN****Ernawati**

Nifedipin adalah obat anti hipertensi golongan kalsium antagonis yang banyak digunakan pada saat ini dan ternyata dapat menyebabkan efek samping berupa infertilitas pada pria. Hal ini memperlihatkan bahwa deregulasi homeostasis kalsium pada testis sangat erat hubungannya dengan keadaan infertilitas pada pria. Nifedipin yang diberikan pada hewan coba dapat menyebabkan gangguan pada organ reproduksi berupa terhambatnya proses spermatogenesis. Dengan penelitian ini, penulis ingin membuktikan apakah pemberian nifedipin per oral pada mencit jantan dapat menurunkan berat testis, menurunkan diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, sel sertoli, sel spermatosit dan spermatid sehingga dapat dibuktikan pengaruh nifedipin terhadap spermatogenesis.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap dan data penelitian yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan Anova dengan derajat kemaknaan 0,05 ($\alpha=0,05$). Sampel penelitian ini adalah mencit jantan dewasa umur 7-8 minggu dan berat badan 20-30 gram yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan besar sampel masing-masing 6 ekor. K1: kelompok kontrol yang mendapat larutan CMC peroral, P1: kelompok perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,075mg/gBB/hr peroral, P2 : kelompok perlakuan yang mendapat

nifedipin 0,15mg/gBB/hr peroral dan P3 : kelompok perlakuan yang mendapat nifedipin 0,3mg/gBB/hr peroral. Perlakuan diberikan selama 18 hari.

Setelah 18 hari perlakuan, hewan coba dikorbankan untuk diambil testisnya. Testis ditimbang dan dimasukkan dalam larutan fiksatif untuk selanjutnya dibuat sediaan histologik metode parafin dengan pewarnaan HE. Hasilnya diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 10x40 dan difoto dengan kamera digital untuk kemudian diukur diameter tubulus seminiferus, dihitung jumlah sel leydig, sel sertoli, sel spermatosit dan sel spermatid.

Dari data penelitian rata-rata berat testis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, sel sertoli, sel spermatosit dan sel spermatid pada kelompok perlakuan lebih kecil daripada kelompok kontrol. Data penelitian tersebut setelah diuji normalitas datanya kemudian dianalisis dengan Anova dan didapatkan bermakna sehingga dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang ada perbedaan bermakna.

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian nifedipin peroral terbukti dapat menurunkan berat testis secara bermakna pada dosis 0,15mg/gBB dan 0,3mg/gBB, menurunkan diameter tubulus seminiferus secara bermakna pada dosis 0,075mg/gBB dan 0,3 mg/gBB, menurunkan jumlah sel leydig secara bermakna pada dosis 0,075mg/gBB, 0,15mg/gBB dan 0,3mg/gBB, menurunkan jumlah sel sertoli secara bermakna pada dosis 0,15mg/gBB dan 0,3mg/gBB, menurunkan jumlah sel spermatosit secara bermakna pada dosis 0,15mg/gBB dan 0,3mg/gBB dan menurunkan jumlah sel spermatid secara bermakna pada dosis 0,3 mg/gBB.

SUMMARY

THE EFFECT OF NIFEDIPINE BY ORAL ON TUBULUS SEMINIFERUS DIAMETER AND SPERMATOGENIC CELL OF MALE MICE (*Mus musculus*)

Ernawati

Nifedipin is an anti-hypertension medicine calcium antagonist class that is commonly used recently and may cause infertility on men as side effect. This proves that calcium homeostatic deregulation in testis is closely related to men infertility. Nifedipin is given to research animal may cause dysfunction of reproduction organ that is the obstruction of spermatogenetic process. Through this research, the writer intends to prove whether the giving of Nifedipin to a male mouse through oral may decrease the weight of testis, tubulus seminiferus diameter, leydig cells number, sertoli cell, spermatosit and spermatid so that the effect of nifedipin can be proved.

The research method is by laboratory experimental with Completely Random Design and the data obtained is statistically analyzed by Anova with the degree of significance 0,05 ($\alpha=0,05$). The research objects are 7 – 8 weeks old male mice with the weight of 20 -30 grams. They are divided into 4 big groups with 6 mice each. The divisions go as follow; K1: control group with CMC solvent by oral, P2: treatment group with nifedipine 0,075 mg/ gBW/day by oral, P2: treatment group with nifedipine 0,15 mg/gBW/day by oral and P3: treatment group with nifedipine 0,3 mg/ gBW/day by oral. Treatments are given for 18 days.

After 18 days of treatment, the mice's were sacrificed and their testis to be taken. The testis are to be weighed and put into fixative solvent then a preparatory histology paraffin method with HE coloring is made. The result can be observed through microscope with 10x40 zoom and pictured by digital camera to measure the tubulus seminiferus diameter, the number of leydig cells, sertoli sells, spermatosit cells, and spermatid cells.

From the testis average weight research analysis, tubulus seminiferus, leydig cells number, sertoli cells, spermatosit and spermatid cells on the treatment groups are smaller than the control group. After being tested for the normality value, the data is analyzed through Anova system and the significant result is obtained then LSD test follows to figure out the group with significance differences.

The research shows that the giving of nifedipin by oral can cause the decrease in testis weight in doses 0,15mg/gBW and 0,3mg/gBW, decrease tubulus seminiferus diameter in doses 0,075mg/gBW and 0,3mg/gBW, decrease number of leydig cells in doses 0,075mg/gBW , 0,15mg/gBW and 0,3mg/gBW, decrease sertoli cells in doses 0,15mg/gBW and 0,3mg/gBW, decrease spermatosit cells in doses 0,15mg/gBW and 0,3 mg/gBW and decrease spermatid cells in doses 0,3mg/gBW.

ABSTRACT**THE EFFECT OF NIFEDIPINE BY ORAL ON TUBULUS SEMINIFERUS DIAMETER AND SPERMATOGENIC CELL OF MALE MICE (*Mus musculus*)****Ernawati**

Nifedipin is an anti-hypertension medicine calcium antagonist class that is commonly used recently and may cause infertility on men as side effect. This proves that calcium homeostatic deregulation in testis is closely related to men infertility. This objective of the research is to prove whether the giving of nifedipine to a male mice through oral may decrease the weight of testis, tubulus seminiferus diameter, leydig cell number, sertoli cell, spermatosit and spermatid.

The research method is laboratory experimental with completely random design and the data obtained is statically analyzed by Anova with the degree of significance 0,05 ($\alpha=0,05$). The research objects are 7-8 weeks old male mice with the weight of 20-30 grams. They are divided into 4 big groups with 6 mice each. K: control groups with CMC solvent by oral, P1: treatment groups with nifedipine 0,075mg/gBW/day, P2: treatment groups with nifedipine 0,15 mg/gBW/day and P3:treatment groups with nifedipine 0,3mg/gBW/day by oral. Treatments are given 18 days. For identifying which group had significant difference in each variable, the analysis was continued with LSD test.

The result shows significant reduction in testis weight, tubulus seminiferus diameter, leydig cell number, sertoli cell, spermatosit and spermatid.

Key words : nifedipine, testis weight, tubulus seminiferus diameter, spermatogenic cell



DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Lembar pengesahan	iv
Lembar penetapan panitia penguji	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	viii
<i>Summary</i>	x
<i>Abstract</i>	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan tentang Nifedipin	6
2.1.1 Mekanisme Kerja Nifedipin	7
2.1.2 Farmakokinetik	8
2.1.3 Toksisitas	8
2.2 Tinjauan tentang Sistem Reproduksi Jantan	9
2.3 Spermatogenesis	10
2.4 Spermiogenesis	14
2.5 Sel Spermatogenik	15
2.6 Struktur Tubulus Seminiferus	17
2.7 Peran Hormon pada Aktivitas Spermatogenesis.....	18
2.8 Saluran Keluar Spermatozoa	20
2.9 Kelenjar-kelenjar Tambahan	22
2.10 Hewan Percobaan	23
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual	25
3.2 Hipotesis Penelitian	28

BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	29
4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi	30
4.3 Variabel Penelitian	30
4.3.1 Klasifikasi Variabel	30
4.3.2 Definisi Operasional Variabel	31
4.4 Bahan Penelitian	32
4.4.1 Bahan Perlakuan	32
4.4.2 Bahan Pemeriksaan	33
4.5 Instrumen Penelitian	33
4.5.1 Alat untuk Pemeliharaan Mencit	33
4.5.2 Alat untuk Pembiusan dan Pengambilan Jaringan Testis....	33
4.5.3 Alat untuk Pembuatan dan Pengecatan Sediaan Histologis Testis	33
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian	34
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data	34
4.7.1 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	34
4.7.2 Persyaratan Etik	35
4.7.3 Pembuatan Preparat Histologis	35
4.7.4 Pengumpulan Data	36
4.8 Rancangan Analisa Data	36
4.9 Kerangka Operasional Penelitian	37
 BAB 5 HASIL PENELITIAN	 38
5.1 Data Penelitian	38
5.1.1 Berat Testis	39
5.1.2 Diameter Tubulus Seminiferus	41
5.1.3 Jumlah Sel Leydig	42
5.1.4 Jumlah Sel Sertoli	43
5.1.5 Jumlah sel Spermatoosit	45
5.1.6 Jumlah Sel Spermatoid	46
5.2 Analisis Data Penelitian	47
5.2.1 Berat Testis	48
5.2.2 Diameter Tubulus Seminiferus	49
5.2.3 Jumlah Sel Leydig	50
5.2.4 Jumlah Sel Sertoli	51
5.2.5 Jumlah Sel Spermatoosit	52
5.2.6 Jumlah Sel Spermatoid	53
 BAB 6 PEMBAHASAN	 54
6.1 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis dan diameter tubulus seminiferus	54
6.2 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel leydig dan sel sertoli	55
6.3 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatogenik	55

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	57
7.1 Kesimpulan	57
7.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Rata-rata dan simpangan baku berat testis mencit.....	40
Tabel 5.2 Rata-rata dan simpangan baku diameter tubulus seminiferus	41
Tabel 5.3 Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel leydig	43
Tabel 5.4 Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel sertoli	44
Tabel 5.5 Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel spermatosit.....	45
Tabel 5.6 Rata-rata dan simpangan baku jumlah sel spermatid	46
Tabel 5.7 Rangkuman analisis varian berat testis	48
Tabel 5.8 Rangkuman analisis varian diameter tubulus seminiferus	49
Tabel 5.9 Rangkuman analisis varian jumlah sel leydig	50
Tabel 5.10 Rangkuman analisis varian jumlah sel sertoli	51
Tabel 5.11 Rangkuman analisis varian jumlah sel spermatosit	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Diagram struktur komponen tubulus seminiferus dan jaringan interstitial	13
Gambar 2.2 Diagram jumlah pembelahan yang terjadi dan jenis sel spermatogenik yang terbentuk pada tiap tahap spermatogenesis	16
Gambar 2.3 Diagram pengaturan hormon fungsi testis	19
Gambar 2.4 Testis, epididimis dan duktus deferens	21
Gambar 2.5 Mus musculus	24
Gambar 3.1 Diagram alur kerangka konsep penelitian	28
Gambar 5.1 Penampang melintang tubulus seminiferus.....	39
Gambar 5.2 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis.....	40
Gambar 5.3 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap diameter tubulus seminiferus	42
Gambar 5.4 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel leydig	43
Gambar 5.5 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel sertoli	44
Gambar 5.6 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatisit	46
Gambar 5.7 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatid	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil perhitungan dalam berbagai perlakuan	61
Lampiran 2 Hasil analisis uji statistik	64
Lampiran 3 Perhitungan dosis nifedipin	77
Lampiran 4 Pembuatan sediaan histologis testis	78
Lampiran 5 Keterangan Kelaikan Etik	80

DAFTAR SINGKATAN

ABP	: Androgen Binding Protein
ANOVA	: Analisis Varian
BNT	: Beda Nyata Terkecil
BB	: Berat Badan
Ca ²⁺	: Kalsium
CCBs	: Calcium Channel Blockers
DHP	: Dihidropiridin
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormone
g	: gram
HE	: Hematoksin Eosin
LH	: Lutenizing Hormone
LSD	: Least Significant Difference
ml	: milliliter
mg	: milligram
N	: nifedipin



BAB 1 PENDAHULUAN

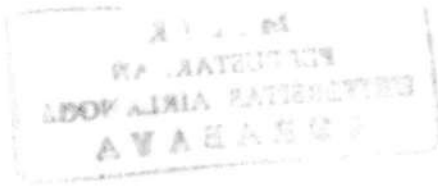


1.1 Latar Belakang

Infertilitas adalah suatu keadaan pasangan yang sudah menikah satu tahun atau lebih dan telah melakukan hubungan seksual secara teratur tanpa memakai kontrasepsi, tetapi tidak memperoleh keturunan. Dengan berkembangnya pengetahuan dan teknologi di bidang reproduksi, diketahui bahwa prevalensi infertilitas di Indonesia cukup tinggi. Kontribusi wanita terhadap infertilitas sekitar 40%, pria 35%, dan pria-wanita secara bersama-sama 25%. Penyebab infertilitas pada pria antara lain: berkurangnya jumlah produksi sperma, sumbatan pada sistem pengeluaran sperma, terbentuknya antibodi terhadap sperma, kerusakan testis, gangguan produksi hormon, terjadinya pelebaran pembuluh darah di testis (varikokel) dan sebagai akibat adanya efek samping obat.

Kalsium antagonis merupakan salah satu obat anti hipertensi yang banyak digunakan pada saat ini dan sering menyebabkan efek samping berupa infertilitas pada pria. Hal ini memperlihatkan bahwa deregulasi homeostasis kalsium pada testis sangat erat hubungannya dengan keadaan infertilitas pada pria (Lee *et.al.*,2006).

Barbarino *et al* (2007) melaporkan bahwa Ca^{2+} mempunyai peran penting pada *gonadotropine releasing hormone* (GnRH) dalam melepaskan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Hasil dari laporan ini menunjukkan bahwa verapamil yang merupakan salah satu preparat kalsium antagonis mampu menghambat pelepasan gonadotropin dan juga pelepasan FSH



[The main body of the page contains several paragraphs of text that are extremely faint and illegible due to low contrast and blurring. The text appears to be a formal document or report.]

dan LH. Sebaliknya BK 8644 yang merupakan kalsium agonis dapat meningkatkan pelepasan hormon FSH dan LH. Juga dilaporkan bahwa hambatan pelepasan FSH dan LH sebagai akibat pemberian etosuksimid yang merupakan preparat kalsium antagonis dapat menyebabkan terhambatnya proses spermatogenesis (Lee *et.al.*,2006).

Proses normal spermatogenesis distimulasi oleh sejumlah hormon, yaitu testosteron, LH, FSH, estrogen dan hormon pertumbuhan yang pengendaliannya melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis. LH disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior yang berfungsi menstimulasi sel-sel Leydig yang terdapat diantara tubulus seminiferus untuk memproduksi testosteron. Hormon ini penting bagi tahap pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk sperma, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. FSH juga disekresi oleh sel-sel kelenjar hipofisis anterior dan berfungsi menstimulasi sel-sel sertoli dan sel spermatogenik untuk metabolisme normal. Sel sertoli di bawah pengaruh FSH mensintesis estrogen dan protein pengikat androgen (ABP) yang berfungsi untuk mengikat testosteron, untuk selanjutnya digunakan dalam proses pembelahan dan pematangan spermatogonia menjadi spermatozoa. Hormon pertumbuhan juga diperlukan untuk mengatur fungsi metabolisme testis. Hormon pertumbuhan secara khusus meningkatkan pembelahan awal pada spermatogenesis.

Di Indonesia banyak obat anti hipertensi yang digunakan, salah satu diantaranya adalah nifedipin. Nifedipin termasuk golongan obat *calcium channel blockers* (CCBs) atau kalsium antagonis. Nifedipin berdasarkan struktur kimianya termasuk CCBs golongan DHP (dihidropiridin).

Obat golongan ini bekerja dengan cara memblokir transport kalsium ke dalam otot polos pembuluh darah sehingga menyebabkan vasodilatasi, karena nifedipin merupakan kalsium antagonis dan distribusinya dapat mencapai jaringan testis maka perlu dilakukan penelitian apakah pemberian nifedipin dapat menyebabkan hambatan proses spermatogenesis sehingga dapat mengakibatkan terjadinya infertilitas pada mencit jantan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan berat testis mencit jantan ?
2. Apakah pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus mencit jantan ?
3. Apakah pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah sel leydig mencit jantan ?
4. Apakah pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah sel sertoli mencit jantan ?
5. Apakah pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah spermatisit dalam tubulus seminiferus mencit jantan ?
6. Apakah pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus mencit jantan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, sel sertoli dan sel spermatogenik mencit jantan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan berat testis mencit jantan.
2. Membuktikan pengaruh pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus mencit jantan.
3. Membuktikan pengaruh pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah sel leydig mencit jantan.
4. Membuktikan pengaruh pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah sel sertoli mencit jantan.
5. Membuktikan pengaruh pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah spermatosit dalam tubulus seminiferus mencit jantan.
6. Membuktikan pengaruh pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus mencit jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat memperjelas mekanisme kerja nifedipin dalam menurunkan fertilitas pada mencit jantan.
2. Memberikan informasi bahwa nifedipin dapat mempengaruhi spermatogenesis sehingga dapat berakibat terjadinya gangguan fertilitas pada pria.
3. Memberikan informasi nifedipin dapat digunakan sebagai kontrasepsi pada pria.
4. Menjadi bahan pertimbangan dalam pemilihan obat anti hipertensi.

B A B 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Nifedipin

Nifedipin adalah obat anti hipertensi golongan CCBs atau penghambat kanal kalsium yang berdasarkan struktur kimianya termasuk golongan dihidropiridin. Penghambat kanal kalsium adalah sekelompok obat yang bekerja dengan menghambat masuknya ion Ca^{2+} melewati *slow channel* yang terdapat pada membran sel (sarkolema). Struktur kimia penghambat kanal kalsium sangat berbeda satu dan lainnya. Obat ini pertama kali dilaporkan mempunyai efek kronotropik dan inotropik negatif oleh Hass dan Harlfelder (1962), yang terjadi karena terhambatnya arus masuk ion kalsium ke dalam sel jantung. Nama lain yang biasa dipakai untuk golongan obat ini adalah *calcium antagonist* atau *calcium entry blocker* (Setiawati, 1995)

Berdasarkan struktur kimianya CCBs dapat dibedakan menjadi 5 golongan :

1. Dihidropiridin (DHP) : nifedipin, nikardipin, felodipin, amlodipin
2. Difenilalkilamin : verapamil, galopamil, tiapamil
3. Benzotiazepin : diltiazem
4. Piperazin : sinarizin, flunarizin
5. Lain-lain : prenilamin, perheksilin

Golongan 1,2 dan 3 menghambat kanal kalsium secara selektif (90-100%), sedangkan golongan 4 dan 5 menghambat kanal kalsium (50-70%) dan kanal natrium.

2.1.1 Mekanisme Kerja Nifedipin

Ion kalsium terutama berperan dalam kontraksi otot jantung dan otot polos vaskuler. Meningkatnya kadar ion kalsium dalam sitosol akan meningkatkan kontraksi. Masuknya ion kalsium dari ruang ekstra sel ke dalam ruang intra sel dipacu oleh perbedaan kadar (kadar Ca^{2+} ekstra sel 10.000 kali lebih tinggi daripada kadar Ca^{2+} intra sel sewaktu diastol) dan karena ruang intra sel bermuatan negatif.

Penghambat kanal kalsium yang terikat ke struktur membran bertanggung jawab terhadap aliran masuk lambat (*slow channel*), yaitu suatu struktur yang dianggap menyerupai saluran natrium saraf, tetapi bersifat relatif selektif terhadap kalsium, sehingga jaringan yang membutuhkan influks kalsium untuk aktivitas normal akan rentan terhadap penghambatan obat ini (Katzung, 2005).

Penghambatan saluran kalsium oleh obat-obat tersebut menyerupai penghambatan saluran natrium oleh anestesi lokal. Obat yang bekerja pada bagian dalam membran dan terikat lebih efektif ke saluran pada membran yang terdepolarisasi. Sebagian penghambatan ini dapat dihilangkan dengan meninggikan konsentrasi kalsium yang dibutuhkan tidak tercapai secara klinis. Penghitungan sebagian penghambatan ini dapat juga dicapai dengan penggunaan obat yang meninggikan aliran kalsium transmembran seperti simpatomimetik.

Secara umum ada 2 macam kanal kalsium pada membran sel eksitabel :

1. *Voltage operated* (VOC) atau *potensial dependent channel* (PDC) yang terbuka oleh depolarisasi.
2. *Receptor operated channel* (ROC) yang terbuka oleh norepinefrin atau neurotransmitter lain tanpa terjadi depolarisasi.

CCBs terutama bekerja pada otot polos vaskuler (menyebabkan dilatasi arteriol perifer dan koroner), otot jantung (menimbulkan efek inotropik negatif), nodus AV dan nodus SA (menyebabkan hambatan konduksi AV dan denyut jantung). Berbagai CCBs menunjukkan aktivitas yang berbeda terhadap otot polos vaskuler dan terhadap jantung. Hanya golongan 2 (verapamil) dan golongan 3 (diltiazem) yang mempunyai hambatan bermakna terhadap nodus AV dan nodus SA. Aktivitas hambatan CCBs terhadap kontraksi otot polos vaskuler dibanding hambatannya terhadap kontraksi otot jantung disebut selektivitas vaskuler.

CCBs golongan DHP bersifat vaskuloselektif, artinya DHP lebih aktif menghambat kontraksi otot polos vaskuler dibanding kontraksi otot jantung.

2.1.2 Farmakokinetik

Penghambat kanal kalsium merupakan obat yang aktif peroral dan mudah terikat protein plasma (80-90%). Metabolisme lintas pertama di hati besar jumlahnya bagi verapamil dan diltiazem. Waktu paruh pembuangan 3-6 jam, nifedipin dan verapamil terutama diekskresi melalui urin dan diltiazem melalui feses (Katzung, 1995).

2.1.3 Toksisitas

Efek toksik terpenting yang telah dilaporkan dari penghambat kanal kalsium adalah perluasan langsung efek terapeutiknya. Penghambat kanal kalsium yang berlebihan dapat menyebabkan depresi jantung berat, meliputi henti jantung, bradikardia, blok atrioventrikular dan payah jantung kongestif. Efek ini jarang dijumpai dalam klinik. Toksisitas ringan (tidak memerlukan pengobatan) meliputi

flushing, edema, *dizziness*, mual, konstipasi dan infertilitas pada pria. (Katzung, 1995; Lee *et.al.*, 2006).

2.2 Tinjauan Tentang Sistem Reproduksi Jantan

Organ reproduksi jantan terdiri dari sepasang testis yang terletak di dalam skrotum. Testis merupakan organ reproduksi utama yang dilengkapi dengan saluran reproduksi yang terdiri dari epididimis, duktus deferens, serta kelenjar-kelenjar tambahan, yaitu kelenjar prostat, vesika seminalis, kelenjar bulbouretralis dan penis di bagian luar. Skrotum memegang peranan penting dalam mempertahankan suhu testis agar tetap sesuai dengan suhu tubuh, kondisi ini diperlukan agar spermatogenesis berjalan normal (Thwaits dan Hannan, 1989).

Epitel dari tubulus seminiferus terdiri atas 2 kategori sel yang berbeda, yaitu sel untuk penyokong dan nutrisi (sel sustentakular Sertoli) serta sel spermatogenik atau sel benih. Sel-sel spermatogenik membentuk bagian terbesar dari lapisan epitel dan melalui proliferasi serta diferensiasi yang kompleks menghasilkan spermatozoa (Frandsen, 1992). Sel sustentakular Sertoli jumlahnya relatif sedikit dan tersusun sepanjang tubulus pada jarak-jarak yang diatur, diantara sel-sel benih. Sel-sel Sertoli merupakan sel-sel tinggi seperti tiang, dengan dasarnya terletak di atas lamina basal tubulus.

Bentuk sel tidak teratur, tidak tampak jelas dan sangat kompleks karena kepala spermatozoa yang matang menempati cekungan-cekungan di sitoplasmanya. (Leeson *et.al.*, 1997).

Spermatozoa diproduksi di dalam tubulus seminiferus sebagai hasil pembelahan dari sel-sel epitel germinalis yang berurutan. Sel-sel tersebut akan

membelah membentuk sel-sel baru yang segera didesak ke lumen tubulus seminiferus, selanjutnya mengembangkan ekor dan kelak menjadi spermatozoa yang bergerak bebas. Jadi pembelahan dan perkembangan sel berjalan dari perifer ke arah medial menuju lumen tubulus. Selama proses tersebut spermatozoa diberi makan oleh sel Sertoli (Rahayu, 1994).

Dari tubulus seminiferus spermatozoa akan berjalan melalui ekor epididimis menuju vas deferens. Spermatozoa masuk melalui duktus ejakulatorius ke dalam uretra di badan prostat pada saat ejakulasi. Di antara tubulus-tubulus testis terdapat sarang sel yang mengandung granula lemak yaitu sel interstitium Leydig yang mengekskresikan testosteron ke dalam aliran darah. Arteri spermatika ke testis bergelung-gelung dan darah yang mengalir di dalamnya sejajar tapi berlawanan arah dengan darah dalam pleksus pampiniformis vena spermatika. Susunan anatomik ini memungkinkan pertukaran arus balik panas dan testosteron (Ganong, 2003).

Secara mikroskopis epididimis terdiri dari kepala, badan dan ekor. Spermatozoa berada dalam epididimis selama 1-3 minggu dan selama waktu itu terjadi perubahan penampilan, kemampuan gerak, ukuran dan fungsi metabolismenya. Vas deferens merupakan lanjutan dari duktus epididimis dan dari vas deferens spermatozoa bergerak ke uretra (Bavelander dan Ramaley, 1988).

2.3 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah suatu proses untuk menghasilkan spermatozoa masak dari spermatogonia. Pada mamalia, spermatogenesis berlangsung di dalam tubulus seminiferus dan berlangsung terus menerus secara

berkesinambungan sepanjang masa reproduksi (Costanzo, 2006). Waktu yang diperlukan untuk satu siklus spermatogenesis pada setiap spesies berbeda-beda, pada manusia membutuhkan waktu 64 hari, dimulai dengan spermatogonia yang terletak di atas lamina basal, spermatogonia merupakan satu-satunya sel benih yang ada sampai masa pubertas (Leeson *et.al.*, 1997). Spermatogenesis pada tikus memerlukan waktu antara 51-53 hari, pada kera memerlukan waktu 37-43 hari (Neischlag, 2001), sedangkan pada mencit memerlukan waktu 34,5-35,5 hari (Bennet dan Vickery, 1970).

Ada tiga tahapan yang terjadi dalam proses spermatogenesis, yaitu (Junqueira *et.al.*, 1997; Costanzo, 2006) :

1. Tahap mitosis (spermatositogenesis), dimana spermatogonia membelah, berturut-turut menghasilkan ke turunan sel yang akhirnya menghasilkan spermatosit.
2. Tahap meiosis yaitu spermatosit mengalami 2 pembelahan yang berurutan, dengan pengurangan setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel menghasilkan spermatid.
3. Tahap spermiogenesis yaitu transformasi spermatid menjadi spermatozoa yang matur.

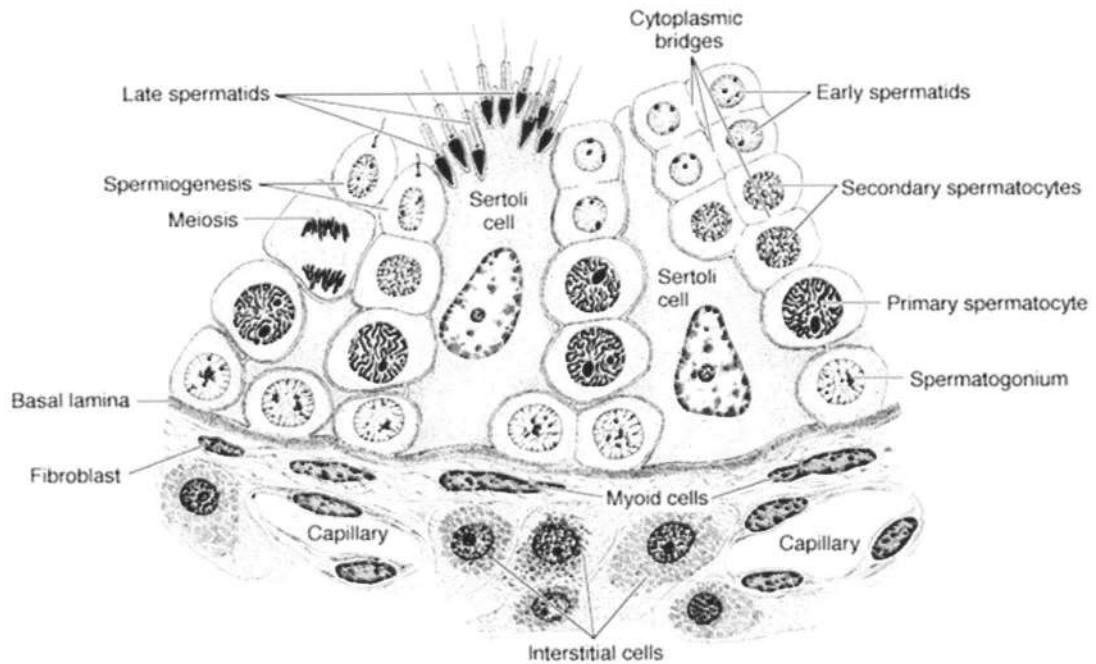
Menurut gambaran inti selnya, pada manusia dikenal tiga jenis spermatogonia, yaitu :

1. Spermatogonia gelap tipe A dengan inti sel lonjong dan berwarna gelap. Sel-sel tersebut membelah diri secara berkala untuk mempertahankan jumlah spermatogonia dan juga untuk membentuk spermatogonia pucat tipe A yang memiliki inti lonjong pucat.

2. Spermatogonia pucat tipe A membelah diri secara mitosis untuk menjadi spermatogonia tipe B dan juga untuk menjadi spermatogonia pucat tipe A yang lain.
3. Spermatogonia tipe B mempunyai inti bulat yang mengandung massa kromatin padat yang berhubungan dengan membran inti. Bila spermatogonia tipe B membelah diri dengan cara mitosis, sel-sel tersebut menghasilkan sel-sel anak yang seluruhnya berdiferensiasi menjadi spermatosit primer.

Spermatosit primer merupakan sel benih terbesar yang terdapat dalam tubulus seminiferus. Ketika dibentuk pertama kali sel-sel tersebut terletak di ruang basal tubulus seminiferus. Pembelahan yang terjadi di dalam spermatosit primer adalah pembelahan reduksi, meiosis, yaitu seluruh kromosom bergerak ke kutub kumparan yang berlawanan. Sebagai akibatnya, 23 kromosom (22 autosom ditambah dengan satu kromosom seks, X atau Y) masuk ke dalam sel anak atau spermatosit sekunder.

Spermatogenesis



Gambar 2.1 Diagram struktur komponen tubulus seminiferus dan jaringan interstitial (Junquiera *et.al.*,1997)

Setelah terbentuk spermatisit sekunder maka terjadi pembelahan meiosis yang kedua untuk membentuk spermatid yang haploid (Ross dan Keith, 1985). Spermatid adalah sel hasil dari pembelahan spermatisit sekunder.mereka dapat dibedakan dari ukurannya yang kecil, inti dengan daerah-daerah kromatin yang padat dan terletak dekat bagian tengah tubulus seminiferus. Dengan terbentuknya spermatid maka spermasitogenesis berakhir, setelah itu spermatid mengalami proses diferensiasi yang kompleks yang dinamakan spermiogenesis yang menghasilkan perubahan spermatid menjadi spermatozoa (Junqueira *et.al.*, 1997).

2.4 Spermiogenesis

Spermiogenesis adalah serangkaian proses yang menimbulkan perubahan transformasi spermatid menjadi spermatozoa. Perubahannya berupa pembentukan akrosom yang menutupi lebih dari setengah permukaan inti (kondensasi inti), pembentukan leher, bagian tengah, ekor serta meluruskan sebagian besar sitoplasma.

Spermiogenesis dibagi menjadi 4 fase yaitu Golgi, cap (tudung), akrosom, maturasi (pematangan). Fase Golgi ditandai dengan adanya gelembung akrosom dan kraniokaudal yang simetris. Pada fase cap, spermatid memanjang dan akrosom tampak lebih berkembang menutup setengah bagian cranial sampai dua pertiga spermatid. Fase akrosom, nukleus sel lebih terkondensasi dan sel lebih memanjang. Maturasi spermatid ditandai dengan estrusi sisa sitoplasma yang disebut sebagai residual bodi. Residual bodi selanjutnya difagositosis oleh sel Sertoli. Setelah melalui keempat fase tersebut, spermatozoa matang dan siap ditransportasikan ke lumen tubulus (Leeson *et.al.*, 1996, Junqueira *et.al.*, 1997).

Pada manusia, waktu yang diperlukan oleh spermatogonium untuk berkembang menjadi spermatozoa matang adalah 64 hari, sedangkan pada mencit sekitar 34,5-35,5 hari (Sadler, 2006).

Setelah terbentuk sempurna, spermatozoa memasuki lumen tubulus seminiferus, dari sini spermatozoa didorong ke arah epididimis oleh bagian dinding tubulus seminiferus yang berkontraksi, walaupun pada mulanya gerakannya lambat, spermatozoa mendapatkan kemampuan gerak sepenuhnya di dalam epididimis.

2.5 Sel Spermatogenik

Sel-sel spermatogenik yang terdapat di tubulus seminiferus adalah (Leeson *et. al.*, 1997; Junqueira *et. al.*, 1997; Bloom dan Fawcett, 2002) :

a. Spermatogonia

Spermatogonia merupakan satu-satunya sel gamet yang ada sampai masa pubertas. Sel ini ada di bagian dasar epitel tubulus seminiferus.

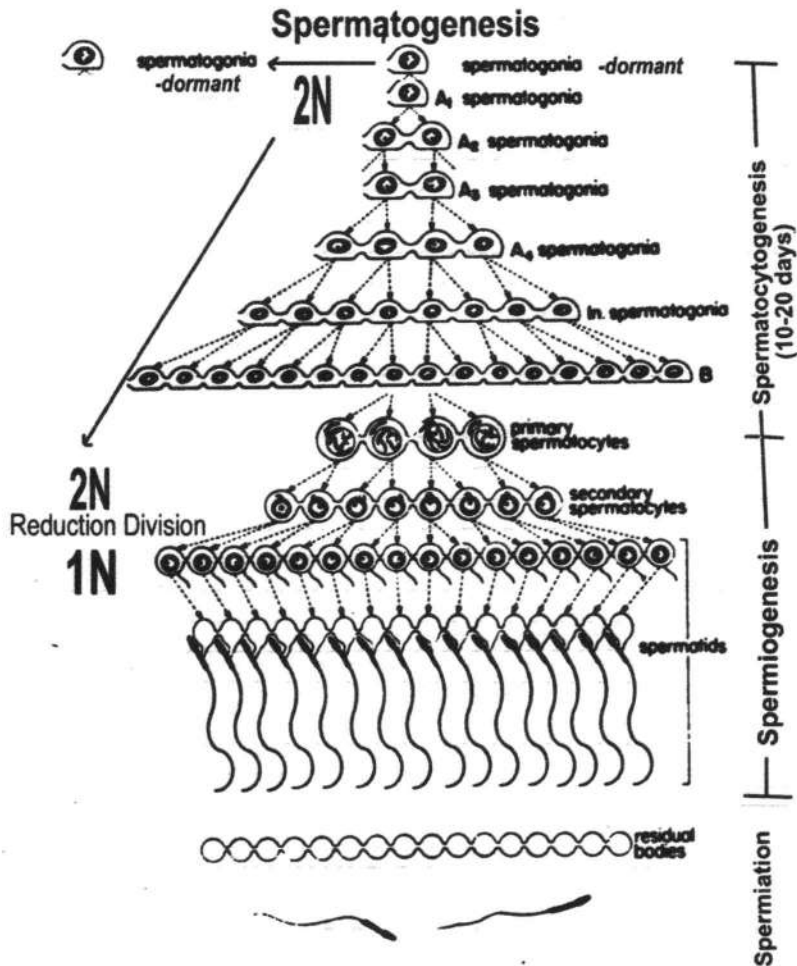
b. Spermatisit primer

Sel ini merupakan sel gamet terbesar di dalam tubulus seminiferus. Ketika dibentuk pertama kali, sel-sel ini terletak di bagian basal tubulus. Dengan berdiferensiasinya sel, maka *tight junction* akan menghilang sehingga memungkinkan berpindahannya spermatisit dari bagian basal ke ruang adluminal.

Sel berbentuk bulat atau bulat telur dan inti selnya biasanya berada dalam salah satu tingkat kariokinesis, terlihat besar dan jelas pada tengah sel.

c. Spermatisit sekunder

Ukuran bentuk dari spermatisit sekunder kira-kira separuh spermatisit primer dan letaknya lebih ke arah lumen. Sel ini jarang terlihat pada potongan melintang tubulus seminiferus, karena umur selnya pendek dan cepat membelah menjadi spermatid.



Gambar 2.2 Diagram jumlah pembelahan yang terjadi dan jenis sel spermatogenik yang terbentuk pada tiap tahap spermatogenesis (Gilbert, 1991).

d. Spermatid

Ukuran bentuk dari spermatid kira-kira separuh volume spermatozoid sekunder. spermatid terletak dekat lumen, mempunyai sebuah inti bulat yang terletak di tengah sel. Segera setelah muncul, spermatid langsung menempel pada permukaan sel Sertoli.

e. Spermatozoa

Spermatozoa merupakan hasil dari transformasi spermatid melalui proses spermiogenesis. Spermatozoa terdiri atas kepala, bagian tengah dan ekor. Spermatozoa terletak bebas dalam lumen tubulus.

2.6 Struktur Tubulus Seminiferus

Tubulus seminiferus merupakan saluran panjang yang berkelok-kelok. Tubulus berakhir sebagai ujung bebas yang buntu atau beranastomosis dengan tubulus-tubulus di dekatnya dari lobulus yang sama atau kadang-kadang dengan tubulus dari lobulus di sebelahnya. Pada puncak lobulus, tiap tubulus tidak berkelok-kelok lagi dan menjadi lurus dan disebut sebagai tubulus rektus.

Tubulus seminiferus dibatasi oleh suatu epitel germinal kompleks atau epitel seminiferus, yang merupakan modifikasi epitel berlapis kuboid.

Epitel tersebut terletak di atas lamina basal yang tipis dan diluarnya diliputi oleh suatu daerah khusus yang terdiri atas jaringan ikat fibrosa yang disebut jaringan peritubular atau pembatas yang terdiri dari banyak serat jaringan ikat, fibroblas yang pipih dan beberapa sel yang bersifat sebagai sel otot polos.

Unsur-unsur mioid ini mempunyai *junctional complex* pada bagian sisi sel-sel di sampingnya yang menghambat, namun tidak seluruhnya. Diduga kontraksi sel-sel mioid ini mengubah diameter tubulus seminiferus dan membantu gerakan spermatozoa sepanjang tubulus. (Leeson *et.al.*, 1997)

Tight junction antara sel-sel sertoli dekat lamina basalis membentuk sawar darah testis yang mencegah banyak molekul besar berpindah dari jaringan interstitium dari bagian tubulus dekat lamina basalis ke daerah dekat lumen tubulus. Cairan dalam tubulus seminiferus mengandung sangat sedikit protein dan glukosa tetapi banyak mengandung androgen, estrogen, K⁺, inositol, asam glutamat serta aspartat (Ganong, 2003).

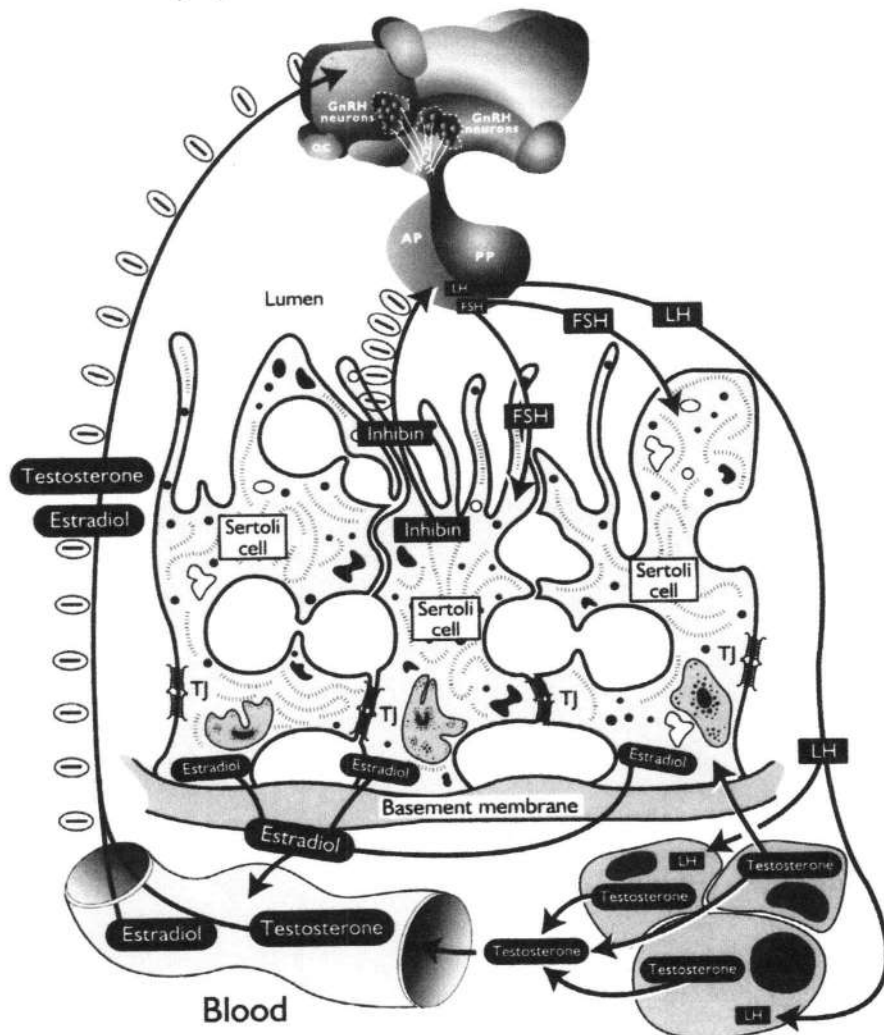
2.7 Peran Hormon pada Aktivitas Spermatogenesis

Aktivitas spermatogenesis dikendalikan oleh hormon-hormon dari hipotalamus, GnRh (*Gonadotropine Releasing Hormone*) mengontrol pelepasan LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dari hipofisis anterior. Hormon-hormon ini merangsang testis untuk memproduksi testosteron (Silverthorn, 2001).

GnRH adalah suatu peptida dengan 10 asam amino yang disekresikan oleh neuron yang sel induknya terletak dalam nukleus arkuatus hipotalamus. Bagian ujung neuron ini berakhir terutama dalam eminensia mediana hipotalamus. Di tempat ini GnRH dilepaskan ke sistem pembuluh darah hipotalamus. GnRH kemudian diangkut ke kelenjar hipofisis anterior dalam darah portal dan merangsang pelepasan LH dan FSH. (Catt dan Dufau, 1991; Guyton, 2000).

FSH bekerja pada sel Sertoli dan bersama-sama dengan androgen memelihara fungsi gametogenik testis. Inhibin yang dihasilkan sel sertoli di bawah pengaruh FSH memberikan umpan balik menghambat sekresi FSH. LH

bekerja pada sel Leydig yang memproduksi testosteron dan memberikan umpan balik menghambat sekresi LH (Ganong, 1993, Silverthorn, 2001).



Gambar 2.3 Diagram pengaturan hormon fungsi testis

Ketika terjadi hambatan spermatogenesis, hipofisis anterior akan menambah sekresi FSH. Sebaliknya bila spermatogenesis berjalan terlalu cepat, maka sel Sertoli akan menghasilkan inhibin untuk mempengaruhi hipofisis dalam menghambat sekresi FSH (Call dan Dufau, 1991; Vander *et.al.*,1994).

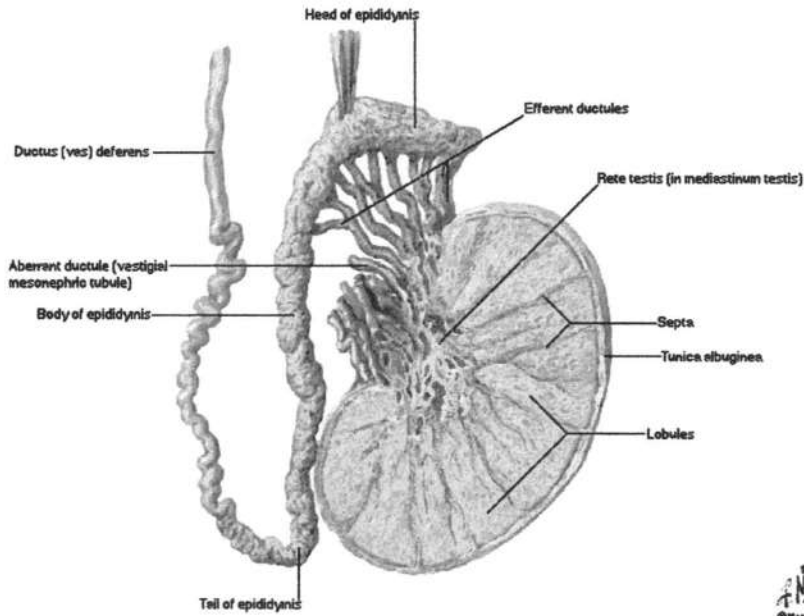
Testosteron yang dihasilkan sel Leydig akan menghambat sekresi LH dengan dua cara yaitu efek langsung ke hipotalamus untuk menurunkan sekresi GnRH dengan akibat GnRH yang mencapai hipofisis anterior akan berkurang dan efek pada hipofisis anterior untuk mengurangi sekresi LH tetapi tidak mengurangi sekresi FSH (Vander *et.al.*,1994). Mekanisme umpan balik negatif oleh testosteron ini bekerja sama dengan mekanisme umpan balik oleh inhibin dalam mengatur spermatogenesis (Guyton, 2000).

FSH berperan sejak terjadinya proliferasi spermatogonia hingga terbentuknya spermatosit primer dan terhadap perkembangan tahap akhir spermatid menjadi spermatozoa. FSH dan androgen mempertahankan fungsi gametogenik testis, FSH bekerja pada sel Sertoli untuk memperlancar stadium akhir pematangan spermatid (Ganong,2001).

2.8 Saluran Keluar Spermatozoa

Dari tubulus seminiferus spermatozoa berjalan ke bagian proksimal dari sistem saluran testis yang terletak dalam mediastinum testis. Spermatozoa melintasi leher tubulus seminiferus yang lurus disebut tubuli rekti ke dalam rete testis, yang terdiri dari ruangan-ruangan halus yang menduduki mediastinum testis. Dinding tubuli rekti dan rete testis dilapisi dengan epitel kuboid atau pipih. Tubuli rekti tersusun sebagai kerucut yang terikat menjadi satu oleh jaringan ikat longgar yang tidak mengandung otot polos (Gray, 2005).

Testis, Epididymis and Ductus Deferens Frontal Section



Gambar 2.4 Testis, epididimis dan duktus deferens

Bagian posterior testis terdapat duktus eferens yang berjalan spiral keluar mediastinum testis membentuk duktus epididimis. Duktus eferens dibungkus oleh jaringan ikat dan masing-masing dikelilingi oleh selapis otot yang berjalan sirkuler. Bagian luar duktus eferens bentuknya teratur, tetapi bagian dalam lumennya tampak tidak teratur karena diduduki oleh sel-sel epitel yang tidak sama tinggi. Duktus eferens melanjutkan menjadi duktus epididimis. Duktus epididimis merupakan saluran yang panjang dan tempat penimbunan spermatozoa. Di mana pada duktus ini spermatozoa bergerak amat lambat untuk mendapatkan kesempatan mencapai kemampuan dan kesuburan yang optimal (Junquiera *et.al.*, 1997).

Duktus epididimis menjadi lurus pada ujungnya dan melanjutkan diri menjadi duktus deferens. Saluran ini akan berjalan naik dari skrotum ke

daerah inguinal melalui kanalis inguinalis dan selanjutnya berjalan ke bawah dekat sisi dinding pelvis secara retroperitoneal menuju uretra. Dindingnya relatif tebal dan lumennya sempit. Pada ujungnya duktus deferens yang melebar lumennya lebih besar dan mukosanya lebih berlipat lipatan bila dibandingkan dengan duktus deferens yang lain disebut ampula, dimana kebanyakan lipatan epitel ini akan bercabang-cabang dan bergabung satu sama lain membentuk jumlah bangunan mirip kantung-kantung. Duktus ejakulatorius merupakan bagian pendek ujung dari tiap-tiap saluran yang memasuki sistem saluran kelamin jantan. Duktus ini menembus kelenjar prostat dan bermuara ke dalam uretra tepat di sisi utrikulus prostatikus. (Junqueira *et.al.*, 1997).

2.9 Kelenjar Kelenjar Tambahan

Kelenjar-kelenjar yang berkaitan dengan sistem saluran testis adalah vesikula seminalis, kelenjar prostat dan kelenjar bulbouretralis.

- Vesikula Seminalis

Merupakan tonjolan berbentuk kantung dari duktus deferens dekat ujung bagian ampula. Bentuknya panjang dan berkelok-kelok, terletak di bagian posterior kelenjar prostat. Vesikula seminalis menghasilkan sekret yang berwarna kekuning-kuningan yang mengandung globulin, asam askorbat, fruktosa dan prostaglandin. Vesikula seminalis berfungsi sebagai kelenjar, mengeluarkan dan menimbun bahan-bahan yang kental dari cairan semen (Leeson *et.al.*, 1997).

- Prostat

Prostat melingkari pangkal uretra yang keluar dari kandung kemih yang terdiri dari kelenjar tubuloalveolar kompleks yang bermuara ke dalam uretra pars prostatika. Sekret prostat merupakan cairan seperti susu, bersifat agak alkali, kaya akan enzim proteolitik, terutama fibrinolisin yang membantu pencairan semen. (Leeson *et.al.*, 1997).

- Kelenjar Bulbouretralis

Kelenjar bulbouretralis (Cowper) ada sepasang yang terletak pada jaringan ikat di belakang uretra pars membranosa. Tiap kelenjar merupakan kelenjar tubuloalveolar kompleks dan saluran keluarnya bermuara di bagian posterior uretra pars cavernosa. Saluran keluar dibungkus oleh selubung otot polos yang berjalan sirkuler. Sekretnya jernih, kental seperti lendir (Leeson *et.al.*, 1997).

2.10 Hewan Percobaan

Beberapa hewan percobaan yang dapat digunakan dalam suatu penelitian antara lain adalah mencit, tikus putih, marmot, kelinci, dan monyet. Selain tikus, mencit (*Mus musculus*) juga sering dipakai untuk hewan coba dalam penelitian. Mencit sering dipakai dalam penelitian karena mudah dipelihara, mudah didapat, siklus hidupnya singkat, mudah diberi perlakuan dan harganya relatif murah.

Mus musculus memiliki panjang badan (hidung hingga ujung ekor) 7,5-10 cm. Memiliki warna badan putih hingga coklat, dengan rambut yang pendek. Pada telinga dan ekornya tidak memiliki rambut. Ukuran ekor kurang lebih hampir sama dengan panjang tubuhnya. Berat badan mencit lahir sekitar 0,5-1 g,

sedangkan berat badan mencit jantan dewasa 20-40 g dan berat badan mencit betina dewasa 18-35 g. Waktu dewasa seksual mencit kurang lebih 60 hari, dan usia maksimum mencit adalah 1-2 tahun. Masa kebuntingan mencit 19-21 hari dan jumlah anak yang dilahirkan berkisar antara 6-15 ekor.



Gambar 2.5 *Mus musculus*

Mencit jantan dan betina dapat dibedakan dengan mudah, yaitu dengan mengamati alat kelaminnya, mencit betina memiliki jarak yang pendek antara anus dan lubang genital eksternanya sedangkan mencit jantan memiliki jarak yang jauh antara anus dan lubang genital eksternanya. Selain itu mencit betina memiliki 5 puting susu yang terlihat jelas (Armitage, 2004).

Berikut merupakan klasifikasi mencit menurut Armitage, (2004) :

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Mammalia
Ordo : Rodentia
Family : Muridae
Sub family : Murinae
Genus : *Mus*
Species : *Mus musculus*

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Di Indonesia banyak obat anti hipertensi yang digunakan salah satu di antaranya adalah nifedipin. Nifedipin termasuk obat golongan *calcium channel blockers* (CCBs) atau kalsium antagonis. Berdasarkan stuktur kimianya nifedipin termasuk CCBs golongan DHP (dihidropiridin). Telah dilaporkan bahwa penggunaan kalsium antagonis sering menyebabkan efek samping yang berupa infertilitas pada pria. Hal ini memperlihatkan bahwa kalsium pada testis mempunyai peran yang sangat penting pada fertilitas pria (Lee *et.al.*,2006).

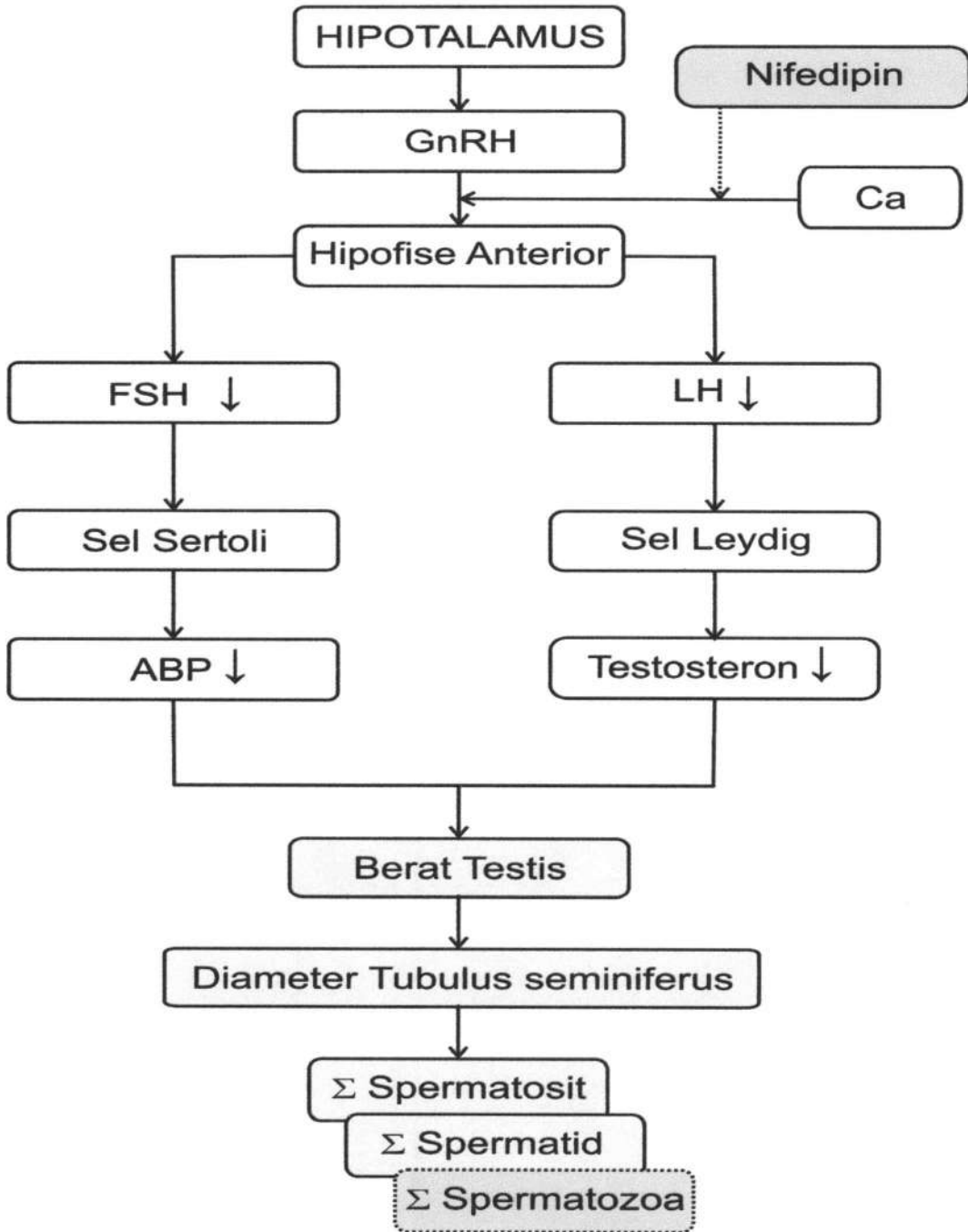
Barbarino *et.al* (2007) melaporkan bahwa Ca^{2+} dapat mempengaruhi GnRH dalam melepaskan hormon FSH dan LH. Hasil dari laporan ini menunjukkan bahwa verapamil yang merupakan salah satu kalsium antagonis mampu menghambat pelepasan gonadotropin dan juga pelepasan FSH dan LH. Sebaliknya BK 8644 yang merupakan kalsium agonis dapat meningkatkan pelepasan hormon FSH dan LH. Juga dilaporkan bahwa hambatan pelepasan FSH dan LH sebagai akibat pemberian etosuksimid yang merupakan preparat kalsium antagonis dapat menyebabkan terhambatnya proses spermatogenesis (Lee *et.al.*,2006).

Proses normal spermatogenesis distimulasi oleh sejumlah hormon, yaitu testosteron, LH, FSH, estrogen dan hormon pertumbuhan yang pengendaliannya diatur oleh poros hipotalamus-hipofisis-testis. LH

disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior yang berfungsi menstimulasi sel-sel Leydig yang terdapat diantara tubulus seminiferus untuk memproduksi testosteron. Hormon ini penting bagi tahap pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk sperma, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. FSH juga disekresi oleh sel-sel kelenjar hipofisis anterior dan berfungsi menstimulasi sel-sel sertoli dan sel spermatogenik untuk metabolisme normal. Sel sertoli di bawah pengaruh FSH mensintesis estrogen dan protein pengikat androgen (ABP) yang berfungsi untuk mengikat testosteron, untuk selanjutnya digunakan dalam proses pembelahan dan pematangan spermatogonia menjadi spermatozoa. Hormon pertumbuhan juga diperlukan untuk mengatur fungsi metabolisme testis. Hormon pertumbuhan secara khusus meningkatkan pembelahan awal pada spermatogenesis.

Karena nifedipin merupakan salah satu preparat kalsium antagonis yang banyak digunakan sebagai obat anti hipertensi dan distribusinya dapat mencapai jaringan testis maka perlu dilakukan penelitian apakah pemberian nifedipin dapat menyebabkan hambatan proses spermatogenesis sehingga dapat mengakibatkan terjadinya infertilitas pada mencit jantan.

Kerangka konseptual di atas dapat digambarkan dengan diagram seperti di bawah ini:



Keterangan :

_____ diteliti

..... tidak diteliti

Gambar 3.1 Diagram alur kerangka konsep penelitian

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan berat testis mencit jantan.
2. Pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus mencit jantan.
3. Pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah sel leydig mencit jantan.
4. Pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah sel sertoli mencit jantan.
5. Pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah spermatosit dalam tubulus seminiferus mencit jantan.
6. Pemberian nifedipin peroral dapat menurunkan jumlah spermatid dalam tubulus seminiferus mencit jantan.

BAB 4

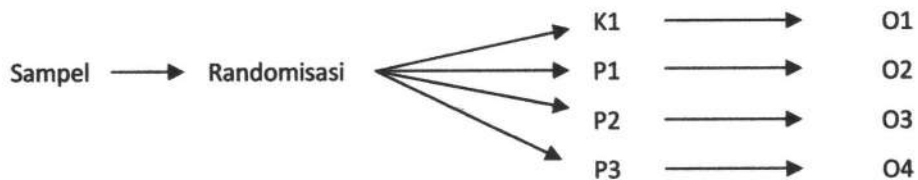
MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap.

Rancangan penelitian ini disusun sebagai langkah untuk melihat berat testis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, jumlah sel sertoli, jumlah spermatosit dan jumlah spermatid mencit jantan dengan pemberian nifedipin peroral dengan dosis yang bervariasi pada kelompok perlakuan dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Secara sistematis, rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut (Zainuddin,2000) :



- K1 : Kelompok kontrol dengan pemberian larutan CMC 0,01 ml /gBB/hr peroral
 P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,075 mg/g BB/hr peroral
 P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,15 mg/g BB/hr peroral.
 P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,3 mg/g BB/hr peroral.
- O1 : Data kelompok kontrol setelah 18 hari perlakuan
 O2 : Data kelompok P1 setelah 18 hari perlakuan
 O3 : Data kelompok P2 setelah 18 hari perlakuan
 O4 : Data kelompok P3 setelah 18 hari perlakuan

4.2. Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen adalah mencit jantan (*mus musculus*) yang berumur 7-8 minggu (*sexually mature*), dengan berat sekitar 20-30 g yang diperoleh dari laboratorium Biologi Reproduksi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.

Jumlah replikasi ditetapkan menurut rumus sebagai berikut :

$$(k - 1)(r - 1) \geq 15, \text{ dimana :}$$

k = jumlah macam perlakuan

r = jumlah replikasi untuk tiap kelompok

$$(4 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$3(r - 1) \geq 15$$

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

$$r - 1 \geq 5 \text{ maka } r \geq 6$$

Dari rumus tersebut diperoleh jumlah replikasi untuk tiap kelompok minimal 6 ekor. Karena selama perlakuan terdapat kemungkinan mati (f) $\pm 10\%$ maka jumlah replikasi yang digunakan untuk penelitian ini adalah 7 ekor per kelompok perlakuan.

Randomisasi adalah pengaturan unit eksperimen ke dalam kelompok-kelompok secara random sederhana.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

- A. Variabel bebas : dosis nifedipin
- B. Variabel tergantung : berat testis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, jumlah sel sertoli, jumlah spermatosit dan jumlah spermatid.
- C. Variabel kendali : umur, strain, berat badan, makanan dan minuman, kesehatan mencit, perawatan dan sanitasi kandang.

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini dapat didefinisikan sebagai berikut :

1. Dosis nifedipin yang digunakan adalah jumlah nifedipin generik dengan bentuk sediaan tablet yang diperoleh di apotik dengan dosis 0,075mg, 0,15mg dan 0,3mg.
2. Berat testis adalah berat rata-rata testis kiri yang ditimbang setelah dibersihkan dari pembungkusnya dengan menggunakan timbangan elektronik dengan satuan g.
3. Diameter tubulus seminiferus adalah pengukuran garis tengah tubulus seminiferus di bawah mikroskop cahaya dengan cara Weisbach dan Bach (Rosida, 2002), menggunakan alat ukur gratikule dalam satuan μm .
4. Jumlah sel leydig merupakan hasil perhitungan jumlah sel leydig yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40.
5. Jumlah sel sertoli merupakan hasil perhitungan jumlah sel sertoli yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40.
6. Jumlah spermatisit adalah hasil perhitungan rata-rata spermatisit yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.

7. Jumlah spermatid merupakan perhitungan jumlah rata-rata spermatid yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
8. Jaringan testis yang digunakan pada penelitian ini adalah testis kiri. Hal ini digunakan untuk mengurangi bias penelitian.
9. Umur mencit adalah 7 – 8 minggu / *sexually mature*.
10. Jenis kelamin adalah mencit jantan.
11. Kesehatan mencit dapat diamati dari morfologi dan berat badannya.
Morfologi : gerakan cukup lincah, tidak lesu, kulit bersih, tidak ada luka, mata terang dan tidak sayu. Berat badannya 20 -30 g.
12. Jenis makanan dan minuman. Jenis makanan pellet CP 511 dan minumannya aqua.
13. Perawatan mencit. Pemberian pellet 1 g/ekor/hari. Pemberian minum *ad libitum* 1 liter/3 hari untuk 10 ekor. Penggantian sekam untuk alas tidur 2 hari sekali.
14. Sanitasi kandang. Dibersihkan setiap hari, suhu sesuai suhu ruang, cukup ventilasi dan sinar matahari serta lingkungan yang tidak lembab.

4.4 Bahan Penelitian

4.4.1 Bahan Perlakuan.

1. Nifedipin dilarutkan dalam aquabides dengan dosis harian masing-masing perlakuan
2. Pellet CP 511 dan aqua, serta sekam untuk alas tidur.

4.4.2 Bahan Pemeriksaan

1. Eter untuk pembiusan
2. NaCl fisiologis untuk mencuci testis.
3. Testis kiri mencit (*Mus musculus*) jantan strain BALB/C
4. Untuk pembuatan preparat : PZ, buffer formalin 10%, alkohol, xylol, parafin, asam cuka, albumin, aquades, hematoksin, eosin, kertas label.
4. Bahan untuk pewarnaan HE.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat untuk pemeliharaan mencit

1. Kandang plastik ukuran 20 cm x 15 cm x 15 cm yang ditutup dengan kawat ayakan dengan ukuran lubang 6 mm, dilengkapi dengan tempat makan dan botol minum.
2. Sonde untuk memberikan larutan nifedipin

4.5.2 Alat untuk pembiusan dan pengambilan jaringan testis

1. Toples dengan tutup untuk pembiusan
2. Alat fiksasi hewan coba
3. Botol plastik dengan tutup untuk fiksasi jaringan
4. Alat bedah minor
5. Timbangan elektronik untuk menimbang berat testis

4.5.3 Alat untuk pembuatan dan pengecatan sediaan histologis testis

1. Obyek glass dan cover glass

2. Mikrotom
3. Mikroskop cahaya dengan skala mikrometer
4. Water bath
5. Staining jar
6. Cetakan dari logam yang berbentuk L untuk embedding
7. Alat ukur gratikule

4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan, mulai bulan Juni 2009 sampai Agustus 2009 di Laboratorium Biologi Reproduksi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Prosedur pelaksanaan penelitian

Mencit sebanyak 28 ekor diadaptasikan selama 1 minggu dan dibagi secara random menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor sebagai berikut:

Kelompok I : mencit hanya diberi larutan CMC sebagai kontrol

Kelompok II : mencit diberi nifedipin 0,075 mg/g BB/hari

Kelompok III : mencit diberi nifedipin 0,15 mg/g BB/hari

Kelompok IV : mencit diberi nifedipin 0,3 mg/g BB/hari

Pemberian nifedipin dilakukan sekali sehari selama 18 hari secara oral dengan menggunakan sonde. Pada hari ke 19, mencit dieutanasia dengan menggunakan eter dan diambil testisnya. Pengambilan jaringan testis yaitu:

mencit diletakkan di atas meja bedah dalam posisi terlentang dengan keempat anggota gerak terfiksasi, skrotum dibuka dengan gunting sampai kelihatan testis, testis diangkat dengan memotong duktus epididimis, dikeluarkan kemudian testis dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak serta pembungkusnya, lalu ditimbang dengan timbangan elektronik dan dimasukkan ke dalam botol yang berisi buffer formalin serta diberi label.

4.7.2 Persyaratan etik

Implikasi etik pada mencit sebagai hewan coba mengikuti *animals ethic*. Hal yang perlu dilaksanakan sesuai etik antara lain perawatan mencit dalam kandang, pemberian makan minum, aliran udara ke dalam ruang kandang, perlakuan saat penelitian, pengambilan unit analisis penelitian dan pemusnahannya.

4.7.3 Pembuatan preparat histologis

Semua testis dikumpulkan dan dimasukkan dalam larutan buffer formalin, kemudian bahan ini dibawa ke laboratorium Anatomi Histologi untuk dibuat sediaan histologis metode parafin dengan pewarnaan HE. Dengan menggunakan pewarnaan diharapkan terlihat dengan jelas struktur jaringan, bagian dalam inti sel dan sitoplasma.

4.7.4 Pengumpulan Data

Testis sebelum dimasukkan ke dalam buffer formalin ditimbang terlebih dahulu menggunakan timbangan elektrik. Pengambilan data dilakukan dengan melihat sediaan histologis di bawah mikroskop cahaya.

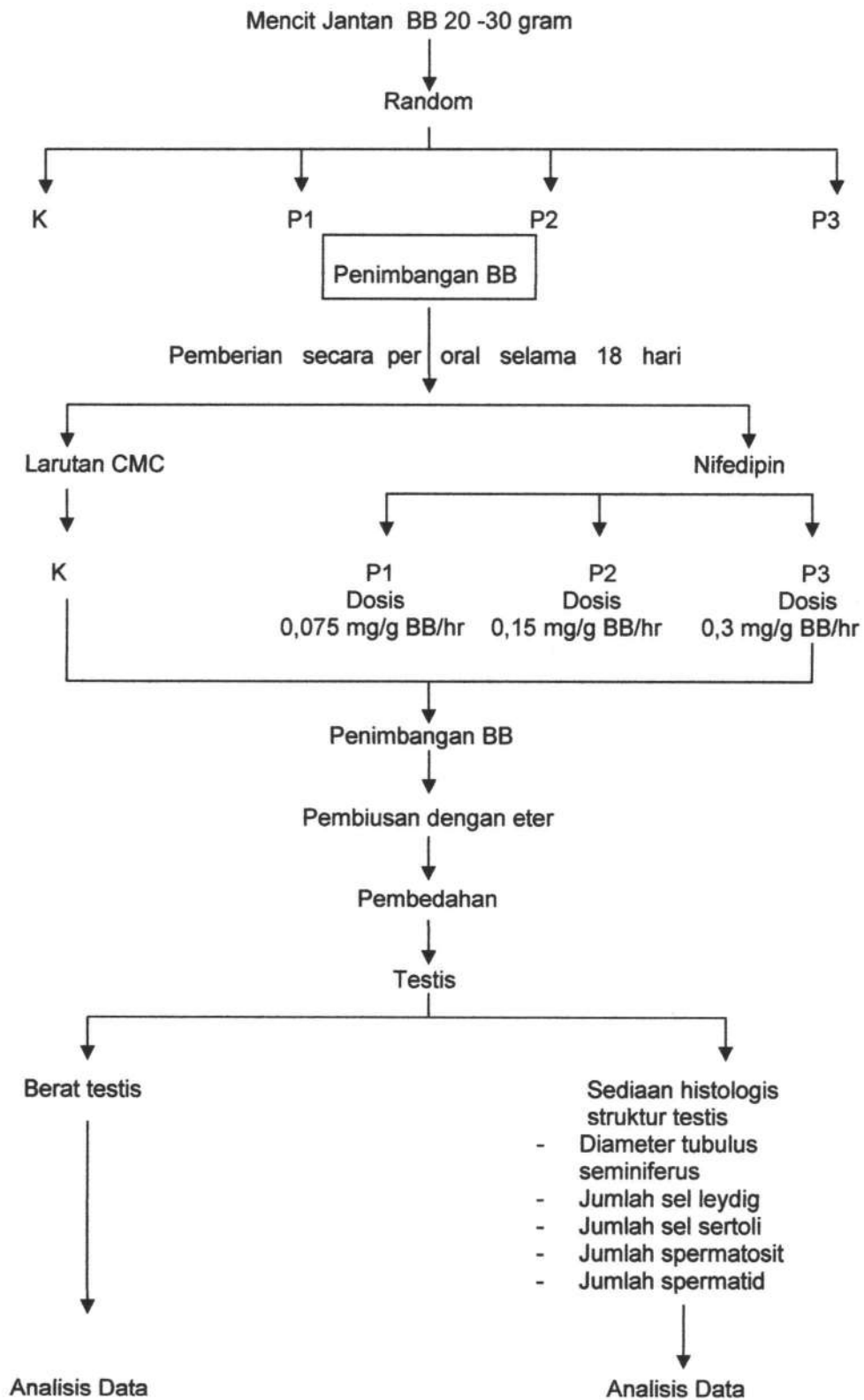
Masing-masing testis diperlukan 3 buah potongan melintang tubulus seminiferus yang benar-benar terpotong tegak lurus dengan sumbunya, yaitu tubulus yang penampang melintangnya bulat lalu diukur garis tengah dan tebal epitel tubulus seminiferus.

Pengukuran terhadap diameter tubulus seminiferus menggunakan gratikule menurut Weisbach dan Bach yaitu dengan mengukur jarak terdekat antara 2 titik yang berseberangan pada garis tengahnya, kedua titik tersebut berada pada batas antara membran basalis dan sel spermatogenik. Jumlah sel leydig dan sel sertoli dilakukan dengan menghitung jumlahnya pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Sel spermatogenik yang akan dihitung adalah spermatosit primer dan spermatid.

4.8 Rancangan Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan uji Anova Satu Arah (Zainuddin, 2000) dengan tujuan untuk membuktikan hipotesis penelitian yang telah dibuat. Bila diketahui di antara perlakuan terdapat perbedaan yang sangat bermakna maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Perhitungan statistik dibantu dengan program komputer.

4.9 Kerangka Operasional Penelitian



BAB 5

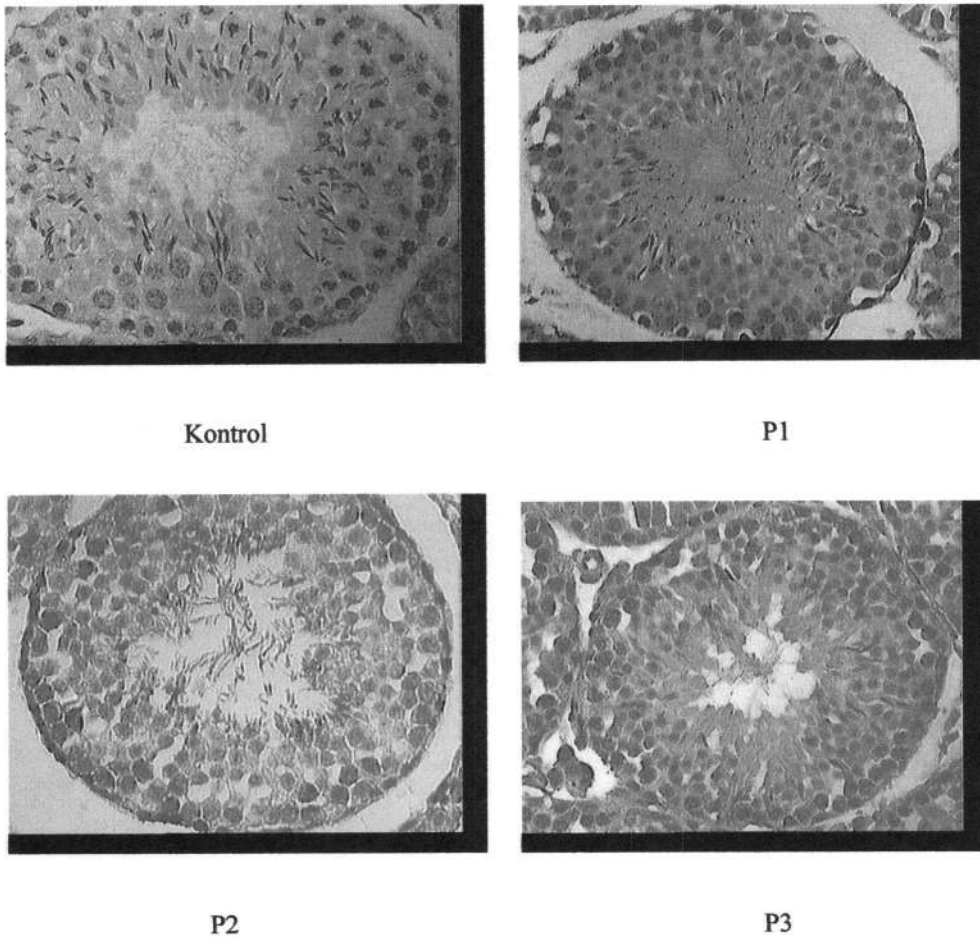
HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada hewan coba mencit sebanyak 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara random.

Kelompok I (Kontrol), mencit hanya diberi pelarut nifedipin (CMC) peroral, kelompok II, III dan IV, mencit diberi nifedipin dengan dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3mg/g BB/hr peroral selama 18 hari. Data yang didapat dari hasil penelitian meliputi berat testis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, sel sertoli, sel spermatosit dan sel spermatid.

Hasil pengamatan mikroskop dengan pembesaran 400x menunjukkan bahwa pemberian nifedipin peroral pada mencit dapat menyebabkan terjadinya penurunan diameter tubulus seminiferus dan jumlah sel-sel spermatogenik. Pengamatan terhadap tubulus seminiferus pada kelompok kontrol (K) masih dalam kondisi baik, dengan pemberian nifedipin dan penambahan dosis nifedipin (kelompok P1, P2 dan P3) penampang histologi tubulus seminiferus semakin jelek yang ditandai dengan penurunan diameternya, epitelnya tipis, susunan sel spermatogeniknya tidak teratur dan adanya penurunan jumlah sel spermatosit dan spermatid yang dapat dilihat pada gambar 5.1



Gambar 5.1. Penampang melintang tubulus seminiferus dengan pewarnaan Hemaktosilin Eosin dan pembesaran 400x, K: kontrol dengan pemberian larutan CMC, P1: perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,075mg/gBB/hr, P2: perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,15mg/gBB/hr dan P3: perlakuan dengan pemberian nifedipin 0,3 mg/gBB/hr.

5.1.1 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis

Berat testis adalah hasil penimbangan testis kiri setelah 18 hari perlakuan. Data hasil penimbangan berat testis terdapat pada lampiran 1, sedangkan rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) dapat dilihat pada tabel 5.1



P1

Kontrol



P2

P3

Gambar 3.1. Penampang melintang tikus putih dengan pemberian ekstrak biji kacang kedelai 400g, 800g dan 1200g dengan pemberian CMC, P1: pemberian dengan pemberian 400mg/kgBB, P2: pemberian dengan pemberian 800mg/kgBB dan P3: pemberian dengan pemberian 1200mg/kgBB dengan pemberian air 2 ml/kgBB.

3.1.1. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis.

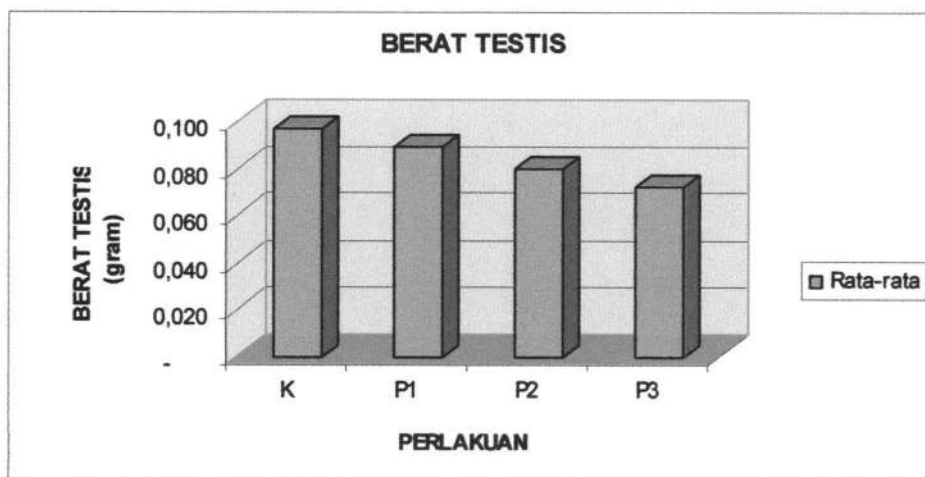
Untuk testis adalah hasil prima, organ testis kiri & kanan dari profektus. Data hasil perhitungan \bar{x} dan σ^2 dan σ dari hasil pengujian 1. sedangkan koefisien variasi (σ^2) dan simpangan baku (σ) dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 5.1 Rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) berat testis mencit dari berbagai perlakuan perlakuan

Kelompok	Ulangan	$\bar{x} \pm SD$ (g)
K (Kontrol)	6	0,097 \pm 0,007 ^a
P1 (Nifedipin 0,075 mg/g BB/hr)	6	0,089 \pm 0,009 ^{ab}
P2 (Nifedipin 0,15 mg/g BB/hr)	6	0,080 \pm 0,011 ^{bc}
P3 (Nifedipin 0,3 mg/g BB/hr)	6	0,072 \pm 0,012 ^c

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Dari hasil penimbangan berat testis didapatkan penurunan berat testis pada pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semakin besar dosis nifedipin yang diberikan semakin besar pula penurunan berat testisnya seperti terlihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis mencit. Kontrol (K); nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr (P1), 0,15 mg/g BB/hr (P2) dan 0,3 mg/g BB/hr (P3)

5.1.2 Diameter tubulus seminiferus

Diameter tubulus seminiferus adalah hasil pengukuran garis tengah tubulus seminiferus di bawah mikroskop cahaya dengan cara Weisbach dan Bach dan menggunakan alat ukur gratikule.

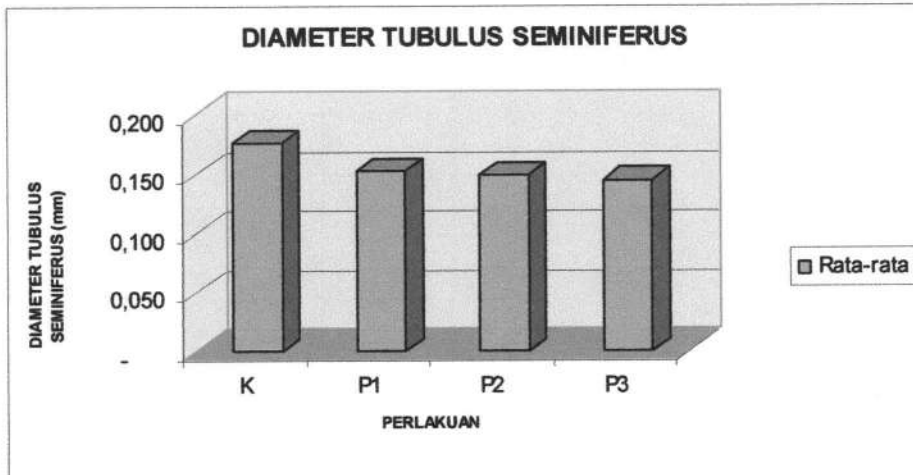
Data hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus terdapat pada lampiran 1, sedangkan rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) diameter tubulus seminiferus mencit dari berbagai perlakuan

Kelompok	Ulangan	$\bar{x} \pm SD$ (mm)
K (Kontrol)	6	0,176 \pm 0,024 ^a
P1 (Nifedipin 0,075mg/g BB/hr)	6	0,153 \pm 0,016 ^b
P2 (Nifedipin 0,15 mg/g BB/hr)	6	0,149 \pm 0,018 ^{bc}
P3 (Nifedipin 0,3 mg/g BB/hr)	6	0,145 \pm 0,010 ^c

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Dari hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus didapatkan penurunan diameter tubulus seminiferus pada pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semakin besar dosis nifedipin yang diberikan semakin besar pula penurunan diameter tubulus seminiferusnya seperti terlihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap diameter tubulus seminiferus mencit. Kontrol (K); nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr (P1), 0,15 mg/g BB/hr (P2) dan 0,3 mg/g BB/hr (P3).

5.1.3 Jumlah sel leydig

Jumlah sel leydig merupakan hasil perhitungan jumlah sel leydig yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40

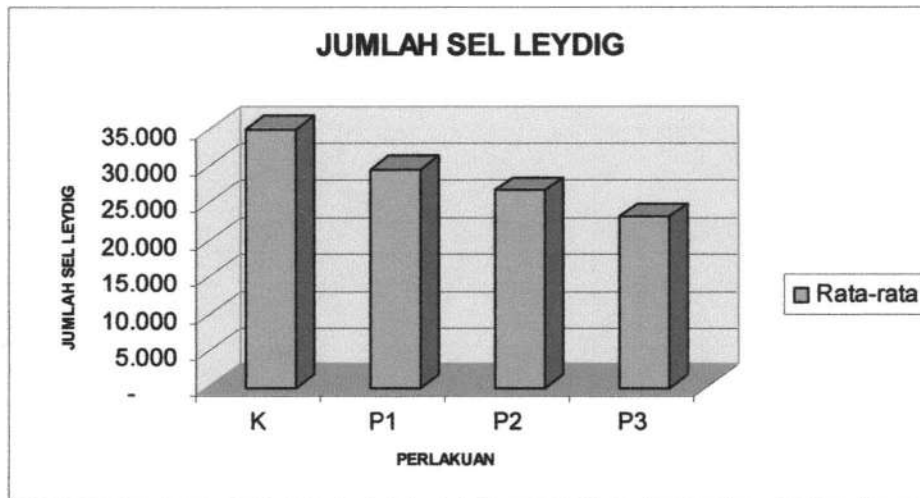
Data hasil perhitungan jumlah sel leydig terdapat pada lampiran 1, sedangkan rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) jumlah sel Leydig mencit dari berbagai perlakuan

Kelompok	Ulangan	$\bar{x} \pm SD$
K (Kontrol)	6	35,002 \pm 3,654 ^a
P1 (Nifedipin 0,075 mg/g BB/hr)	6	29,610 \pm 5,513 ^b
P2 (Nifedipin 0,15 mg/g BB/hr)	6	26,805 \pm 5,030 ^{bc}
P3 (Nifedipin 0,3 mg/g BB/hr)	6	23,167 \pm 1,793 ^c

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Dari hasil perhitungan jumlah sel leydig didapatkan penurunan jumlah sel leydig pada pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semakin besar dosis nifedipin yang diberikan semakin besar pula penurunan jumlah sel leydignya seperti yang terlihat pada gambar 5.4.



Gambar 5.4. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel leydig mencit. Kontrol (K); nifedipin dosis 0,075mg/g BB/hr (P1), 0,15 mg/g BB/hr (P2) dan 0,3 mg/g BB/hr (P3)

5.1.4 Jumlah sel sertoli

Jumlah sel sertoli merupakan hasil perhitungan jumlah sel sertoli yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40

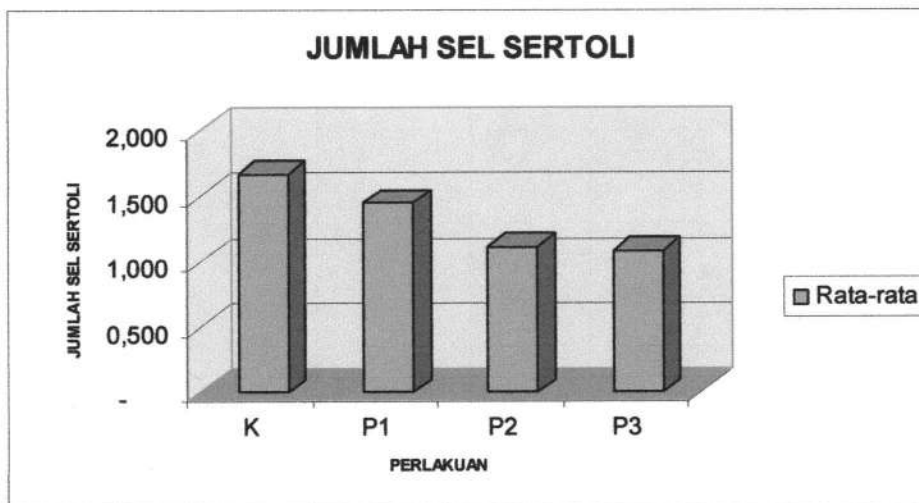
Data hasil perhitungan jumlah sel sertoli terdapat pada lampiran 1, sedangkan rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) jumlah sel sertoli dari berbagai perlakuan

Kelompok	Ulangan	$\bar{x} \pm SD$
K (Kontrol)	6	1,667 \pm 0,296 ^a
P1 (Nifedipin 0,075 mg/g BB/hr)	6	1,443 \pm 0,251 ^a
P2 (Nifedipin 0,15 mg/g BB/hr)	6	1,140 \pm 0,195 ^{bc}
P3 (Nifedipin 0,3 mg/g BB/hr)	6	1,083 \pm 0,255 ^c

Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Dari hasil perhitungan jumlah sel sertoli didapatkan penurunan jumlah sel sertoli pada pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semakin besar dosis nifedipin yang diberikan semakin besar pula penurunan jumlah sel sertolinya seperti terlihat pada gambar 5.5.



Gambar 5.5. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel sertoli mencit. Kontrol (K); nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr(P1), 0,15 mg/g BB/hr (P2) dan 0,3 mg/g BB/hr (P3)

5.1.5 Jumlah sel spermatisit

Jumlah sel spermatisit adalah hasil perhitungan rata-rata spermatisit primer yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.

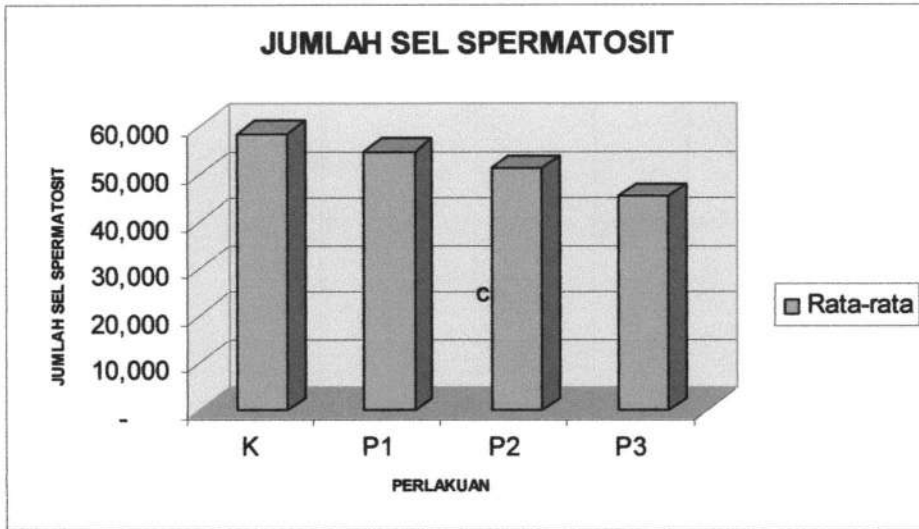
Data hasil perhitungan jumlah sel spermatisit terdapat pada lampiran 1, sedangkan rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) jumlah sel spermatisit mencit dari berbagai perlakuan.

Kelompok	Ulangan	$\bar{x} \pm SD$
K (Kontrol)	6	58,585 \pm 7,880 ^a
P1 (Nifedipin 0,075 mg/g BB/hr)	6	54,667 \pm 5,288 ^{ab}
P2 (Nifedipin 0,15 mg/g BB/hr)	6	51,113 \pm 4,823 ^{bc}
P3 (Nifedipin 0,3 mg/g BB/hr)	6	45,305 \pm 1,984 ^c

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Dari hasil perhitungan jumlah sel spermatisit primer didapatkan penurunan jumlah sel spermatisit primer pada pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr dibandingkan kelompok kontrol. Semakin besar dosis nifedipin yang diberikan semakin besar pula penurunan jumlah sel spermatisitnya seperti terlihat pada gambar 5.6.



Gambar 5.6. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatisit mencit. Kontrol (K); nifedipin dosis 0,075mg/g BB/hr (P1), 0,15 mg/g BB/hr (P2) dan 0,3 mg/g BB/hr (P3)

5.1.6 Jumlah sel spermatid

Jumlah spermatid merupakan perhitungan jumlah rata-rata spermatid yang dilakukan pada 3 buah tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan berpenampang bulat, di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.

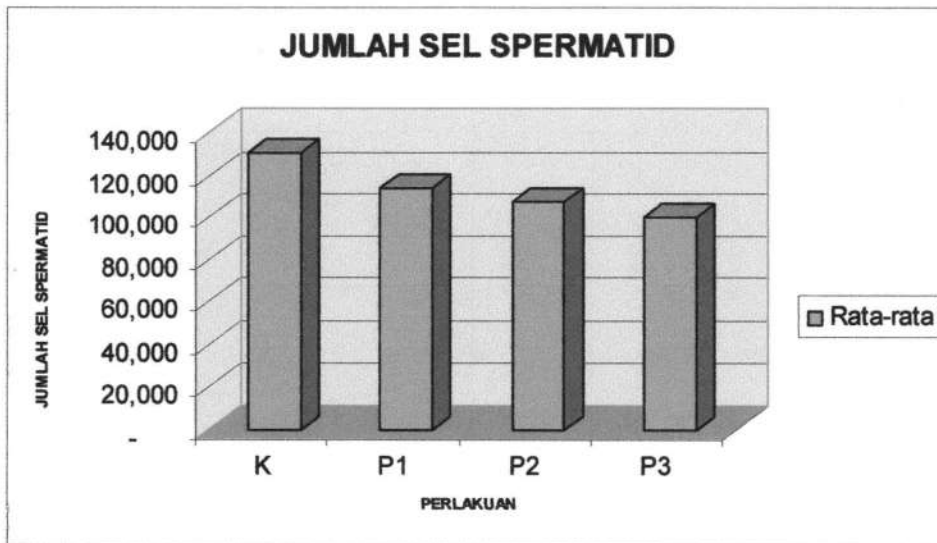
Data hasil perhitungan jumlah spermatid terdapat pada lampiran 1, sedangkan rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Rata-rata (\bar{x}) dan simpangan baku (SD) jumlah sel spermatid mencit dari berbagai perlakuan

Kelompok	Ulangan	$\bar{x} \pm SD$
K (Kontrol)	6	130,557 \pm 21,756 ^a
P1 (Nifedipin 0,075 mg/g BB/hr)	6	114,555 \pm 13,512 ^a
P2 (Nifedipin 0,15 mg/g BB/hr)	6	108,083 \pm 13,597 ^{ab}
P3 (Nifedipin 0,3 mg/g BB/hr)	6	100,470 \pm 5,492 ^b

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

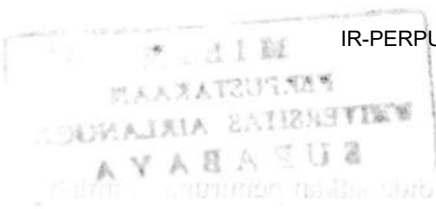
Dari hasil perhitungan jumlah sel spermatid didapatkan penurunan jumlah spermatid pada pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr, 0,15mg/g Bb/hr dan 0,3 mg/g BB/hr dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semakin besar dosis nifedipin yang diberikan semakin besar pula penurunan jumlah sel spermatidnya seperti terlihat pada gambar 5.7.



Gambar 5.7. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatid mencit. Kontrol (K); nifedipin dosis 0,075mg/g BB/hr (P1), 0,15 mg/g BB/hr (P) dan 0,3 mg/g BB/hr (P3)

5.2 Analisis Data Penelitian

Data berat testis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sel leydig, jumlah sel sertoli, jumlah sel spermatosit dan jumlah sel spermatid dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas dengan menggunakan *test of homogeneity of variances* untuk menentukan apakah kelompok tersebut homogen atau tidak. Jika *test of homogeneity of variances*nya memiliki *significant level* atau derajat kemaknaan $> 0,05$ ($p > 0,05$) maka kelompok tersebut homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan analisis varian (Anova). Dari hasil analisis varian (Anova) bila memiliki *significant level* atau derajat kemaknaan $< 0,05$ ($p < 0,05$) dianggap



Untuk hasil penelitian yang telah dipaparkan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian nifedipin dosis 0,05 mg/kg BB dan 0,1 mg/kg BB tidak berpengaruh terhadap jumlah sel spermatis yang dihasilkan oleh testis pada tikus jantan. Hal ini dapat dilihat dari data yang disajikan dalam tabel 2.1.

JUMLAH SEL SPERMATID



Gambar 2.1. Hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatis yang dihasilkan oleh testis pada tikus jantan. (K = kontrol, P1 = 0,05 mg/kg BB, P2 = 0,1 mg/kg BB, P3 = 0,2 mg/kg BB)

2.2. Analisis Data Penelitian

Untuk hasil analisis data yang telah disajikan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian nifedipin dosis 0,05 mg/kg BB dan 0,1 mg/kg BB tidak berpengaruh terhadap jumlah sel spermatis yang dihasilkan oleh testis pada tikus jantan. Hal ini dapat dilihat dari data yang disajikan dalam tabel 2.1. Untuk analisis data yang disajikan di atas, maka dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji t. Hasil analisis data yang disajikan di atas menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah sel spermatis yang dihasilkan oleh testis pada tikus jantan yang diberikan nifedipin dengan jumlah sel spermatis yang dihasilkan oleh testis pada tikus jantan yang tidak diberikan nifedipin.

terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

5.2.1 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap berat testis

Data berat testis tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,422 yang dapat dilihat pada lampiran 2, sehingga dapat dilakukan analisis varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisis varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$, yaitu sebesar 0,002 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna di antara kelompok perlakuan.

Rangkuman hasil analisis varian (Anova) berat testis diperlihatkan pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Rangkuman analisis varian (Anova) berat testis dari berbagai perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	3	.001	7.216	.002
Within Groups	.002	20	.000		
Total	.004	23			

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Hasil uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,008 dan 0,000, sedangkan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr tidak berbeda bermakna. Kelompok pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g

BB/hr dengan kelompok perlakuan 0,3 mg/g BB/hr terdapat perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,007 yang dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.2 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap diameter tubulus seminiferus

Data diameter tubulus seminiferus tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,118 yang dapat dilihat pada lampiran 2 sehingga dapat dilakukan analisis varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisis varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,03 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.

Rangkuman hasil analisis varian (Anova) diameter tubulus seminiferus diperlihatkan pada tabel 5.8

Tabel 5.8 Rangkuman analisis varian (Anova) diameter tubulus seminiferus dari berbagai perlakuan.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.003	3	.001	3.672	.030
Within Groups	.006	20	.000		
Total	.010	23			

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Hasil uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,035 dan 0,016, sedangkan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,15 mg/g BB/hr tidak berbeda bermakna. Kelompok pemberian nifedipin dosis

0,075 mg/g BB/hr dengan kelompok perlakuan 0,3 mg/g BB/hr terdapat perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,007 yang dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.3 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel leydig

Data jumlah sel leydig tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,141 yang dapat dilihat pada lampiran 2, sehingga dapat dilakukan analisis varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisis varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,001 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.

Rangkuman hasil analisis varian (Anova) sel leydig diperlihatkan pada tabel 5.9.

Tabel 5.9. Rangkuman analisis varian (Anova) jumlah sel leydig dari berbagai perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	448.417	3	149.472	8.274	.001
Within Groups	361.313	20	18.066		
Total	809.730	23			

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)*. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr , 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,040, 0,003 dan 0,000. Kelompok pemberian nifedipin

dosis 0,075 mg/g BB/hr dengan kelompok perlakuan 0,3 mg/g BB/hr terdapat perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,016 yang dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.4 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel sertoli

Data jumlah sel sertoli tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,756 yang dapat dilihat pada lampiran 2, sehingga dapat dilakukan analisis varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisis varian (Anova) didapatkan *significant level*nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,002 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.

Rangkuman hasil analisis varian (Anova) sel sertoli diperlihatkan pada tabel 5.10.

Tabel 5.10. Rangkuman hasil analisis varian (Anova) jumlah sel sertoli dari berbagai perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.339	3	.446	7.042	.002
Within Groups	1.267	20	.063		
Total	2.606	23			

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Hasil uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr pada $p < 0,05$ yaitu sebesar

0,002 dan 0,001. Kelompok pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr dengan kelompok perlakuan 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr terdapat perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,050 dan 0,022 yang dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.5 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatisit

Data jumlah sel spermatisit tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $> 0,05$ yaitu sebesar 0,129 yang dapat dilihat pada lampiran 2, sehingga dapat dilakukan analisis varian (Anova) satu arah. Dari hasil analisis varian (Anova) didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,003 yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan.

Rangkuman hasil analisis varian (Anova) jumlah sel spermatisit diperlihatkan pada tabel 5.11.

Tabel 5.11 Rangkuman hasil analisis data (Anova) jumlah sel spermatisit dari berbagai perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	572.312	3	190.771	6.508	.003
Within Groups	586.275	20	29.314		
Total	1158.587	23			

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Hasil uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,15 mg/g BB/hr dan 0,3 mg/g BB/hr pada $p < 0,5$ yaitu sebesar

0,027 dan 0,000, sedangkan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,075 mg/g BB/hr tidak berbeda bermakna. Kelompok pemberian nifedipin 0,075 mg/g BB/hr dengan kelompok perlakuan 0,3 mg/g BB/hr terdapat perbedaan yang bermakna $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,007 yang dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.6 Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatid

Data jumlah sel spermatid tersebut dilakukan uji normalitas data dan didapatkan distribusi data adalah normal. Selanjutnya dilakukan *test homogeneity of variance* dan didapatkan *significant level* nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0,009 yang dapat dilihat pada lampiran 2, sehingga tidak dapat dilakukan uji analisis varian (Anova) satu arah tetapi dilakukan uji T. Rangkuman hasil uji T jumlah sel spermatid dapat diperlihatkan pada tabel 5.12. yang dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil uji T menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,3 mg/g BB/hr pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,008, sedangkan kelompok pemberian nifedipin dosis 0,15 mg/g BB/hr tidak berbeda bermakna. Kelompok pemberian nifedipin dosis 0,75 mg/g BB/hr dengan kelompok perlakuan 0,3 mg/g BB/hr terdapat perbedaan yang bermakna pada $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,040 yang dapat dilihat pada lampiran 2.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Pemberian Nifedipin terhadap berat testis dan diameter tubulus seminiferus.

Hasil penelitian tentang pengaruh pemberian nifedipin pada berat testis dan diameter tubulus seminiferus menunjukkan adanya perbedaan penurunan yang nyata. Uji anova pada keempat kelompok didapatkan perbedaan yang signifikan, hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis nifedipin yang diberikan semakin mengecil berat testis dan diameter tubulus seminiferusnya. Lee *et.al* (2006) melaporkan bahwa pemberian nifedipin secara injeksi peritoneal selama 7-18 hari pada mencit dewasa dapat menurunkan berat testis secara signifikan. Menurunnya diameter tubulus seminiferus dapat disebabkan karena nifedipin dapat mempengaruhi membrana basalis, epitel dan lumen tubulus seminiferus. Turner-Bagnara (1988) melaporkan bahwa tubulus seminiferus terdiri dari membrana basalis, epitel dan lumen sehingga apabila terjadi penurunan di antara ketiga bagian tersebut maka akan menurunkan diameter tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus merupakan bagian utama penyusun testis selain jaringan ikat dan pembuluh darah testis. Di dalam tubulus seminiferus akan diproduksi spermatozoa sebagai hasil dari pembelahan sel-sel epitel germinalis yang berurutan, membentuk sel-sel baru yang arah perkembangannya menuju ke lumen tubulus seminiferus dimana kemudian akan terbentuk spermatozoa yang bergerak bebas pada lumen tersebut dan berlangsung secara normal bila tidak ada gangguan.

6.2. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel leydig dan sel sertoli

Hasil penelitian tentang pengaruh pemberian nifedipin pada jumlah sel leydig dan sel sertoli menunjukkan perbedaan penurunan yang nyata. Uji anova pada keempat kelompok didapatkan perbedaan yang signifikan, hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis nifedipin yang diberikan semakin menurun jumlah sel leydig dan jumlah sel sertolinya. Hal ini berarti fungsi sel Leydig sebagai penghasil testosteron terbesar dalam tubuh terpengaruh oleh pemberian nifedipin begitu juga halnya dengan sel sertoli. Ganong (2001) menyatakan bahwa fungsi utama sel sertoli yang dipengaruhi hormon testosteron antara lain adalah mendorong sintesis ABP, inhibin, glikoprotein dan metabolisme energi untuk menghasilkan asam laktat yang merupakan salah satu sumber utama sel-sel spermatogenik. Sel sertoli merupakan sel pendukung dan pemberi nutrisi bagi sel-sel spermatogenik, sehingga apabila terjadi gangguan pada sel sertoli akan mengakibatkan terjadinya hambatan perkembangan sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus.

6.3. Pengaruh pemberian nifedipin terhadap jumlah sel spermatogenik

Hasil penelitian tentang pengaruh pemberian nifedipin pada jumlah spermatosit dan spermatid menunjukkan adanya perbedaan penurunan yang nyata. Uji anova pada keempat kelompok didapatkan perbedaan yang signifikan pada penurunan jumlah spermatosit. Uji T pada kelompok dengan pemberian nifedipin 0,3 mg/gBB menunjukkan perbedaan yang signifikan pada penurunan jumlah spermatid.

Pemberian zat tertentu dapat mempengaruhi proses spermatogenesis sehingga dapat terjadi gangguan pada saat pembelahan atau perkembangan dari sel germinalis sampai menjadi spermatozoa. Terganggunya proses spermatogenesis secara histologis dapat dilihat dari jumlah dan ukuran sel-sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus yang berkurang jumlah dan ukurannya, terputusnya perkembangan sel pada salah satu tahapan dan terjadinya pelepasan sel-sel germinalis.

Menurunnya jumlah sel spermatogenik (spermatosit dan spermatid) yang disebabkan karena pemberian nifedipin secara oral menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis yang ditandai dengan berkurangnya jumlah sel spermatosit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Barbarino *et.al* (2007) melaporkan bahwa Ca^{2+} dapat mempengaruhi GnRH dalam melepaskan hormon FSH dan LH. Hasil dari laporan ini menunjukkan bahwa Nifedipin yang merupakan salah satu kalsium antagonis mampu menghambat pelepasan gonadotropin dan juga pelepasan FSH dan LH. Sebaliknya BK 8644 yang merupakan kalsium agonis dapat meningkatkan pelepasan hormon FSH dan LH. Juga dilaporkan bahwa hambatan pelepasan FSH dan LH sebagai akibat pemberian etosuksimid yang merupakan preparat kalsium antagonis dapat menyebabkan terhambatnya proses spermatogenesis (Lee *et.al.*,2006). FSH, LH dan hormon testosteron diperlukan pada proses spermatogenesis baik secara kualitatif maupun kuantitatif, sehingga penurunan hormon ini dapat menyebabkan hambatan proses spermatogenesis

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

1. Pemberian Nifedipin dosis 0,15 mg/gBB dan 0,3 mg/g BB dapat menurunkan berat testis secara bermakna
2. Pemberian Nifedipin dosis 0,075 mg/gBB dan 0,3 mg/gBB dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus secara bermakna
3. Pemberian Nifedipin dosis 0,075 mg/gBB, 0,15mg/gBB dan 0,3 mg/g BB dapat menurunkan jumlah sel leydig secara bermakna
4. Pemberian Nifedipin dosis 0,15mg/gBB dan 0,3mg/gBB dapat menurunkan jumlah sel sertoli secara bermakna
5. Pemberian Nifedipin dosis 0,15 mg/gBB dan 0,3 mg/gBB dapat menurunkan jumlah sel spermatosit secara bermakna
6. Pemberian Nifedipin dosis 0,3mg/gBB dapat menurunkan jumlah sel spermatid secara bermakna

7.2. Saran:

1. Melakukan pemeriksaan kualitas dan kuantitas sel spermatozoa akibat pemberian nifedipin
2. Melakukan penelitian pengaruh nifedipin pada proses ovulasi hewan coba betina

DAFTAR PUSTAKA

- Armitage D, 2004. *Mus musculus*. Animal Diversity Web.
- Barbarino A, Marinis LD, Mancini A, 2007. Calcium Antagonis and Hormone Release.
- Bevelander G, and Ramaley A, 1988. *Histologi Dasar*. Edisi ke-8. Penerbit Erlangga. Jakarta. hlm 340-363.
- Bloom dan Fawcett, 2002. *Buku Ajar Histologi*. Edisi ke-12. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 687-730.
- Burgos, MH and Chupps PT, 1997. Sperm Motility in The Epididimis. *J Fertility and Sterility*, vol 25 No 11. hlm 985-990.
- Catt KJ and Dufau ML, 1991 *Gonadotropic Hormones : Biosintesis, Secretion, Receptors and Actions*. In (Yen SSC, Jaffe RB, eds). *Reproductive Endocrinology 3rd Ed*, USA : WB Saunders Company, pp 112-116.
- Costanzo LS, 2006. *Physiology*. In *Reproductive Physiology, 3rd Ed*, Saunders, pp 441-449.
- Delman HT, Brown EM, 1978. *Textbook of Veterinary Histology*. Lea and Febiger. Philadelphia, pp 282-334.
- De Jonge CJ, Barratt LR, 2006. *The Sperm Cell Production, Maturation, Fertilization, Regeneration*. Cambridge University Press, pp 108-125.
- Donald's Mc, 2003. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 5th Ed. Iowa State Press, pp 239-255.
- Eroschenko VP, 2003. *Atlas Histologi di Fiore*. Edisi ke-9. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 279-295.
- Frandsen RD, Wilke WF, Fails AD, 1992. *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. 6th Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, pp 380-385.
- Ganong WF, 1993. *Review of Medical Physiology*. 16th Ed. Prentice Hall Inc. New Jersey, pp 70,118,184,192-193.

- Ganong WF. 2001. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi ke-20. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 408-414.
- Guyton MD, 1996. Textbook of Medical Physiology. 9th Ed. WB Saunders Company, pp1003- 1013.
- Guyton AC, 2000. Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 565-575.
- Hafez B, Hafez ESE, 1993. Reproduction of Farm Animals. 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp 96-107.
- Jagannathan S, Publicover SJ, Barratt LR, 2002. Voltage Operated Calcium Channels in Male Germ cells.
- Junqueira LC, Carneiro J dan Kelley RO 1997 Histologi Dasar. Edisi ke-8. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 418-433.
- Katzung B,1995. Farmakologi Dasar Dan Klinik. Edisi ke-3. alih Bahasa Kotuabulun B. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm156-159.
- Katzung B, Trevor AJ, Masters SB, 2008. Pharmacology, 8th Ed, Mc Graw Hill, pp 93-99.
- Kusumawati D, 2003. Bahan Ajar tentang Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, hlm11-20,22,67,87.
- Leeson CR, Leeson TS dan Paparo AA, 1997. Buku Ajar Histologi. Edisi ke-6. Alih Bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 511-533.
- Lee JH, Kim H, Kim DH, Gye MC, 2006. Effect of Calcium Channel Blockers on Spermatogenesis and Gene Expression in Peripubertal Mouse Testis. Archives of Andrology, vol 52 pp 311-318.
- Meacham RB, 2006. The Effect of Calcium Channel Blokera on Male Reproductive Potential. Journal of andrology, vol 27.
- Neischlag E, Behre HM, 2001. Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction, 2nd Ed. Springer, pp 26-38.

- O'Toole CM, Arnoult C, Darszon A., Steinhardt RA, Florman HM, 2000. Ca²⁺ Entry Through Store Operated Channels in Mouse Sperm is Initiated by Egg ZP3 and Drives The Acrosom Reaction. *Molecular Biology of The Cell* 11, pp 1511-1584.
- Plant TM, and Marshall GR, 2001. The Functional Significance of FSH in Spermatogenesis and the Control of Its Secretion in Male Primates, pp 764-786.
- Rahayu S, 1994. Aktivitas Antiinfertilitas Ekstrak Buah *Avicenia Marina* (Forsk) Vierh dan Pengaruhnya terhadap Perkembangan Embrio pada Mencit. Thesis Unair. Surabaya. hlm 19-25.
- Raugh R, 1968. *The Mouse. Its Reproduction and Development*. Burgess Publishing Co. Mineapolis. pp 7-43.
- Ross MH, and Reith EJ, 1985. *Histology. A Text and Atlas*. Practice Hall Inc. New York.
- Sadler TW, 2006. *Gametogenesis. Embriologi Kedokteran Langman 10th Ed*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 11-28.
- Setiawati R, Bustami ZS, 1995. *Antihipertensi Farmakologi dan Terapi*, edisi 4, hlm 340-342.
- Silverthorn DU, 2001. *Human Physiology An Integrated Approach, 2nd Ed*. Pearson Education Inc. Publisng as Benjamin Cummings. San Fransisco, pp 740-74
- Thwaites JC, And Hannan GD, 1989. The Effect Frequency of Ejaculation Under Nutrition on The Size and Tone of The Rams Testis. *Animal Reproduction Science*. Elsevier Science Publisers. Amsterdam. Vol. 19 : 29-35.
- Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS, 1994. *Reproduction in Human Physiology, The Mechanism of Body Function 6th Ed*. New York : McGraw-Hill Inc, pp 648-661.
- Whitetaker M, 2006. Calcium at Fertilization and in Early Development. *Physiological Reviews* 86, 25-88.
- Zainuddin A, 2000. *Metode Penelitian*. Program Pasca Sarjana Unair, Surabaya.

Lampiran 1

HASIL PERHITUNGAN DARI BERBAGAI PERLAKUAN

Hasil perhitungan rata-rata berat testis

Replikasi	Kelompok			
	K	P1	P2	P3
1	0,0933	0,0821	0,0701	0,0678
2	0,1053	0,0984	0,0854	0,0823
3	0,0975	0,0896	0,0820	0,0740
4	0,0917	0,0897	0,0877	0,0637
5	0,1044	0,0977	0,0917	0,0886
6	0,0892	0,0766	0,0635	0,0549
Σ	0,5814	0,5341	0,4804	0,4313
Rata-rata	0,097	0,089	0,080	0,072
SD	0,007	0,009	0,011	0,012

Hasil perhitungan rata-rata diameter tubulus seminiferus

Replikasi	Kelompok			
	K	P1	P2	P3
1	0,2038	0,1733	0,1396	0,1475
2	0,1804	0,1725	0,1292	0,1279
3	0,1492	0,1500	0,1542	0,1554
4	0,1904	0,1413	0,1742	0,1428
5	0,1450	0,1404	0,1642	0,1546
6	0,1858	0,1379	0,1321	0,1408
Σ	1,0546	0,9154	0,8935	0,8690
Rata-rata	0,176	0,153	0,149	0,145
SD	0,024	0,016	0,018	0,010

Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel Leydig

Replikasi	Kelompok			
	K	P1	P2	P3
1	35,17	26,00	26,33	23,33
2	34,33	23,67	25,17	23,67
3	30,67	33,33	25,83	24,83
4	39,67	34,83	22,33	23,50
5	31,50	24,33	36,67	24,00
6	38,67	35,50	24,50	19,67
Σ	210,01	177,66	160,83	139,00
Rata-rata	35,002	29,610	26,805	23,167
SD	3,654	5,513	5,030	1,793

Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel Sertoli

Replikasi	Kelompok			
	K	P1	P2	P3
1	1,83	1,33	1,17	1,17
2	1,50	1,33	1,17	1,50
3	1,17	1,67	1,00	1,00
4	1,83	1,83	1,00	0,83
5	1,67	1,33	1,50	0,83
6	2,00	1,17	1,00	1,17
Σ	10,00	8,66	6,84	6,50
Rata-rata	1,667	1,443	1,140	1,083
SD	0,296	0,251	0,195	0,255

Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel spermatisit

Replikasi	Kelompok			
	K	P1	P2	P3
1	60,17	60,17	50,17	47,33
2	50,17	53,50	45,17	45,83
3	49,50	49,83	49,17	44,17
4	70,33	61,50	57,67	42,17
5	62,67	48,50	56,17	45,00
6	58,67	54,50	48,33	47,33
Σ	351,51	328,00	306,68	271,83
Rata-rata	58,585	54,667	51,113	45,305
SD	7,880	5,288	4,823	1,984

Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel spermatid

Replikasi	Kelompok			
	K	P1	P2	P3
1	139,67	122,33	101,17	106,33
2	102,00	114,00	100,33	106,33
3	104,17	108,83	97,83	100,83
4	148,33	137,33	122,67	96,50
5	150,17	104,17	128,17	92,33
6	139,00	100,67	98,33	100,50
Σ	783,34	687,33	648,50	602,82
Rata-rata	130,557	114,555	108,083	100,470
SD	21,756	13,512	13,597	5,492

Lampiran 2

HASIL ANALISIS UJI STATISTIK

Tabel 5.13 Rangkuman hasil uji normalitas data dan *test homogeneity of variance* berat testis dari berbagai perlakuan

A. Uji Normalitas

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Berat testis
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	.084467
	Std. Deviation	.0133103
Most Extreme Differences	Absolute	.138
	Positive	.068
	Negative	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.674
Asymp. Sig. (2-tailed)		.754

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Berat testis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.980	3	20	.422

Langkah 3

DAFTAR ISI

Tabel 2.13 Menganalisis hasil uji homogenitas data dan uji normalitas data

A. Uji Normalitas

NPst Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Test Value	Asymp. Sig. (2-tailed)	Kolmogorov-Smirnov	Normal Q-Q	Monte Carlo	Most Extreme	Distance	Positive	Negative	Mean	Std. Deviation	N
24	.784	.074	.158	.158	.158	.158	.158	.158	.08437	.0107403	24

a. Test distribution is Normal.
b. Critical Value is .158

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Test Value	df1	df2	F	Sig.
24	23	23	0	.992

Tabel 5.14 Rangkuman hasil uji LSD berat testis dari berbagai perlakuan

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**Dependent Variable: Berat testis
LSD

(I) dosis obat	(J) dosis obat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
0,01 ml	0,075 mg	.0078833	.0057108	.183	-.004029	.019796
	0,15 mg	.0168333(*)	.0057108	.008	.004921	.028746
	0,3 mg	.0250167(*)	.0057108	.000	.013104	.036929
0,075 mg	0,01 ml	-.0078833	.0057108	.183	-.019796	.004029
	0,15 mg	.0089500	.0057108	.133	-.002963	.020863
	0,3 mg	.0171333(*)	.0057108	.007	.005221	.029046
0,15 mg	0,01 ml	-.0168333(*)	.0057108	.008	-.028746	-.004921
	0,075 mg	-.0089500	.0057108	.133	-.020863	.002963
	0,3 mg	.0081833	.0057108	.167	-.003729	.020096
0,3 mg	0,01 ml	-.0250167(*)	.0057108	.000	-.036929	-.013104
	0,075 mg	-.0171333(*)	.0057108	.007	-.029046	-.005221
	0,15 mg	-.0081833	.0057108	.167	-.020096	.003729

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.15 Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* diameter tubulus seminiferus dari berbagai perlakuan**A. Uji Normalitas****NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Diameter tubulus
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	.155521
	Std. Deviation	.0205760
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.169
	Negative	-.090
Kolmogorov-Smirnov Z		.828
Asymp. Sig. (2-tailed)		.499

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data

Table 3.14 Post Hoc Test (t) for the difference between groups

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Standard Variable: Gestalt test

1-11

Differences (I, J)	Mean Difference (I, J)	95% Confidence Interval		Sig.	Lower Bound	Upper Bound
		Lower Bound	Upper Bound			
0.01 ml	0.07893	-0.07106	0.22897	.183	-0.07106	0.22897
0.15 mg	0.08833(7)	-0.07106	0.24767	.008	-0.07106	0.24767
0.3 mg	0.08047(7)	-0.07106	0.23200	.000	-0.07106	0.23200
0.01 ml	-0.07893	-0.22897	0.07106	.183	-0.22897	0.07106
0.15 mg	0.08833(7)	-0.07106	0.24767	.008	-0.07106	0.24767
0.3 mg	0.08047(7)	-0.07106	0.23200	.000	-0.07106	0.23200
0.01 ml	0.07893	0.22897	0.07106	.183	0.22897	0.07106
0.15 mg	0.08833(7)	0.07106	0.24767	.008	0.07106	0.24767
0.3 mg	0.08047(7)	0.07106	0.23200	.000	0.07106	0.23200

The mean difference is significant at the .05 level.

Table 3.15 Post Hoc Test (t) for the difference between groups

Multiple Comparisons

Post Hoc Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

Statistic	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kolmogorov-Smirnov Z	.821
Most Extreme Difference	.181
Positive	.181
Negative	.181
Normal Quantiles	
Mean	1.8823
Std. Deviation	1.20279
N	24

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter tubulus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.212	3	20	.118

Tabel 5.16 Rangkuman hasil uji LSD diameter tubulus seminiferus dari berbagai perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter tubulus
LSD

(I) dosis obat	(J) dosis obat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0,01 ml	0,075 mg	.0232000(*)	.0102297	.035	.001861	.044539
	0,15 mg	.0268500(*)	.0102297	.016	.005511	.048189
	0,3 mg	.0309333(*)	.0102297	.007	.009595	.052272
0,075 mg	0,01 ml	-.0232000(*)	.0102297	.035	-.044539	-.001861
	0,15 mg	.0036500	.0102297	.725	-.017689	.024989
	0,3 mg	.0077333	.0102297	.458	-.013605	.029072
0,15 mg	0,01 ml	-.0268500(*)	.0102297	.016	-.048189	-.005511
	0,075 mg	-.0036500	.0102297	.725	-.024989	.017689
	0,3 mg	.0040833	.0102297	.694	-.017255	.025422
0,3 mg	0,01 ml	-.0309333(*)	.0102297	.007	-.052272	-.009595
	0,075 mg	-.0077333	.0102297	.458	-.029072	.013605
	0,15 mg	-.0040833	.0102297	.694	-.025422	.017255

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.17 Rangkuman hasil uji normalitas data dan *test homogeneity of variance* jumlah sel Leydig dari berbagai perlakuan

A. Uji Normalitas

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah sel Leydig
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	28.6458
	Std. Deviation	5.93343
Most Extreme Differences	Absolute	.235
	Positive	.235
	Negative	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		1.152
Asymp. Sig. (2-tailed)		.141

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah sel Leydig

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.099	3	20	.050

Tabel. 5.18 Rangkuman hasil uji LSD jumlah sel leydig dari berbagai perlakuan

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**Dependent Variable: Jumlah sel Leydig
LSD

(I) dosis obat	(J) dosis obat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0,01 ml	0,075 mg	5.39167(*)	2.45395	.040	.2728	10.5105
	0,15 mg	8.19667(*)	2.45395	.003	3.0778	13.3155
	0,3 mg	11.83500(*)	2.45395	.000	6.7161	16.9539
0,075 mg	0,01 ml	-5.39167(*)	2.45395	.040	-10.5105	-.2728
	0,15 mg	2.80500	2.45395	.267	-2.3139	7.9239
	0,3 mg	6.44333(*)	2.45395	.016	1.3245	11.5622
0,15 mg	0,01 ml	-8.19667(*)	2.45395	.003	-13.3155	-3.0778
	0,075 mg	-2.80500	2.45395	.267	-7.9239	2.3139
	0,3 mg	3.63833	2.45395	.154	-1.4805	8.7572
0,3 mg	0,01 ml	-11.83500(*)	2.45395	.000	-16.9539	-6.7161
	0,075 mg	-6.44333(*)	2.45395	.016	-11.5622	-1.3245
	0,3 mg	-3.63833	2.45395	.154	-8.7572	1.4805

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.19 Rangkuman hasil uji normalitas data, *tes homogeneity of variance* jumlah sel sertoli dari berbagai perlakuan**A. Uji Normalitas****NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Jumlah sel sertoli
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	1.3333
	Std. Deviation	.33659
Most Extreme Differences	Absolute	.186
	Positive	.186
	Negative	-.097
Kolmogorov-Smirnov Z		.912
Asymp. Sig. (2-tailed)		.376

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah sel sertoli

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.398	3	20	.756

Tabel 5.20 Rangkuman hasil uji LSD sel sertoli dari berbagai perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah sel sertoli
LSD

(I) dosis obat	(J) dosis obat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0,01 ml	0,075 mg	.22333	.14533	.140	-.0798	.5265
	0,15 mg	.52667(*)	.14533	.002	.2235	.8298
	0,3 mg	.58333(*)	.14533	.001	.2802	.8865
0,075 mg	0,01 ml	-.22333	.14533	.140	-.5265	.0798
	0,15 mg	.30333(*)	.14533	.050	.0002	.6065
	0,3 mg	.36000(*)	.14533	.022	.0569	.6631
0,15 mg	0,01 ml	-.52667(*)	.14533	.002	-.8298	-.2235
	0,075 mg	-.30333(*)	.14533	.050	-.6065	-.0002
	0,3 mg	.05667	.14533	.701	-.2465	.3598
0,3 mg	0,01 ml	-.58333(*)	.14533	.001	-.8865	-.2802
	0,075 mg	-.36000(*)	.14533	.022	-.6631	-.0569
	0,15 mg	-.05667	.14533	.701	-.3598	.2465

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.21 Rangkuman hasil uji normalitas data, *test homogeneity of variance* jumlah sel spermatozoa dari berbagai perlakuan

A. Uji Normalitas

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah sel spermatozoa
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	52.4175
	Std. Deviation	7.09742
Most Extreme Differences	Absolute	.208
	Positive	.208
	Negative	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		1.017
Asymp. Sig. (2-tailed)		.252

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah sel spermatozoa

Levene Statistic	Df1	df2	Sig.
2.129	3	20	.129

Tabel 5.22 Rangkuman hasil uji LSD sel spermatis dari berbagai perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah sel spermatisit
LSD

(I) dosis obat	(J) dosis obat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0,01 ml	0,075 mg	3.91833	3.12590	.224	-2.6022	10.4388
	0,15 mg	7.47167(*)	3.12590	.027	.9512	13.9922
	0,3 mg	13.28000(*)	3.12590	.000	6.7595	19.8005
0,075 mg	0,01 ml	-3.91833	3.12590	.224	-10.4388	2.6022
	0,15 mg	3.55333	3.12590	.269	-2.9672	10.0738
	0,3 mg	9.36167(*)	3.12590	.007	2.8412	15.8822
0,15 mg	0,01 ml	-7.47167(*)	3.12590	.027	-13.9922	-.9512
	0,075 mg	-3.55333	3.12590	.269	-10.0738	2.9672
	0,3 mg	5.80833	3.12590	.078	-.7122	12.3288
0,3 mg	0,01 ml	-13.28000(*)	3.12590	.000	-19.8005	-6.7595
	0,075 mg	-9.36167(*)	3.12590	.007	-15.8822	-2.8412
	0,15 mg	-5.80833	3.12590	.078	-12.3288	.7122

The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 5.12 Uji normalitas data, *test homogeneity of variance* dan *T-test* jumlah spermatis dari berbagai perlakuan

A. Uji Normalitas

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah sel spermatis
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	113.4163
	Std. Deviation	17.81742
Most Extreme Differences	Absolute	.238
	Positive	.238
	Negative	-.130
Kolmogorov-Smirnov Z		1.166
Asymp. Sig. (2-tailed)		.132

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah sel spermatid

Levene Statistic	Df1	df2	Sig.
5.018	3	20	.009

C. Uji T

T-TEST

```
GROUPS = dosis(1 2)
/MISSING = ANALYSIS
/VARIABLES = Jmlspermatid
/CRITERIA = CI(.95) .
```

T-Test

Group Statistics

	dosis obat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah sel spermatid	0,01 ml	6	130.5567	21.75618	8.88192
	0,075 mg	6	114.5550	13.51204	5.51627

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Jumlah sel spermatid	Equal variances assumed	3.076	.110	1.530	10	.157	16.00167	10.45551	-7.29467	39.29800
	Equal variances not assumed			1.530	8.358	.163	16.00167	10.45551	-7.93036	39.93369

T-TEST

```

GROUPS = dosis(1 3)
/MISSING = ANALYSIS
/VARIABLES = Jml spermatid
/CRITERIA = CI(.95) .

```

T-Test**Group Statistics**

	dosis obat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah sel spermatid	0,01 ml	6	130.5567	21.75618	8.88192
	0,15 mg	6	108.0833	13.59714	5.55101

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Jumlah sel spermatid	Equal variances assumed	2.871	.121	2.146	10	.057	22.47333	10.47389	-.86394	45.81060
	Equal variances not assumed			2.146	8.389	.063	22.47333	10.47389	-1.48595	46.43262

T-TEST

```

GROUPS = dosis(1 4)
/MISSING = ANALYSIS
/VARIABLES = Jmlspermatid
/CRITERIA = CI(.95) .

```

Group Statistics

	dosis obat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah sel spermatid	0,01 ml	6	130.5567	21.75618	8.88192
	0,3 mg	6	100.4700	5.49236	2.24225

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Jumlah sel spermatid	Equal variances assumed	15.019	.003	3.284	10	.008	30.08667	9.16058	9.67562	50.49771
	Equal variances not assumed			3.284	5.635	.018	30.08667	9.16058	7.31456	52.85877

T-TEST

```
GROUPS = dosis(2 3)
/MISSING = ANALYSIS
/VARIABLES = Jmlspermatid
/CRITERIA = CI(.95) .
```

Group Statistics

	dosis obat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah sel spermatid	0,075 mg	6	114.5550	13.51204	5.51627
	0,15 mg	6	108.0833	13.59714	5.55101

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Jumlah sel spermatid	Equal variances assumed	.137	.719	.827	10	.428	6.47167	7.82579	-10.96527	23.90861
	Equal variances not assumed			.827	10.000	.428	6.47167	7.82579	-10.96537	23.90870

T-TEST

GROUPS = dosis(2 4)
 /MISSING = ANALYSIS
 /VARIABLES = Jmlspermatid
 /CRITERIA = CI(.95) .

Group Statistics

	dosis obat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah sel spermatid	0,075 mg	6	114.5550	13.51204	5.51627
	0,3 mg	6	100.4700	5.49236	2.24225

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
Jumlah sel spermatid	Equal variances assumed	3.297	.099	2.365	10	.040	14.08500	5.95457	.81739	27.35261
	Equal variances not assumed			2.365	6.608	.052	14.08500	5.95457	-.16626	28.33626

T-TEST

GROUPS = dosis(3 4)
 /MISSING = ANALYSIS
 /VARIABLES = Jml spermatid
 /CRITERIA = CI(.95) .

Group Statistics

	dosis obat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Jumlah sel spermatid	0,15 mg	6	108.0833	13.59714	5.55101
	0,3 mg	6	100.4700	5.49236	2.24225

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t		df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower	Upper					Lower	Upper
Jumlah sel spermatis	Equal variances assumed	9.643	.011	1.272	10	.322	7.61333	5.98677	-5.72602	20.95268	
	Equal variances not assumed			1.272	6.589	.247	7.61333	5.98677	-6.72396	21.95063	

Lampiran 3

PERHITUNGAN DOSIS NIFEDIPIN

Perhitungan dosis Nifedipin (Kusumawati,2003) :

Faktor konversi dengan berat badan 20 gram : 0,0026

Dosis Nifedipin pada manusia 3 x 10-30 mg/hari

Dosis Nifedipin pada mencit dengan berat badan 20 mg = 0,075 mg

Dari dosis ini dinaikkan lagi menjadi 0,15 mg/ BB/hr dan 0,3 mg/ g BB/hr.

Volume obat yang diberikan 1 gram BB setara dengan 0,01 ml.

Cara pengenceran Nifedipin dalam penelitian ini adalah :

- 500 mg CMC dilarutkan dalam aquadest dengan volume 100 ml (larutan CMC)
- 50 mg Nifedipin dilarutkan dalam 66,5 ml larutan CMC

Cara pengoplosan Nifedipin dalam penelitian ini :

- a. Untuk dosis 0,075 mg /g BB/ hr
Larutan Nifedipin 0,1 ml diberikan per oral
- b. Untuk dosis 0,15 mg /g BB/hr
Larutan Nifedipin 0,2 ml diberikan per oral
- c. Untuk dosis 0,3 mg /g BB/hr
Larutan Nifedipin 0,4 ml diberikan peroral

Lampiran 4

PEMBUATAN SEDIAAN HISTOLOGI TESTIS

1. *Washing*

Organ testis dimasukkan dalam larutan alkohol 70% yang mengandung litium karbonat *overnight*.

2. *Dehidrasi*

Organ testis berturut-turut dimasukkan dalam alkohol 70% (selama 4x30 menit), alkohol 80% (2x30 menit), alkohol 90% (1x30 menit) dan terakhir alkohol absolut 1x30 menit

3. *Clearing*

Organ testis berturut-turut dimasukkan dalam xylol bekas (selama 15 menit) dan xylol murni (*overnight*), kemudian dilanjutkan dengan proses infiltrasi yaitu dengan memasukkan organ testis berturut-turut pada xylol; parafin 1:1 (selama 30 menit), parafin murni I (1jam), parafin murni II (1 jam), terakhir parafin murni III (1 jam).

4. *Embedding*

Dari parafin III di atas, lalu dibuat blok-blok parafin dengan cara memasukkan parafin cair III ke dalam kotak-kotak kecil dan organ dimasukkan ke dalamnya, kemudian dibiarkan hingga dingin dan mengeras.

5. *Sectioning*

Spesimen dipotong dengan ketebalan 4 μ m menggunakan mikrotomi hingga membentuk pita. Pita disusun dalam gelas obyek (*affixing*) yang

sebelumnya diolesi dengan Mayer's Albumin. Setelah pita melekat, dimasukkan dalam oven bersuhu 40-50°C *overnight*.

6. *Staining*

Setelah dioven, preparat dimasukkan dalam xylol selama (2x10 menit), lalu berturut-turut dimasukkan dalam etanol absolut, etanol 96%, etanol 80% dan etanol 70%, masing-masing selama 15 menit. Lalu dimasukkan ke dalam larutan hematoksilin (10 menit). Sediaan kemudian digelontorkan ke dalam air mengalir, kemudian dimasukkan dalam etanol 70% + HCL selama 5-10 detik, kemudian dimasukkan ke dalam eosin (5 menit). Kemudian berturut-turut dimasukkan dalam etanol 70%, 80%, 90% masing-masing selama 5 menit dan dimasukkan dalam xylol 2x10 menit. Setelah itu gelas penutup diberi perekat transparan berupa entellan (*mounting*) dan terakhir preparat diberi label.



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 14/EC/KEPK/FKUA/2009

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

Pengaruh Pemberian Nifedipin Per Oral Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus dan Sel Spermatogenik pada Mencit (Mus Musculus) Jantan

PENELITI UTAMA :

dr. Ernawati

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

Laboratorium Biologi Reproduksi Fakultas Sains dan Teknologi Unair

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Surabaya, 4 September 2009



M. Sajid Darmadipura
Prof. M. Sajid Darmadipura, dr., SpS, SpBS