



UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo, 47 Surabaya 60132 Telp. (031) 5020251 Fax (031) 5022472

Laman : <https://fk.unair.ac.id> , e-mail : dekan@fk.unair.ac.id

SURAT KETERANGAN DEKAN

No.0774/UN3.1.1/KP/2022

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Prof. Dr. H.Budi Santoso, dr, SpOG(K)
NIP : 196302171989111001
Pangkat/Golongan Ruang : Pembina Utama / IV-e
Jabatan : Dekan / Guru Besar
Unit Organisasi : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Menerangkan bahwa:

Nama : Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si.
NIP : 196505221997021001
Pangkat/Golongan Ruang : Pembina - IVa / 01-04-2022
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala / 01-04-2019
Unit Kerja : Departemen Anatomi Histologi dan Farmakologi FK UNAIR

Telah melaksanakan kegiatan pendidikan dan pengajaran sebagai **Pembimbing** pada Mahasiswa Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. (Daftar Terlampir).

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 7 Juli 2022

Dekan

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Dr. H.Budi Santoso, dr, SpOG(K)

NIP. 196302171989111001

LAMPIRAN : Surat Keterangan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

No.0774/UN3.1.1/KP/2022 Tanggal 7 Juli 2022

Tentang Staf Pengajar Departemen Anatomi Histologi dan Farmakologi yang diberi tugas melaksanakan kegiatan Pendidikan dan Pengajaran sebagai **Pembimbing** pada Mahasiswa Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Staf Pengajar	Nama Mahasiswa	Prodi	Judul
Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si. NIP. 197009151998022001 Pembina - IV a Lektor Kepala	Pembimbing Utama		
	Halimatus Zahrah Nim. 011614253004	Ilmu Kedokteran Tropis	Aktifitas Anti Bakteri Dan Perubahan Struktur Dinding Sel Dari Propionibacterium Acnes Setelah Pemberian Ekstrak Curcuma Xanthorrhiza Roxb.
	Pembimbing Pendamping		
	Goni Oktanti Nim. 011714653014	Ilmu Kesehatan Reproduksi	Pengaruh Aiprazoiam Terhadap Kadar Mda Testis Dan Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus Musculus) Model Stres Kronis
	Devitya Angielevi Sukarno Nim. 011614153016	Ilmu Kedokteran Dasar	Pengaruh Ekstrak Etanol Seledri (Apium Graveolens) Terhadap Glukosa Darah Puasa (Gdp), Homa-Ir, Dan Ekspresi Glut-4 Otot Rangka (Studi Pada Hewan Coba)
Fedelita Aistania Putri Nim. 011714653006	Ilmu Kesehatan Reproduksi	Pengaruh Aiprazoiam Terhadap Jumlah Sel Leydig, Jumlah Sel Spermatogenik Dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit Mus Musculus Model Stres Kronis	

Surabaya, 7 Juli 2022

Dekan

Fakultas Kedokteran UNAIR



Prof. Dr. H. Budi Santoso, dr, SpOG(K)

NIP. 196302171989111001

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING
SEL DARI *PROPIONIBACTERIUM ACNES* SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK *CURCUMA XANTHORRIZA* Roxb.**



**HALIMATUS ZAHRAH
NIM. 011614253004**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2019**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING
SEL DARI *PROPIONIBACTERIUM ACNES* SETELAH PEMBERIAN
EKSTRAK *CURCUMA XANTHORRIZA Roxb.***

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

HALIMATUS ZAHRAH

NIM. 011614253004

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2019

Lembar Pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI UNTUK DIUJI
PADA TANGGAL 11 JULI 2019**

Oleh

Pembimbing I

Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si
NIP. 19700915 199802 2 001

Pembimbing II

Kartuti Debora, dr., M.S., Sp.MK(K)
NIP. 19500625 197802 2 001

Mengetahui

**Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

Dr. Juniastuti, dr., M.Kes.
NIP. 19710624 199802 2 001

Penetapan Panitia Penguji Tesis

Tesis tesis ini telah diuji dan dinilai
Oleh panitia penguji pada
Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal, 11 Juli 2019

Panitia penguji,

1. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si
2. Kartuti Debora, dr., M.S., Sp.MK(K)
3. Dr. Juniastuti, dr., M.Kes
4. Dr. Pudji Lestari, dr., M.Kes
5. Diah Mira Indramaya, dr. Sp.KK, FINSDV

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah S.W.T. atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan peneliti dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Tesis dengan judul “Aktivitas Antibakteri dan Perubahan Struktur Dinding Sel dari *Propionibacterium acnes* Setelah Pemberian Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.” ini dengan lancar. Penulis dalam proses penelitian dan penulisan Tesis ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan dan doa dari berbagai pihak, oleh karena itu Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si., selaku pembimbing I dan Ibu Kartuti Debora, dr., M.S., Sp.MK(K) selaku pembimbing II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dengan penuh perhatian membimbing, mengarahkan penelitian, dan memberikan ide-ide berharga kepada penulis dalam penyusunan tesis ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan karunia-Nya kepada beliau.

Tim penguji Dr. Juniastuti, dr., M.Kes., Dr. Pudji Lestari, dr., M.Kes., dan Diah Mira Indramaya, dr. Sp.KK, FINSVDV selaku penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan penelitian dan Tesis.

Dr. Juniastuti, dr., M.Kes., yang juga selaku ketua jurusan Ilmu Kedokteran Tropis (IKT) yang telah memberikan dukungan dan pengarahan kepada penulis. Tim laboratorium instalasi Mikrobiologi Klinik RS. Dr. Soetomo Surabaya dan Tim di UPT. Mikroskop Elektron FK Unair Surabaya, yang telah banyak memberi bantuan teknis dalam pelaksanaan penelitian.

Ayah, Ibu, Suami serta buah hati dan semua keluarga besar yang senantiasa memberikan doa dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian dan Tesis ini demi masa depan yang lebih baik.

Rekan-rekan seperjuangan di IKT Unair yang ikut membantu dan mendukung penulis selama kuliah hingga menyelesaikan Tesis. Semoga segala kerjasamanya dibalas oleh Allah SWT.

Semoga Tesis ini bermanfaat bagi semua pihak dan pengembangan ide selanjutnya. Amin

Surabaya, 11 Juli 2019

Penulis

RINGKASAN

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN PERUBAHAN STRUKTUR DINDING SEL DARI *PROPIONIBACTERIUM ACNES* SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK *CURCUMA XANTHORRHIZA Roxb.*

Halimatus Zahrah

Propionibacterium acnes dan *staphylococcus epidermis* adalah mikroba pembentuk nanah yang bertanggung jawab untuk pengembangan berbagai bentuk, akne vulgaris. Meskipun akne vulgaris tidak mengancam kehidupan, namun dapat menyebabkan masalah serius dalam kondisi sosial dan psikologis penderita. Akne vulgaris (jerawat) di kawasan Asia Tenggara mencapai 40-80%, kasus dari seluruh populasi (Afriyanti, 2015). Berdasarkan *Indonesian Acne Expert Meeting 2015*, Akne vulgaris menempati urutan ketiga penyakit terbanyak dari jumlah pengunjung Poli Kesehatan Kulit dan Kelamin di rumah sakit maupun klinik kulit. Prevelansi tertinggi yaitu pada umur 14-17 tahun, dimana pada wanita berkisar 83-85% dan pada pria pada umur 16-19 tahun berkisar 95-100% (Wasitaatmadja, 2015). Penatalaksanaan utama pada masalah akne vulgaris adalah penggunaan antibiotik baik topikal maupun oral. Akan tetapi penggunaan antibiotik dinilai telah menimbulkan dugaan resistensi terhadap *P. acnes* sebagai *agent* penyebab akne sehingga mendorong berbagai pihak untuk mengembangkan preparat antiinflamasi yang dapat diberikan topikal ataupun sistemik.

Curcuma xanthorrhiza Roxb. memiliki senyawa utama *xanthorrhizol* yang dinilai potensial untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Kandungan potensial sebagai antibakteri yang dimiliki oleh *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* adalah *flavonoid*. *Flavonoid* merupakan turunan senyawa fenol yang dapat menyebabkan terganggunya integritas dinding dan membran sel bakteri yang dapat dilihat dari perubahan ukuran dan morfologi sel bakteri (Jail, 2008). Hasil penelitian Zaghi (2011) yang melakukan pengamatan struktur dinding sel ketika sel bakteri yang terpapar senyawa fenol menggunakan *Microscope Electron Scanning* (MES) menunjukkan adanya perubahan atau kerusakan struktur dinding sel bakteri akibat terpapar senyawa fenol yaitu perubahan ukuran dan morfologi sel bakteri.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum serta perubahan struktur dinding sel dari *Propionibacterium acnes* setelah pemberian ekstrak *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* terhadap pertumbuhan. Desain penelitian yang di gunakan adalah *eksperimen* dengan sampel *P. acnes* berupa *isolate stock culture* (ATCC[®] 11827[™]) yang selanjutnya ditumbuhkan pada media MHA. Jumlah replikasi yang digunakan sebanyak 4 ulangan. Konsentrasi ekstrak *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* masing-masing 6,25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL dan 100 µg/mL. Pengukuran aktivitas antibakteri didasarkan pada Kadar Hambat Minimum, Kadar Bunuh Minimum dan pengamatan struktur dinding sel bakteri melalui metode

Scanning Electron Microscope (SEM) dan *Transmission Electron Microscope (TEM)*.

Hasil penelitian didapatkan pemberian ekstrak *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*. Konsentrasi ekstrak 50 µg/mL merupakan Kadar Hambat Minimum sekaligus merupakan Kadar Bunuh Minimum bakteri *P. acnes* melalui dilusi cair. Bakteri *P. acnes* yang dipapar dengan ekstrak etanol *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* mengalami perubahan dinding sel berupa timbulnya dinding sel kasar kasar akibat penyusutan serta adanya dinding sel yang hancur sehingga sitoplasma keluar dan tampak seperti meleleh. Respon daya hambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* dipengaruhi oleh senyawa aktif yang terkandung didalamnya seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin, kurkuminoid dan terpenoid. Selain itu kandungan flavonoid mampu merusak dinding sel sehingga menyebabkan kematian sel. Flavonoid juga dapat menghambat pembentukan protein sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.

Meskipun telah terbukti efektifitas ekstrak *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* terhadap *P. acnes*, namun perlu adanya pengujian toksisitas dan uji klinik lebih lanjut untuk mengetahui keamanan dan khasiat nyata dari ekstrak *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* terhadap pertumbuhan bakteri, sebelum diaplikasikan menjadi sediaan fitofarmaka khususnya terhadap permasalahan yang ditimbulkan oleh *P. acnes*.

TESIS

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP KADAR MDA
TESTIS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus
musculus*) MODEL STRES KRONIS**



QONI OKTANTI

NIM 011714653014

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP KADAR MDA
TESTIS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus
musculus*) MODEL STRES KRONIS**

**QONI OKTANTI
NIM 011714653014**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP KADAR MDA
TESTIS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus
musculus*) MODEL STRES KRONIS**

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

**QONI OKTANTI
011714653014**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DIUJI
PADA TANGGAL, 27 JANUARI 2020

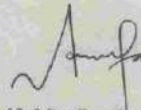
Oleh

Pembimbing I



Dr. Reny I'rishom, M.Si
NIP. 19711023 200212 1 001

Pembimbing II



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si
NIP. 19700915199802 2001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp. OG(K)
NIP. 19560128 198603 1 009

iv

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada
Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada Tanggal : 27 Januari 2020

Panitia Penguji,

Ketua : Dr. Margarita Maria Maramis, dr., Sp. KJ (K)

Anggota : 1. Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes.

2. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes.

3. Dr. Reny I'tishom, M.Si

4. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Tesis

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

Pengaruh Alprazolam terhadap Kadar MDA Testis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Model Stres Kronis

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 27 Januari 2020



Qoni Oktanti

NIM. 011714653014

UCAPAN TERIMA KASIH

Banyak kata tidak bisa dengan lugas diungkapkan, selain bentuk bersyukur atas limpahan rahmat dan karunia ALLAH SWT, indahnya kesempatan yang diberikan pada penulis, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh *alprazolam* terhadap kadar MDA testis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) model stres kronis” dapat selesai penyusunannya.

Ucapan terima kasih, tidak hanya sekedar kata-kata dan penghargaan setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Dr. Reny I'tishom, M.Si, selaku pembimbing I yang dengan penuh perhatian telah mencurahkan waktu dan dukungan moril kepada peneliti dalam memberikan dorongan dan saran terbaik.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya, penulis ucapkan kepada Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si, selaku Pembimbing II, dengan perhatian dan waktu yang disisihkan beliau dalam memberikan bimbingan dan saran merupakan hal yang berharga dalam penyusunan tesis ini.

Terima kasih tak terhingga pada Dr. Margarita Maria Maramis, dr., Sp.KJ(K), Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes., Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., selaku para penguji yang dengan ikhlas meluangkan waktu dan segala pemikiran berharga.

Dengan berakhirnya penyusunan tesis ini, perkenankan penulis untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan.
2. Prof. Dr. Soetojo., dr., Sp.U, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.
3. Bapak Aliyul Qodri, Ibu Zulaicha dan Ibu Ani Mukaya, orang tua penulis, dengan ikhlas mengiringi langkah dengan doa, serta dukungan moril dan finansial. Ananda Ria Puspitasari, Fabrina Indra Rukmana dan Ria Putri Lestari, beserta seluruh saudara dan sahabat yang telah sabar dan setia memotivasi serta menemani hingga membantu proses pembuatan tesis.
4. Koordinator Kota PKH kota Surabaya, seluruh pendamping-APD PKH Kota Surabaya dan tim Srikandi Lakarsantri, mbak Shanaz dan mbak Erma yang telah banyak memberikan kesempatan saya menempuh pendidikan, barakallah.
5. Teman-teman IKR angkatan 2017, spesial kepada rekan penelitian terbaik Fedelita Aistania Putri, Luh Ayu, Intan dan sahabat pejuang tesis mbak Mienna, Risya, Elfrida, Lina, mbak Berlin dan Fitria selalu memberikan arahan dengan lengkap.
6. Petugas laboratorium Biologi kedokteran Pak Budi dan Pak Widodo, petugas laboratorium Biokimia Pak Alfian petugas lab PA Pak Ari dan petugas admin pasca FK, seluruhnya membantu dengan sangat sinergis.

RINGKASAN

PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP KADAR MDA TESTIS DAN KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT (*Mus musculus*) MODEL STRES KRONIS

Qoni Oktanti

Infertilitas adalah masalah sosial yang terjadi pada pasangan suami istri (Sharma *et al*, 2011). Infertilitas menjadi masalah pada 10-15% pasangan suami istri dan menjadi hal penting di bidang klinis (Fritz, 2011). Berdasarkan data WHO, sebesar 51,2% penyebab infertilitas dikarenakan faktor reproduksi pria. Penyebab infertilitas pada pria paling besar diakibatkan oleh gangguan HPA-aksis, yaitu sebesar 20% (Velu *et al*, 2017).

Sistem HPA-aksis dan endokrin mempengaruhi kualitas spermatogenesis (Sharma *et al*, 2011). Salah satu penyebab terjadi gangguan pada HPA aksis dan endokrin adalah stres. Stres secara signifikan meningkatkan kadar MDA dan menurunkan kadar SOD, menunjukkan hubungan yang positif dengan peroksidase lipid. (Myin *et al*, 2017). *Malondialdehyde* (MDA) merupakan produk *aldehyde* yang reaktif dan mutagenik dari peroksidasi lipid dalam cairan seminalis (Colagar *et al*, 2013). Respon stres diketahui dapat mengganggu aktivasi dari hipotalamus dan hipofisis, sehingga hal ini juga dapat memicu hormon reproduksi dan juga produksi testosteron oleh hipofisis anterior yang dikendalikan oleh hipotalamus (Lopez *et al*, 2016).

Alprazolam banyak diresepkan pada pasien dengan gangguan kecemasan karena efek kerjanya yang begitu cepat dan sering menjadi rujukan terapi untuk stres akut. Pada penggunaan *alprazolam* belum ada penelitian lebih lanjut pada efek reproduksi, karena sering digunakan untuk terapi jarak pendek (Ait-daoud *et al*, 2018). Mekanisme kerja dari *alprazolam* mengikuti mekanisme kerja dari *Benzodiazepine*, yaitu melalui sistem saraf pusat sebagai depresan selektif (Amri, 2012).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat perubahan MDA testis dan kualitas spermatozoa dengan indikator motilitas, morfologi dan konsentrasi mencit jantan setelah diberikan paparan stres dengan metode CUMS, kemudian diberi terapi pengobatan *anti anxiety* dosis maksimal dari *alprazolam*. Penelitian ini menggunakan 48 hewan coba mencit (*mus musculus*) jantan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*), dengan pemenuhan kriteria adanya kelompok kontrol (positif dan negatif), kelompok perlakuan dan randomisasi sampel (Armitage, *et al.*, 2002). Hewan coba yang dilakukan dalam penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) galur *Balb-c* yang diambil dari rumah peternakan hewan (*breeder*) kota Malang, di bawah pengawasan dokter hewan Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kota Malang. Penelitian diawali dengan proses aklimatisasi pada hewan coba, kemudian dilakukan randomisasi sampel pada tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K0), hewan coba tidak diberikan perlakuan ataupun obat apapun, kelompok kontrol positif (K1), yaitu hewan coba hanya diberikan perlakuan CUMS selama masa spermatogenesis hingga proses pembedahan saat terminasi. Kelompok

terakhir merupakan kelompok perlakuan (K2), dimana hewan coba diberikan stresor dan diberikan obat *anti anxiety* yaitu *alprazolam* dengan cara sonde lambung.

Hasil penelitian pada kadar MDA testis menunjukkan Kelompok kontrol (K0) dengan rerata $4,33 \pm 4,20$, pada K1 rerata $13,26 \pm 7,66$ dan pada K2 $7,94 \pm 6,22$. Uji beda antar kelompok menggunakan uji *Kruskal-wallis* dan didapatkan nilai $p=0,004$ ($p < 0,05$), dimana ada perbedaan antar kelompok, yaitu antara K0 dan K1 dengan nilai $p=0,001$. Pada analisis data motilitas spermatozoa didapatkan rerata $67,71 \pm 8,28$ pada K0, $54,64 \pm 6,38$ pada K1 dan $53,93 \pm 9,75$ pada K2. Uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p < 0,05$), didapatkan ada perbedaan antara kelompok K0 dan K1 dengan nilai $p=0,000$ dan antara kelompok K0 dan K2 dengan nilai $p=0,000$, sedangkan antara K1 dan K2 tidak ada perbedaan bermakna dengan nilai $p=0,820$. Pada analisis data morfologi spermatozoa didapatkan rerata $52,50 \pm 6,09$ pada K0, $39,93 \pm 5,78$ pada K1 dan $40,00 \pm 8,79$ pada K2. Uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p < 0,05$), didapatkan perbedaan antara kelompok K0 dengan K1 dan K2 dengan nilai $p=0,000$, sedangkan pada K1 dan K2 didapatkan tidak ada perbedaan bermakna dengan $p=0,979$. Pada analisis data konsentrasi spermatozoa, didapatkan rerata $7225000,00 \pm 4170904,255$ pada K0, $7665000,00 \pm 2695397,074$ pada K1 dan $7315714,29 \pm 2881171,541$ pada K2. Uji beda menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan didapatkan nilai $p=0,67$ ($p > 0,05$) yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada konsentrasi spermatozoa antar kelompok

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian *alprazolam* tidak menurunkan kadar MDA testis, motilitas, konsentrasi spermatozoa serta tidak meningkatkan morfologi normal spermatozoa pada mencit (*Mus musculus*) model stres kronis.

SUMMARY**THE EFFECT OF ALPRAZOLAM TO MDA TESTES LEVELS AND SPERMATOZOA QUALITY IN MICE (*Mus musculus*) CHRONIC STRESS MODEL****Qoni Oktanti**

Infertility is a social problem that occurs in married couples (Sharma et al, 2011). Infertility is a problem in 10-15% of married couples and is of clinical importance (Fritz, 2011). Based on WHO data, 51.2% of the causes of infertility are due to male reproductive factors. The biggest cause of infertility in men is caused by HPA-axis disorders, which is 20% (Velu et al, 2017).

The HPA-axis and endocrine systems influence the quality of spermatogenesis (Sharma et al, 2011). One of the causes of disruption in the HPA axis and endocrine is stress (Velu et al, 2017). Stress significantly increases MDA levels and decreases SOD levels, showing a positive relationship with lipid peroxidase. (Myin et al, 2017). Malondialdehyde (MDA) is a reactive and mutagenic aldehyde product from lipid peroxidation in seminal fluid (Colagar et al, 2013). The stress response is known to interfere with activation of the hypothalamus and pituitary, so this can also trigger reproductive hormones and also testosterone production by the anterior pituitary controlled by the hypothalamus (Lopez et al, 2016).

Alprazolam is widely prescribed in patients with anxiety disorders because of its rapid effects and often becomes a therapeutic reference for acute stress. In the use of alprazolam there has been no further research on reproductive effects, because it is often used for short-range therapy (Ait-Daoud et al, 2018). The mechanism of action of alprazolam follows the mechanism of action of Benzodiazepines, it works through the central nervous system as a selective depressant (Amri, 2012).

This study was conducted to see changes in testicular MDA and spermatozoa quality with indicators of motility, morphology and concentration of male mice after being given stress exposure by the CUMS method, then given the maximum dose of anti-anxiety treatment from alprazolam. This study used 48 male mice (*mus musculus*).

This research is a pure experimental study (true experimental), with the fulfillment of the criteria for the control group (positive and negative), the treatment group and randomization of the sample (Armitage, et al., 2002). Experimental animals that were carried out in the study were mice (*Mus musculus*) Balb-c strain taken from Malang city animal breeding house, under the supervision of a veterinarian from the Malang City Agriculture and Food Security Department. The study began with the acclimation process in experimental animals, then randomized samples were carried out in three groups, namely the negative control group (K0), the experimental animals were not given any treatment or medication, the positive control group (K1), ie the experimental animals were only given CUMS treatment during the spermatogenesis to the surgical process at termination. The last group is the treatment group (K2), where the experimental animals were given a stressor and

given an anti anxiety drug that is alprazolam with the trademark alganax maximum dose, which is 4 mg / day given by gastric sonde.

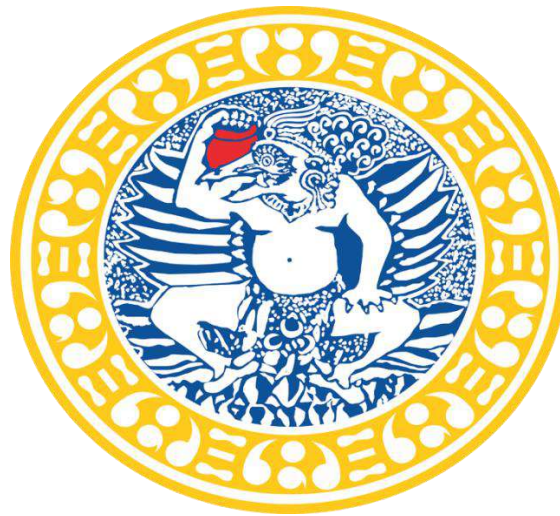
The results of MDA testes showed K0 with a mean of 4.33 ± 4.20 , at K1 averaging 13.26 ± 7.66 and at K2 7.94 ± 6.22 . Different test between groups using the Kruskal-Wallis test and the value of $p = 0.004$ ($p < 0.05$), where there are differences between groups, namely between K0 and K1 with a value of $p = 0.001$. In the analysis of spermatozoa motility data obtained an average of 67.71 ± 8.28 at K0, 54.64 ± 6.38 at K1 and 53.93 ± 9.75 at K2. Different test between groups using the ANOVA test and the value of $p = 0,000$ ($p < 0.05$), there was a difference between groups K0 and K1 with a value of $p = 0,000$ and between groups K0 and K2 with a value of $p = 0,000$, while between K1 and K2 had no significant difference with $p = 0.820$. In the analysis of spermatozoa morphological data, the mean was 52.50 ± 6.09 at K0, 39.93 ± 5.78 at K1 and 40.00 ± 8.79 at K2. Different test between groups using the ANOVA test and p value = $0,000$ ($p < 0.05$), obtained differences between groups K0 with K1 and K2 with $p = 0,000$, while in K1 and K2 there was no significant difference with $p = 0.979$. In the analysis of spermatozoa concentration data, averaged $7225000.00 \pm 4170904.255$ at K0, $7765000.00 \pm 2695397.074$ at K1 and $7315714.29 \pm 2881171.541$ at K2. Different test used the Kruskal-Wallis test and the value of $p = 0.67$ ($p > 0.05$) showed no significant difference in spermatozoa concentration between groups. groups using the Kruskal Wallis test and $p = 0.67$ ($p > 0.05$) was obtained.

The conclusion of this study is the administration of alprazolam can not reduce testicular MDA levels, motility, spermatozoa concentration and does not improve the normal morphology of spermatozoa in mice (*Mus musculus*) chronic stress model.

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL SELEDRI (*Apium graveolens*)
TERHADAP GLUKOSA DARAH PUASA (GDP), HOMA-IR DAN
EKSPRESI GLUT-4 OTOT RANGKA
(STUDI PADA HEWAN COBA)**



DEVITYA ANGIELEVI SUKARNO

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL SELEDRI (*Apium graveolens*)
TERHADAP GLUKOSA DARAH PUASA (GDP), HOMA-IR DAN
EKSPRESI GLUT-4 OTOT RANGKA
(STUDI PADA HEWAN COBA)**



DEVITYA ANGIELEVI SUKARNO

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

PENGARUH EKSTRAK ETANOL SELEDRI (*Apium graveolens*) TERHADAP
GLUKOSA DARAH PUASA (GDP), HOMA-IR DAN EKSPRESI GLUT-4
OTOT RANGKA
(STUDI PADA HEWAN COBA)

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

DEVITYA ANGIELEVI SUKARNO
011614153016

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019

TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL: 16 Mei 2019

Oleh
Pembimbing Utama



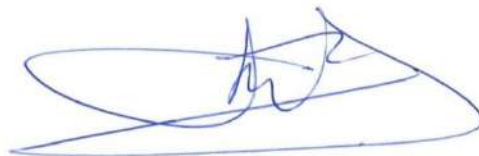
Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes.
NIP. 197506122005012003

Pembimbing Kedua



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si.
NIP. 197009151998022001

Mengetahui,
Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Dr. Kuntaman, dr., M.S., Sp.MK(K)
NIP. 195107071979031003

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji
pada Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal: 16 Mei 2019

Panitia Penguji,

Ketua : Prof. Dr. Paulus Liben, dr., M.S.

Anggota :

1. Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes.
2. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si.
3. Dr. Pudji Lestari, dr., M.Kes.
4. Dr. Reny I'tishom, M.Si.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Tesis
Nomor : 3551/UN3.1.1/PPd/2019
Tanggal : 16 Mei 2019

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Devitya Angielevi Sukarno
NIM : 011614153016
Judul Tesis : Pengaruh Ekstrak Etanol Seledri (*Apium graveolens*) terhadap Glukosa Darah Puasa (GDP), HOMA-IR dan Ekspresi GLUT-4 Otot Rangka (Studi pada Hewan Coba)

Surabaya, 16 Mei 2019



Devitya Angielevi Sukarno

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillah rabbil'alamin, saya ucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan segala rahmat dan petunjukNya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis ini tidak akan selesai tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga sudah selayaknya penulis dengan tulus ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya.

Tesis ini dapat diselesaikan penulis dengan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, dukungan, arahan, saran dan koreksi dari para Pembimbing, oleh karena itu dengan kerendahan hati perkenankanlah saya menghaturkan rasa terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat : Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., MKes. sebagai Pembimbing, yang dengan penuh pengertian, perhatian, kesabaran serta keikhlasan dalam memberikan berbagai ide, kesempatan dan dukungan pada penelitian saya. Kepada beliau saya ucapkan terima kasih yang tidak terhingga. Dr. Arifa Mustika, dr., MSi. sebagai Pembimbing, yang dengan dukungan, kesabaran, perhatian dan bimbingan, selalu mau meluangkan waktu untuk konsultasi, memberi masukan dan saran pada penelitian saya. Kepada beliau saya ucapkan terima kasih yang tidak terhingga.

Dengan selesainya tesis ini, tidak lupa saya ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof. Dr. Kuntaman, dr., M.S., Sp.MK(K), Kepala Program Studi Minat Ilmu Faal DR. Lilik Herawati, dr., MKes dan guru-guru saya di Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga : Prof. Dr. Harjanto, JM, dr., AIFM (Alm.), Prof. Dr. Paulus Liben, dr., M.S., Dr. Elyana Asnar Suhartono TP, dr., MS, Choesnan Effendi, dr. AIFM, Harlina Soetjipto, dr., MS, Tjitra Wardani, dr., MS, Dr. Gadis Meinar Sari, dr., M.kes, Dr. Bambang Purwanto, dr., MKes, Irfiansyah Irwadi, dr. M.Si, Kristanti Wanito Setiawati, dr. M.Si, Sundari Indah Wayasihati, dr. M.Si, serta segenap staf pengajar di Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah mendukung, memfasilitasi, meluangkan waktu untuk memberi masukan dan saran pada penelitian saya.

Terima kasih yang tulus saya ucapkan kepada Pembimbing dan Panitia Penguji mulai dari ujian proposal sampai ujian tesis : Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., MKes., Dr. Arifa Mustika, dr., MSi., Prof. Dr. Paulus Liben, dr., M.S., Dr. Pudji Lestari, dr., M.Kes. Muhammad Miftahussurur, dr., MKes., SpPD., PhD., Dr. Reny Ishom, M.Si atas segala pencerahan, masukan, saran serta solusi terbaik kepada saya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Komite Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas masukan yang telah diberikan untuk terlaksananya penelitian dengan baik dan lancar.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada staf Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, staf Laboratorium Hepatitis *Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga, staf Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Airlangga, staf Laboratorium Histologi Universitas Airlangga atas bantuannya hingga tesis saya dapat diselesaikan.

Terima kasih kepada seluruh guru dan dosen yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberikan ilmu dan wawasan pengetahuan kepada saya.

Terima kasih kepada seluruh teman-teman dosen di Fakultas Kedokteran Universitas Surabaya : dr. Rivan Virlando Suryadinata, M.Kes, dr. Adhimas Setyo Wicaksono dan dr. Dita Sukmaya, MSi atas segenap doa dan dukungan yang tak terbatas serta semua teman-teman yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan, doa dan motivasi yang sangat besar kepada saya.

Pada kesempatan ini juga, saya ingin menyampaikan rasa hormat, kasih sayang serta terima kasih yang terdalam kepada kedua orang tua saya Bapak Sukarno dan Ibu Retnani Yoedowati atas segala doa, motivasi, dukungan dan kesabaran yang tak terhingga kepada saya. Kepada mertua saya Bapak Sun'an dan Ibu Susmiati yang terus memberikan doa, dorongan, motivasi dan kasih sayangnya yang sangat besar kepada saya. Untuk mereka, saya persembahkan penghargaan tertinggi atas pencapaian pendidikan saya ini.

Kepada suami saya tercinta, Ali Mustofa dan buah hatiku tersayang Damitsa Talitha Bucialdev dan Adelard Ghazi Bucialdev atas segala cinta, doa, dukungan, pengertian dan kesabarannya sehingga pendidikan ini bisa diselesaikan. Untuk adik-adikku serta semua keluarga di rumah terima kasih atas doa dan segala dukungannya.

Terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dukungan dan bantuannya hingga tesis ini dapat diselesaikan.

Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi saya, bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan masyarakat. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan berkat dan rahmatNya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian tesis ini. Aamin YRA.

Waassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Surabaya, 16 Mei 2019

Penulis

RINGKASAN

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL SELEDRI (*Apium graveolens*)
TERHADAP GLUKOSA DARAH PUASA (GDP), HOMA-IR DAN
EKSPRESI GLUT-4 OTOT RANGKA
(STUDI PADA HEWAN COBA)**

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu masalah kesehatan global yang menjadi penyebab utama kematian di negara berkembang. DM banyak diderita penduduk dunia dan menempati peringkat ke-4 penyebab utama kematian di negara berkembang. Patogenesis DM tipe II melibatkan abnormalitas pada sekresi dan kerja insulin. Selain oleh karena kegagalan fungsi sel β pankreas, resistensi sel dan jaringan target terhadap insulin menjadi patofisiologi utama penyebab DM tipe II yang pada akhirnya juga berhubungan dengan abnormalitas sekresi insulin. Pencegahan resistensi insulin diharapkan mampu menurunkan angka kejadian penyakit kronis yang memiliki morbiditas dan mortalitas tinggi.

Konsumsi obat tradisional atau herbal untuk pencegahan dan pengobatan penyakit mulai banyak dimanfaatkan. Ekstrak seledri (*Apium graveolens*) mengandung 30 jenis senyawa bioaktif. Ekstrak seledri kaya akan kandungan senyawa flavonoid berupa apigenin, quercetin, cumarine, luteolin, dan kaempferol yang memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan seledri diharapkan mampu mencegah resistensi insulin.

Penelitian ini merupakan *true experimental laboratorie study* yang menggunakan rancangan *randomized post-test only control group*. Penelitian ini menggunakan sampel tikus strain Wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 45 ekor, jantan, usia 4-6 minggu, berat badan 150-175 gram, dan memiliki GDP normal. Kelompok sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K1 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari), K2 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Metformin 500 mg/kgBB/hari), K3 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Ekstrak Seledri p.o 200 mg/kgBB/hari), K4 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Ekstrak Seledri p.o 400 mg/kgBB/hari), dan K5 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Ekstrak Seledri p.o 600 mg/kgBB/hari). Perlakuan diberikan setiap hari selama 60 hari. Pada akhir penelitian, tikus dipuasakan dan diterminasi. Kadar glukosa darah puasa diukur menggunakan Glukometer. Kadar Insulin darah puasa diukur menggunakan ELISA, HOMA-IR dihitung menggunakan rumus yang sudah terstandarisasi, serta ekspresi protein GLUT4 diukur menggunakan imunohistokimia.

Pada akhir penelitian didapatkan penurunan gula darah puasa yang signifikan didapatkan pada K4 ($78,00 \pm 12,64$ mg/DL) dibandingkan dengan K1 ($130,50 \pm 17,14$ mg/DL), dengan $p < 0,05$. Resistensi insulin didapatkan pada K1 ($0,06 \pm 0,02$) ditandai dengan nilai HOMA-IR yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok terapi terutama dengan K4 ($0,04 \pm 0,01$) dan K5 ($0,04 \pm 0,01$) ($p < 0,05$). Peningkatan ekspresi GLUT-4 didapatkan pada K4 ($12,00 \pm 0,00$ skor) dan K5 ($12,00 \pm 0,00$ skor) dibandingkan dengan K1 ($2,00 \pm 0,00$ skor) ($p < 0,00$). Kesimpulan dari hasil tersebut adalah ekstrak seledri memiliki efek antihiperlikemia dan dapat mencegah resistensi insulin.

SUMMARY

THE EFFECT OF CELERY EXTRACT (*Apium graveolens*) ON FASTING BLOOD GLUCOSE (FBG), HOMA-IR DAN GLUT-4 EXPRESSION IN RAT'S SKELETAL MUSCLE

Diabetes mellitus (DM) is one of the global health problems and major cause of death in most countries in the world. Diabetes Mellitus affects many people in the world and in the top 4th ranks as the main cause of death in developing countries. The pathogenesis of type II DM involves abnormalities in insulin secretion and activity. In addition, the failure of pancreatic β cell function which ultimately also relates to insulin secretion abnormalities, resulted in resistance of cells effector and target tissue to insulin is the main pathophysiology of type II DM. Prevention of insulin resistance is expected to reduce the incidence of chronic diseases that have high morbidity and mortality.

The consumption of traditional or herbal medicines for the prevention and treatment of illnesses is widely used. Celery extract contains 30 types bioactive compounds. Celery extract (*Apium graveolens*) also contains rich flavonoids compound such as apigenin, quercetin, cumarine, luteolin, and kaempferol. The composition of celery extract is expected to prevent insulin resistance.

This research was a true experimental laboratories study using a randomized post-test only control group design. The samples were 45 Wistar rats (*Rattus norvegicus*), male sex, aged 4-6 weeks, weight 150-175 grams, and had normal fasting blood glucose levels by tested before treatment. Experimental animals were divided into 5 treatment groups, K1 was negative control group (insulin resistance by given 20% fructose 1.86 g/kg BW PO qDay); K2 was positive control group (those given 20% fructose 1.86 g/kg BW PO qDay and standard insulin resistance therapy metformin 500 mg/kg BW PO qDay); the K3 treatment group was given 20% fructose 1.86 g/kg BW PO qDay and celery extract 200 mg/kg BW PO qDay; the K4 treatment group was given fructose 20% 1.86 mg/kg BW PO qDay and celery extract 400 mg/kg BW PO qDay; and the K5 treatment group was given fructose 20% 1.86 mg/kg BW PO qDay and celery extract 600 mg/kg BW PO qDay. The treatment had been given every day for 60 days. In the end of the experiment, after overnight fasting rats were terminated. Fasting blood glucose levels were measured using a Glucometer. Fasting blood insulin levels were measured using ELISA, HOMA-IR was calculated using a standardized formula, and GLUT4 protein expression was measured using immunohistochemistry.

In the end of the intervention, there was a significant decreased in fasting blood glucose (FBG) in K4 (78.00 ± 12.64 mg/DL) group compared with K1 (130.50 ± 17.14 mg/DL) ($p < 0.05$), insulin resistance in K1 (0.06 ± 0.02) was characterized by a higher HOMA-IR value compared to the therapy group, especially K4 (0.04 ± 0.01) and K5 (0.04 ± 0.01) ($p < 0.05$). There was an increase in GLUT-4 expression on K4 (12.00 ± 0.00 score) and K5 (12.00 ± 0.00 score) compared with K1 (2.00 ± 0.00 score) ($p < 0.05$). It can be concluded that celery extract had antihyperglycemia effect and furthermore it can prevent insulin resistance condition.

ABSTRAK

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL SELEDRI (*Apium graveolens*)
TERHADAP GLUKOSA DARAH PUASA (GDP), HOMA-IR DAN
EKSPRESI GLUT-4 OTOT RANGKA
(STUDI PADA HEWAN COBA)**

Latar Belakang : Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu masalah kesehatan global yang menjadi penyebab utama kematian di negara berkembang. Patogenesis DM meliputi abnormalitas pada sekresi insulin dan aktivitas insulin terhadap target organ yang disebut sebagai resistensi insulin. Ekstrak seledri mengandung flavonoid, yaitu apigenin, quercetin, cumarine, luteolin, kaempferol dan antioksidan yang dapat mencegah resistensi insulin.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak seledri (*Apium graveolens*) terhadap pencegahan resistensi insulin.

Bahan dan Metode : Penelitian ini menggunakan sampel tikus strain Wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 45 ekor, jantan, usia 4-6 minggu, berat badan 150-175 gram, dan memiliki GDP normal. Kelompok sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K1 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari), K2 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Metformin 500 mg/kgBB/hari), K3 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Ekstrak Seledri p.o 200 mg/kgBB/hari), K4 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Ekstrak Seledri p.o 400 mg/kgBB/hari), dan K5 (Fruktosa 20% p.o 1,86 mg/kgBB/hari dan Ekstrak Seledri p.o 600 mg/kgBB/hari). Perlakuan diberikan setiap hari selama 60 hari. Pada akhir penelitian, tikus dipuasakan dan diterminasi. Kadar Glukosa darah puasa diukur menggunakan Glukometer. Kadar Insulin darah puasa diukur menggunakan ELISA, HOMA-IR dihitung menggunakan rumus yang sudah terstandarisasi, serta ekspresi protein GLUT4 diukur menggunakan imunohistokimia.

Hasil : Penurunan gula darah puasa yang signifikan didapatkan pada K4 ($78,00 \pm 12,64$ mg/DL) dibandingkan dengan K1 ($130,50 \pm 17,14$ mg/DL) ($p < 0,05$), terjadi resistensi insulin pada K1 ($0,06 \pm 0,02$) ditandai dengan nilai HOMA-IR yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok terapi terutama dengan K4 ($0,04 \pm 0,01$) dan K5 ($0,04 \pm 0,01$) ($p < 0,05$). Terjadi peningkatan ekspresi GLUT-4 pada K4 ($12,00 \pm 0,00$ skor) dan K5 ($12,00 \pm 0,00$ skor) dibandingkan dengan K1 ($2,00 \pm 0,00$ skor) ($p < 0,00$).

Kesimpulan : Ekstrak seledri memiliki efek antihiperlikemia dan dapat mencegah resistensi insulin.

Kata kunci : ekstrak seledri, resistensi insulin, GDP, HOMA-IR, ekspresi GLUT-4

ABSTRACT

THE EFFECT OF CELERY EXTRACT (*Apium graveolens*) ON FASTING BLOOD GLUCOSE (FBG), HOMA-IR DAN GLUT-4 EXPRESSION IN RAT'S SKELETAL MUSCLE

Background : Diabetes mellitus (DM) is the global health problems and becomes the main cause of death in developing countries. The pathogenesis of type II DM involves abnormalities in insulin secretion and activity that leads to insulin resistance. Celery extract also contains rich flavonoids compound such as apigenin, quercetin, cumarine, luteolin, kaempferol antioxidant which can prevent insulin resistance.

Objectives : This research aims to study the efficacy of celery (*Apium graveolens*) extract as a prevention of insulin resistance.

Materials and Methods : The samples were 45 Wistar rats (*Rattus norvegicus*), male sex, aged 4-6 weeks, weight 150-175 grams, and had normal fasting blood glucose levels by tested before treatment. The experimental animals were divided into 5 groups, K1 was negative control group (insulin resistance by given 20% fructose 1.86 g/kg BW PO qDay); K2 was positive control group (those given 20% fructose 1.86 g/kg BW PO qDay and standard insulin resistance therapy metformin 500 mg/kg BW PO qDay); the K3 treatment group was given 20% fructose 1.86 g/kg BW PO qDay and celery extract 200 mg/kg BW PO qDay; the K4 treatment group was given fructose 20% 1.86 mg/kg BW PO qDay and celery extract 400 mg/kg BW PO qDay; and the K5 treatment group was given fructose 20% 1.86 mg/kg BW PO qDay and celery extract 600 mg/kg BW PO qDay. The treatment had been given every day for 60 days. In the end of the experiment, after overnight fasting rats were terminated. Fasting blood glucose levels were measured using a Glucometer. Fasting blood insulin levels were measured using ELISA, HOMA-IR was calculated using a standardized formula, and GLUT4 protein expression was measured using immunohistochemistry.

Result : In the end of the intervention, there was a significant decreased in fasting blood glucose (FBG) in K4 (78.00 ± 12.64 mg/DL) group compared with K1 (130.50 ± 17.14 mg/DL) ($p < 0.05$), insulin resistance in K1 (0.06 ± 0.02) was characterized by a higher HOMA-IR value compared to the therapy group, especially K4 (0.04 ± 0.01) and K5 (0.04 ± 0.01) ($p < 0.05$). There was an increase in GLUT-4 expression on K4 (12.00 ± 0.00 Score) and K5 (12.00 ± 0.00 score) compared with K1 (2.00 ± 0.00 score) ($p < 0.05$).

Conclusion : It can be concluded that celery extract had antihyperglycemia effect and furthermore it can prevent insulin resistance condition.

Keywords : celery extract, insulin resistance, FBG, HOMA-IR, GLUT-4 expression

TESIS

**PENGARUH *ALPRAZOLAM* TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**



FEDELITA AISTANIA PUTRI

NIM 011714653006

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

TESIS

**PENGARUH *ALPRAZOLAM* TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**

FEDELITA AISTANIA PUTRI

NIM 011714653006

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

**FEDELITA AISTANIA PUTRI
NIM 011714653006**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL, 30 OKTOBER 2019

Oleh

Pembimbing I



Dr. Reny I'tishom, M.Si

NIP. 19711023 200212 1 001

Pembimbing II



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si

NIP. 19700915199802 2001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp. OG(K)

NIP. 19560128 198603 1 009

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada Program Studi Ilmu
Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Pada Tanggal : 29 Oktober 2019

Panitia Penguji,

1. Dr. Reny I'tishom, M.Si
2. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si
3. Dr. Hanik Badriyah Hidayati, dr., Sp.S.
4. Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes.
5. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes.

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 30 Oktober 2019



Fedelita Aistania Putri

NIM. 011714653006

UCAPAN TERIMA KASIH

Banyak kata tidak bisa dengan lugas diungkapkan, selain bentuk bersyukur atas limpahan rahmat dan karunia ALLAH SWT, indahnya kesempatan yang diberikan pada penulis, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh *alprazolam* terhadap jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit *Mus musculus* model stres kronis” dapat selesai penyusunannya.

Ucapan terima kasih, tidak hanya sekedar kata-kata dan penghargaan setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Dr. Reny I'tishom, M.Si, selaku pembimbing I yang dengan penuh perhatian telah mencurahkan waktu dan dukungan moril kepada peneliti dalam memberikan dorongan dan saran terbaik.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya, penulis ucapkan kepada Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si, selaku Pembimbing II, dengan perhatian dan waktu yang disisihkan beliau dalam memberikan bimbingan dan saran merupakan hal yang berharga dalam penyusunan tesis ini.

Terima kasih tak terhingga pada Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes., Dr. Hanik Badriyah Hidayati, dr., Sp.S., Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., selaku para penguji yang dengan ikhlas mampu meluangkan waktu dan segala pemikiran berharga.

Dengan berakhirnya penyusunan tesis ini, perkenankan penulis untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan.
2. Prof. Dr. Soetojo., dr., Sp.U, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.
3. Papa Iswondo Julyanto dan Mama Aning Agustyarini, orang tua penulis, dengan ikhlas mengiringi langkah dengan doa, serta dukungan moril dari ananda Islamay Zulfikar Gustaf, Bianca Kairanajwa Lathifa, Aji Pratama Budiyo, sabar dan setia memotivasi serta menemani hingga membantu proses pembuatan tesis, keluarga surabaya Goenawan Moelyono senantiasa memberi motivasi dan dukungan finansial.
4. Pimpinan Kantor PT Shamsindo Indonusa, *Program Director* Abdul Kohar, beserta segenap keluarga divisi program Suara Muslim *Radio Network* tercinta, Elsa, Nafisah, Feti, Ais, Raga, Tyan, Dani, Pandu, Rasikin, Dina bahu membahu memberikan kesempatan saya menempuh pendidikan, barakallah.
5. Teman-teman IKR angkatan 2017, spesial kepada rekan penelitian terbaik Qony Oktanti, Luh Ayu, Intan dan sahabat pejuang tesis Mienna, Berliana, Risya, Lina, Elfrida, Fitria selalu memberikan arahan dengan lengkap.

6. Petugas laboratorium Biologi kedokteran Budi dan Widodo, petugas lab PA, Ari dan petugas admin pasca FK, seluruhnya membantu dengan sangat sinergis.

RINGKASAN

PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG, JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus* MODEL STRES KRONIS

Fedelita Aistania Putri

Berdasarkan data Riskesdas 2013, prevalensi gangguan mental emosional yang ditunjukkan dengan gejala-gejala depresi dan kecemasan untuk usia 15 tahun ke atas mencapai sekitar 14 juta orang atau 6% dari jumlah penduduk Indonesia. Faktor eksternal seperti stres juga dapat mengaktifkan proses apoptosis yang akan menghambat spermatogenesis di testis dan akan mengganggu fertilitas (Rojaz, *et al.*, 2017). Dari tahun ke tahun, penderita stres mengalami peningkatan dan dalam praktek sehari-hari kecenderungan penggunaan obat hipnotik juga meningkat. Sekitar 60 negara telah melaporkan penyalahgunaan obat-obatan jenis *benzodiazepinee* sebagai permasalahan narkoba utama mereka, dimana pengguna laki-laki tercatat 2,4% dan wanita 2,6% (Badan Narkotika Nasional, 2018).

Ketergantungan *benzodiazepinee* dapat menimbulkan gangguan perilaku kognitif dan afektif. *Benzodiazepinee* juga dapat mempengaruhi sistem saraf pusat yaitu mengganggu neurotransmitter dopamin dan serotonin. Stres oksidatif akibat paparan *benzodiazepinee* dapat menimbulkan gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis, dengan ditandai peningkatan protein pro-apoptosis serta menurunnya protein anti-apoptosis seperti dalam sel Leydig. Stimulasi stres oksidatif akan mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik yang melibatkan perubahan dalam sel mitokondria, aktivasi serangkaian *cascade system aspartate specific protease (caspase)*, dan ditandai dengan meningkatnya *caspase-3* (Zulkarnain dan Dicky, 2012). Pemberian *alprazolam* dapat membatasi jalur vaskularisasi dalam testis atau merubah fungsi epididimis dan berdampak pada penilaian parameter spermatozoa (Perrin, *et al.*, 2017).

Penelitian perhitungan jumlah sel Leydig maupun sel spermatogenik serta pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus yang terjadi sebagai penyebab infertilitas akibat pemberian *Alprazolam* perlu dilakukan untuk membuktikan seberapa tinggi pengaruh penggunaan obat dengan kandungan *benzodiazepinee* terhadap fungsi endokrin melalui testis yang dapat menurunkan fungsi sel Leydig atau mengacaukan sistem regulasi hormon melalui sistem HPA (*hypothalamic-pituitary axis*). Dalam penelitian sebelumnya, hewan coba diuji CUMS untuk menilai kadar stres terhadap infertilitas dengan parameter kualitas spermatozoa. Penelitian sebelumnya juga lebih banyak membahas pengaruh *alprazolam* terhadap infertilitas, melalui penelitian ini kita dapat menggabungkan keduanya, dimana belum banyak dilakukan penelitian sebelumnya.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat penurunan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit jantan setelah diberikan paparan stres dengan metode CUMS, kemudian diberi terapi pengobatan *anti anxiety* dosis maksimal dari *alprazolam*. Penelitian ini menggunakan 48 hewan coba mencit (*mus musculus*) jantan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*), dengan pemenuhan kriteria adanya kelompok kontrol (positif dan negatif), kelompok perlakuan dan randomisasi sampel (Armitage, *et al.*, 2002). Hewan coba yang dilakukan dalam penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) galur *Balb-c* yang diambil dari rumah peternakan hewan (*breeder*) kota Malang, di bawah pengawasan dokter hewan Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kota Malang. Penelitian diawali dengan proses aklimatisasi pada hewan coba, kemudian dilakukan randomisasi sampel pada tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K0), hewan coba tidak diberikan perlakuan ataupun obat apapun, kelompok kontrol positif (K1), yaitu hewan coba hanya diberikan perlakuan CUMS selama masa spermatogenesis hingga proses pembedahan saat terminasi. Kelompok terakhir merupakan kelompok perlakuan (K2), dimana hewan coba diberikan stresor dan diberikan obat *anti anxiety* yaitu *alprazolam* dengan merk dagang *alphanax* dosis maksimal, yaitu 4 mg/hari diberikan dengan cara sonde lambung.

Seluruh hewan coba diberi pakan normal 5 gram/ ekor/ mencit dan pemberian air minum 10 ml/ ekor/ hari. Pengambilan sampel testis dilakukan sesuai dengan jadwal pada tiga kelompok hewan coba untuk melihat jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dengan rincian spermatogonium, spermatosit sekunder dan *round spermatid* serta melakukan pengukuran tebal tubulus seminiferus.

Pengukuran jumlah sel Leydig didapatkan dari hasil testis yang telah dipotong melintang dan dilakukan proses HE (*Hematoxylin-Eosin*). Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop cahaya (*Olympus BX 41*). Jumlah sel Leydig dari masing-masing kelompok mengalami penurunan, Kelompok kontrol (K1) dengan rata-rata 31,17 menurun menjadi 11,2 pada K1 dan semakin menurun pada kelompok perlakuan (K2) dengan rata-rata jumlah sel Leydig 8,01. Perbedaan signifikan juga ditunjukkan dari kelompok kontrol terhadap K1 dan K2 dengan $p=0,000$ ($p<0,05$). Uji beda antar kelompok menggunakan uji *kruskal wallis* dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), dimana ada perbedaan pada semua kelompok.

Penghitungan sel spermatogenik berada di dalam tubulus seminiferus, di mana tiap tubulus seminiferus berisi sel spermatogenik, spermatogonium primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa (Attia, 2013). Berdasarkan hasil penelitian, setelah dilakukan pengukuran, jumlah spermatogenik mengalami penurunan, dan uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) ditunjukkan dari kelompok kontrol negative (K0), kelompok kontrol positif (K1) maupun kelompok perlakuan (K2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *alprazolam* dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik.

Penghitungan tebal epitel tubulus seminiferous dilakukan dengan menarik ujung epitel menuju lumen. Berdasarkan pengukuran, rata-rata tebal tubulus seminiferus mengalami penurunan pada kelompok kontrol negatif (K0) terhadap kelompok kontrol positif (K1), akan tetapi tebal tubulus seminiferus mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan (K2). maka selanjutnya dilakukan uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA dan didapatkan nilai $p=0,000$

($p < 0,05$). Jika dilihat dari bentuk potongan melintang testis, kepadatan dari spermatozoa menurun dan lumen dari tubulus seminiferus menciut.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian *alprazolam* dapat menurunkan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit *Mus musculus* model stres kronis.

SUMMARY

THE EFFECT OF *ALPRAZOLAM* TO NUMBER OF LEYDIG CELL, SPERMATOGENIC CELL AND THE THICKNESS OF EPITHELIAL TUBULUS SEMINIFEROUS IN MICE *Mus musculus* STRESS CHRONIC MODEL

Fedelita Aistania Putri

Based on data Riskesdas, 2013, the prevalence of mental emotional disorder which is indicated by symptoms of depression and anxiety for ages 15 and over reached around 14 million people, or 6% of the total population in Indonesia, External factors such as stress can also activate the apoptotic process that would inhibit spermatogenesis in the testes and would interfere with fertility (Rojaz, et al., 2017), From year to year, patients experienced an increase and in the daily practice of the trend of using hypnotic drugs also increased. Some 60 countries have reported abuse of drugs types of *benzodiazepines* as their primary drug problem, where the men and women recorded 2.4% until 2.6% (Badan Narkotika Nasional, 2018).

Benzodiazepine dependence can cause cognitive and affective behavior disorders. *Benzodiazepine* can also affect the central nervous system that interfere with neurotransmitters dopamine and serotonin. Oxidative stress caused by exposure to *benzodiazepines* can cause interference pro-apoptotic protein balance and anti-apoptotic, with a marked increase in pro-apoptotic protein and a decrease in anti-apoptotic proteins such as in the Leydig cells. Oxidative stress stimulation activates the intrinsic apoptotic pathway that involves a change in the mitochondria of the cell, activating a series of cascade system aspartate specific protease (caspase), and is characterized by increased caspase-3 (Zulkarnain and Dicky, 2012). *Alprazolam* can caused the barrier of intratesticular vascularization way or changing the epididimic function and having impact to spermatozoa result (Perrin, et al., 2017)

Research of counting the number in Leydig cells and spermatogenic cells and measurement of thick epithelium of the seminiferous tubules that occurs as a cause of infertility by administration of *Alprazolam* needs to be done to prove how high the effect of the use of drugs containing *benzodiazepine* against endocrine function through the testes that can decrease Leydig cell function or disrupts the hormonal regulation (hypothalamic-pituitary axis). In previous studies, the experimental animals were tested cums to assess levels of stress to infertility with sperm quality parameters. Previous research also discusses the effect of *alprazolam* more toward infertility, through this research we can combine the two, which has not been much research done before

This study was conducted to see a decrease in the number of Leydig cells, spermatogenic cell number and thickness of seminiferous tubule epithelium of male mice after exposure to the stress given to the method cums, then given anti-anxiety medication therapy maximum dose of *alprazolam*. This study uses 48 animals try mice (*mus musculus*) male.

This study is a purely experimental (true experimental), with the fulfillment of the criteria of the control group (positive and negative), and randomization treatment groups of samples (Armitage, *et al.*, 2002), Animal experiments performed in research are mice (*Mus musculus*) strain Balb-c taken from the home farm animals (breeders) Malang, under the supervision of a veterinarian Department of Agriculture and Food Security Malang. The study begins with the process of acclimatization in experimental animals, then randomization of samples in three groups: negative control group (K0) where the experimental animals are not given any treatment or medication, the positive control group (K1), the experimental animals were only given treatment cums during spermatogenesis up to the surgery when termination.

The last group is the treatment group (K2), where the animal is given stressor and given anti-anxiety drug *alprazolam* trademark is alganax maximal dose, which is 4 mg / day given by way of stomach probes. The whole animal was fed a normal 5 grams / head / mice and the provision of drinking water 10 ml / head / day. Sampling was conducted in accordance with the schedule testis on three groups of animals try to see the number of Leydig cells, spermatogenic cell numbers with details of spermatogonia, secondary spermatocytes and round spermatids and thickness measurement seminiferous tubules.

Measurement of the number of Leydig cells obtained from the testis that has been cut crosswise and do the HE (Hematoxylin-eosin). Calculations carried out under a light microscope (Olympus BX 41). Leydig cell numbers of each group decreased, the control group (K1) with an average of 31.17 dropped to 11.2 in K1 and decreased in the treatment group (K2) with an average number of 8.01 Leydig cells. Significant differences were also shown from a control group against K1 and K2 with $p = 0.000$ ($p < 0.05$). Difference test between groups using the Kruskal walis and p value = 0.000 ($p < 0.05$), where there are differences between all groups.

Spermatogenic cell count is in the seminiferous tubules, each of which contain the seminiferous tubules of spermatogenic cells, spermatogonial primary, secondary spermatocytes, spermatids and spermatozoa (Attia, 2013), Based on the results of the study, after a measurement, the number of spermatogenic decreased, and difference test between groups using ANOVA test and p value = 0.000 ($p < 0.05$) shown from the negative control group (K0), positive control group (K1) and the treatment group (K2). This indicates that administration of *alprazolam* might decrease the number of spermatogenic cells.

Calculation of the seminiferous tubule epithelial thickness is done by pulling the end towards the luminal epithelium. Based on the measurements, the average thickness of the seminiferous tubules decreased in the negative control group (K0) to the positive control group (K1), but the thickness of the seminiferous tubules increased in the treatment group (K2), then the next test is different between groups using ANOVA test and p value = 0.000 ($p < 0.05$). If viewed from a cross-section of the testes, the density of spermatozoa decreased and the lumen of the seminiferous tubules shrunk.

The conclusion of this study is the provision of *alprazolam* might decrease the number of Leydig cells, spermatogenic cells and decrease the number of thick epithelium of the seminiferous tubules of mice *Mus musculus* model of chronic stress.

ABSTRAK

PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG, JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus* MODEL STRES KRONIS

Fedelita Aistania Putri, Reny I'tishom, Arifah Mustika

Latar belakang: Prevalensi stres di masyarakat Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Penggunaan obat hipnotik menjadi pilihan terapi. Penyalahgunaan obat hipnotik jenis *benzodiazepine* dalam *alprazolam* diidentifikasi sebagai permasalahan utama jenis narkoba. Ketergantungan *benzodiazepine* dapat mempengaruhi sistem saraf pusat yaitu neurotransmitter dopamin dan serotonin. Paparan *benzodiazepine* dapat menimbulkan gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis, dengan ditandai peningkatan protein pro-apoptosis serta menurunnya protein anti-apoptosis seperti dalam sel Leydig. Stimulasi stres oksidatif akan mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik.

Tujuan: melihat penurunan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit jantan setelah diberikan paparan stres dengan metode CUMS, kemudian diberi terapi pengobatan *anti anxiety* dosis maksimal dari *alprazolam* 4mg/kg/bb.

Bahan dan cara: Hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur *Balb-c* dilakukan proses aklimatisasi lalu randomisasi sampel pada tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K0), mencit tidak diberikan perlakuan ataupun obat, kelompok kontrol positif (K1), mencit diberi stressor metode CUMS selama masa spermatogenesis, kelompok perlakuan (K2), mencit diberi stressor dan obat *alprazolam* dengan merk dagang *alphanax* dosis maksimal 4 mg/kg/bb yang diberi dengan cara sonde lambung. Pengukuran dilakukan setelah testis mencit dipotong melintang dan dilakukan proses HE (*Hematoxylin-Eosin*). Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop cahaya (*Olympus BX 41*).

Hasil: Uji Statistik pada variabel sel Leydig menunjukkan ada beda antar kelompok menggunakan uji *kruskal wallis* $p=0,000$ ($p<0,05$). Uji statistik pada sel spermatogenik, uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA $p=0,000$ ($p<0,05$). Penghitungan tebal epitel tubulus seminiferous dilakukan dengan menarik ujung epitel menuju lumen. uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA, $p=0,000$ ($p<0,05$).

Kesimpulan: pemberian *alprazolam* dapat menurunkan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit *Mus musculus* model stres kronis

Kata kunci: CUMS, *alprazolam*, sel Leydig, sel spermatogenik, tubulus seminiferus

ABSTRACT

THE EFFECT OF *ALPRAZOLAM* TO NUMBER OF LEYDIG CELL, SPERMATOGENIC CELL AND THE THICKNESS OF EPITHELIAL TUBULUS SEMINIFEROUS IN MICE *Mus musculus* STRESS CHRONIC MODEL

Fedelita Aistania Putri, Reny I'tishom, Arifah Mustika

Background : Infertility in marriage life, is one of the stress stimulated. The prevalence of stress in Indonesian people was increased and they will choose hypnotic drugs. Misuse hypnotic drugs types of *benzodiazepine* in *alprazolam* as their primary drug problem. *Benzodiazepine* dependence can also affect the central nervous system that interfere with neurotransmitters dopamine and serotonin. Oxidative stress caused by exposure to *benzodiazepine* can cause interference pro-apoptotic protein balance and anti-apoptotic, with a marked increase in pro-apoptotic protein and a decrease in anti-apoptotic proteins such as in the Leydig cells. Oxidative stress stimulation activates the intrinsic apoptotic pathway

Objective: to see a decrease in the number of Leydig cells, spermatogenic cell number and thickness of seminiferous tubule epithelium of male mice after exposure to the stress with cums method, and the mice would be given anti-anxiety medication therapy was *alprazolam* with maximum dosage.

Materials and methods: The research subject using male mice (*Mus musculus*) strain *Balb-c* had acclimatization process and randomize sampling. There were divided into three groups consisting of negative control group (K0), without stress and drugs when spermatogenesis time is positive control group (K1) and treatment group (K2), the mice get a daily *alprazolam* drugs (alphanax) by gavage sonde with maximum dosage 4mg/kg/weight. The measurement's do after obtained from the testis that has been cut crosswise and do the Hematoxylin-eosin (HE). Calculations carried out under a light microscope (*Olympus BX 41*).

Results: Statistical test in Leydig cell showed that there was significant difference with *kruskal walis* $p=0,000$ ($p<0,05$). Statistical test in spermatogenic cell showed that there was significant difference with ANOVA $p=0,000$ ($p<0,05$). The calculation of the seminiferous tubule epithelial thickness is done by pulling the end towards the luminal epithelium). Statistical test showed that there was significant difference with ANOVA $p=0,000$ ($p<0,05$).

TESIS

**PENGARUH *ALPRAZOLAM* TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**



FEDELITA AISTANIA PUTRI

NIM 011714653006

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

TESIS

**PENGARUH *ALPRAZOLAM* TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**

FEDELITA AISTANIA PUTRI

NIM 011714653006

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh :

**FEDELITA AISTANIA PUTRI
NIM 011714653006**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL, 30 OKTOBER 2019

Oleh

Pembimbing I



Dr. Reny I'tishom, M.Si

NIP. 19711023 200212 1 001

Pembimbing II



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si

NIP. 19700915199802 2001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., Sp. OG(K)

NIP. 19560128 198603 1 009

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada Program Studi Ilmu
Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga

Pada Tanggal : 29 Oktober 2019

Panitia Penguji,

1. Dr. Reny I'tishom, M.Si
2. Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si
3. Dr. Hanik Badriyah Hidayati, dr., Sp.S.
4. Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes.
5. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes.

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG,
JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus*
MODEL STRES KRONIS**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 30 Oktober 2019



Fedelita Aistania Putri

NIM. 011714653006

UCAPAN TERIMA KASIH

Banyak kata tidak bisa dengan lugas diungkapkan, selain bentuk bersyukur atas limpahan rahmat dan karunia ALLAH SWT, indahnya kesempatan yang diberikan pada penulis, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh *alprazolam* terhadap jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit *Mus musculus* model stres kronis” dapat selesai penyusunannya.

Ucapan terima kasih, tidak hanya sekedar kata-kata dan penghargaan setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Dr. Reny I'tishom, M.Si, selaku pembimbing I yang dengan penuh perhatian telah mencurahkan waktu dan dukungan moril kepada peneliti dalam memberikan dorongan dan saran terbaik.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya, penulis ucapkan kepada Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si, selaku Pembimbing II, dengan perhatian dan waktu yang disisihkan beliau dalam memberikan bimbingan dan saran merupakan hal yang berharga dalam penyusunan tesis ini.

Terima kasih tak terhingga pada Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes., Dr. Hanik Badriyah Hidayati, dr., Sp.S., Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., selaku para penguji yang dengan ikhlas mampu meluangkan waktu dan segala pemikiran berharga.

Dengan berakhirnya penyusunan tesis ini, perkenankan penulis untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan.
2. Prof. Dr. Soetojo., dr., Sp.U, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.
3. Papa Iswondo Julyanto dan Mama Aning Agustyarini, orang tua penulis, dengan ikhlas mengiringi langkah dengan doa, serta dukungan moril dari ananda Islamay Zulfikar Gustaf, Bianca Kairanajwa Lathifa, Aji Pratama Budiyo, sabar dan setia memotivasi serta menemani hingga membantu proses pembuatan tesis, keluarga surabaya Goenawan Moelyono senantiasa memberi motivasi dan dukungan finansial.
4. Pimpinan Kantor PT Shamsindo Indonusa, *Program Director* Abdul Kohar, beserta segenap keluarga divisi program Suara Muslim *Radio Network* tercinta, Elsa, Nafisah, Feti, Ais, Raga, Tyan, Dani, Pandu, Rasikin, Dina bahu membahu memberikan kesempatan saya menempuh pendidikan, barakallah.
5. Teman-teman IKR angkatan 2017, spesial kepada rekan penelitian terbaik Qony Oktanti, Luh Ayu, Intan dan sahabat pejuang tesis Mienna, Berliana, Risya, Lina, Elfrida, Fitria selalu memberikan arahan dengan lengkap.

6. Petugas laboratorium Biologi kedokteran Budi dan Widodo, petugas lab PA, Ari dan petugas admin pasca FK, seluruhnya membantu dengan sangat sinergis.

RINGKASAN

PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG, JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus* MODEL STRES KRONIS

Fedelita Aistania Putri

Berdasarkan data Riskesdas 2013, prevalensi gangguan mental emosional yang ditunjukkan dengan gejala-gejala depresi dan kecemasan untuk usia 15 tahun ke atas mencapai sekitar 14 juta orang atau 6% dari jumlah penduduk Indonesia. Faktor eksternal seperti stres juga dapat mengaktifkan proses apoptosis yang akan menghambat spermatogenesis di testis dan akan mengganggu fertilitas (Rojaz, *et al.*, 2017). Dari tahun ke tahun, penderita stres mengalami peningkatan dan dalam praktek sehari-hari kecenderungan penggunaan obat hipnotik juga meningkat. Sekitar 60 negara telah melaporkan penyalahgunaan obat-obatan jenis *benzodiazepine* sebagai permasalahan narkoba utama mereka, dimana pengguna laki-laki tercatat 2,4% dan wanita 2,6% (Badan Narkotika Nasional, 2018).

Ketergantungan *benzodiazepine* dapat menimbulkan gangguan perilaku kognitif dan afektif. *Benzodiazepine* juga dapat mempengaruhi sistem saraf pusat yaitu mengganggu neurotransmitter dopamin dan serotonin. Stres oksidatif akibat paparan *benzodiazepine* dapat menimbulkan gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis, dengan ditandai peningkatan protein pro-apoptosis serta menurunnya protein anti-apoptosis seperti dalam sel Leydig. Stimulasi stres oksidatif akan mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik yang melibatkan perubahan dalam sel mitokondria, aktivasi serangkaian *cascade system aspartate specific protease (caspase)*, dan ditandai dengan meningkatnya *caspase-3* (Zulkarnain dan Dicky, 2012). Pemberian *alprazolam* dapat membatasi jalur vaskularisasi dalam testis atau merubah fungsi epididimis dan berdampak pada penilaian parameter spermatozoa (Perrin, *et al.*, 2017).

Penelitian perhitungan jumlah sel Leydig maupun sel spermatogenik serta pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus yang terjadi sebagai penyebab infertilitas akibat pemberian *Alprazolam* perlu dilakukan untuk membuktikan seberapa tinggi pengaruh penggunaan obat dengan kandungan *benzodiazepine* terhadap fungsi endokrin melalui testis yang dapat menurunkan fungsi sel Leydig atau mengacaukan sistem regulasi hormon melalui sistem HPA (*hypothalamic-pituitary axis*). Dalam penelitian sebelumnya, hewan coba diuji CUMS untuk menilai kadar stres terhadap infertilitas dengan parameter kualitas spermatozoa. Penelitian sebelumnya juga lebih banyak membahas pengaruh *alprazolam* terhadap infertilitas, melalui penelitian ini kita dapat menggabungkan keduanya, dimana belum banyak dilakukan penelitian sebelumnya.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat penurunan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit jantan setelah diberikan paparan stres dengan metode CUMS, kemudian diberi terapi pengobatan *anti anxiety* dosis maksimal dari *alprazolam*. Penelitian ini menggunakan 48 hewan coba mencit (*mus musculus*) jantan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*), dengan pemenuhan kriteria adanya kelompok kontrol (positif dan negatif), kelompok perlakuan dan randomisasi sampel (Armitage, *et al.*, 2002). Hewan coba yang dilakukan dalam penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) galur *Balb-c* yang diambil dari rumah peternakan hewan (*breeder*) kota Malang, di bawah pengawasan dokter hewan Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kota Malang. Penelitian diawali dengan proses aklimatisasi pada hewan coba, kemudian dilakukan randomisasi sampel pada tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K0), hewan coba tidak diberikan perlakuan ataupun obat apapun, kelompok kontrol positif (K1), yaitu hewan coba hanya diberikan perlakuan CUMS selama masa spermatogenesis hingga proses pembedahan saat terminasi. Kelompok terakhir merupakan kelompok perlakuan (K2), dimana hewan coba diberikan stresor dan diberikan obat *anti anxiety* yaitu *alprazolam* dengan merk dagang *alphanax* dosis maksimal, yaitu 4 mg/hari diberikan dengan cara sonde lambung.

Seluruh hewan coba diberi pakan normal 5 gram/ ekor/ mencit dan pemberian air minum 10 ml/ ekor/ hari. Pengambilan sampel testis dilakukan sesuai dengan jadwal pada tiga kelompok hewan coba untuk melihat jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dengan rincian spermatogonium, spermatosit sekunder dan *round spermatid* serta melakukan pengukuran tebal tubulus seminiferus.

Pengukuran jumlah sel Leydig didapatkan dari hasil testis yang telah dipotong melintang dan dilakukan proses HE (*Hematoxylin-Eosin*). Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop cahaya (*Olympus BX 41*). Jumlah sel Leydig dari masing-masing kelompok mengalami penurunan, Kelompok kontrol (K1) dengan rata-rata 31,17 menurun menjadi 11,2 pada K1 dan semakin menurun pada kelompok perlakuan (K2) dengan rata-rata jumlah sel Leydig 8,01. Perbedaan signifikan juga ditunjukkan dari kelompok kontrol terhadap K1 dan K2 dengan $p=0,000$ ($p<0,05$). Uji beda antar kelompok menggunakan uji *kruskal wallis* dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), dimana ada perbedaan pada semua kelompok.

Penghitungan sel spermatogenik berada di dalam tubulus seminiferus, di mana tiap tubulus seminiferus berisi sel spermatogenik, spermatogonium primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa (Attia, 2013). Berdasarkan hasil penelitian, setelah dilakukan pengukuran, jumlah spermatogenik mengalami penurunan, dan uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA dan didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) ditunjukkan dari kelompok kontrol negative (K0), kelompok kontrol positif (K1) maupun kelompok perlakuan (K2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *alprazolam* dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik.

Penghitungan tebal epitel tubulus seminiferous dilakukan dengan menarik ujung epitel menuju lumen. Berdasarkan pengukuran, rata-rata tebal tubulus seminiferus mengalami penurunan pada kelompok kontrol negatif (K0) terhadap kelompok kontrol positif (K1), akan tetapi tebal tubulus seminiferus mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan (K2). maka selanjutnya dilakukan uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA dan didapatkan nilai $p=0,000$

($p < 0,05$). Jika dilihat dari bentuk potongan melintang testis, kepadatan dari spermatozoa menurun dan lumen dari tubulus seminiferus menciut.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian *alprazolam* dapat menurunkan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit *Mus musculus* model stres kronis.

SUMMARY

THE EFFECT OF *ALPRAZOLAM* TO NUMBER OF LEYDIG CELL, SPERMATOGENIC CELL AND THE THICKNESS OF EPITHELIAL TUBULUS SEMINIFEROUS IN MICE *Mus musculus* STRESS CHRONIC MODEL

Fedelita Aistania Putri

Based on data Riskesdas, 2013, the prevalence of mental emotional disorder which is indicated by symptoms of depression and anxiety for ages 15 and over reached around 14 million people, or 6% of the total population in Indonesia, External factors such as stress can also activate the apoptotic process that would inhibit spermatogenesis in the testes and would interfere with fertility (Rojaz, et al., 2017), From year to year, patients experienced an increase and in the daily practice of the trend of using hypnotic drugs also increased. Some 60 countries have reported abuse of drugs types of *benzodiazepines* as their primary drug problem, where the men and women recorded 2.4% until 2.6% (Badan Narkotika Nasional, 2018).

Benzodiazepine dependence can cause cognitive and affective behavior disorders. *Benzodiazepine* can also affect the central nervous system that interfere with neurotransmitters dopamine and serotonin. Oxidative stress caused by exposure to *benzodiazepines* can cause interference pro-apoptotic protein balance and anti-apoptotic, with a marked increase in pro-apoptotic protein and a decrease in anti-apoptotic proteins such as in the Leydig cells. Oxidative stress stimulation activates the intrinsic apoptotic pathway that involves a change in the mitochondria of the cell, activating a series of cascade system aspartate specific protease (caspase), and is characterized by increased caspase-3 (Zulkarnain and Dicky, 2012). *Alprazolam* can caused the barrier of intratesticular vascularization way or changing the epididimic function and having impact to spermatozoa result (Perrin, et al., 2017)

Research of counting the number in Leydig cells and spermatogenic cells and measurement of thick epithelium of the seminiferous tubules that occurs as a cause of infertility by administration of *Alprazolam* needs to be done to prove how high the effect of the use of drugs containing *benzodiazepine* against endocrine function through the testes that can decrease Leydig cell function or disrupts the hormonal regulation (hypothalamic-pituitary axis). In previous studies, the experimental animals were tested cums to assess levels of stress to infertility with sperm quality parameters. Previous research also discusses the effect of *alprazolam* more toward infertility, through this research we can combine the two, which has not been much research done before

This study was conducted to see a decrease in the number of Leydig cells, spermatogenic cell number and thickness of seminiferous tubule epithelium of male mice after exposure to the stress given to the method cums, then given anti-anxiety medication therapy maximum dose of *alprazolam*. This study uses 48 animals try mice (*mus musculus*) male.

This study is a purely experimental (true experimental), with the fulfillment of the criteria of the control group (positive and negative), and randomization treatment groups of samples (Armitage, *et al.*, 2002), Animal experiments performed in research are mice (*Mus musculus*) strain Balb-c taken from the home farm animals (breeders) Malang, under the supervision of a veterinarian Department of Agriculture and Food Security Malang. The study begins with the process of acclimatization in experimental animals, then randomization of samples in three groups: negative control group (K0) where the experimental animals are not given any treatment or medication, the positive control group (K1), the experimental animals were only given treatment cums during spermatogenesis up to the surgery when termination.

The last group is the treatment group (K2), where the animal is given stressor and given anti-anxiety drug *alprazolam* trademark is alganax maximal dose, which is 4 mg / day given by way of stomach probes. The whole animal was fed a normal 5 grams / head / mice and the provision of drinking water 10 ml / head / day. Sampling was conducted in accordance with the schedule testis on three groups of animals try to see the number of Leydig cells, spermatogenic cell numbers with details of spermatogonia, secondary spermatocytes and round spermatids and thickness measurement seminiferous tubules.

Measurement of the number of Leydig cells obtained from the testis that has been cut crosswise and do the HE (Hematoxylin-eosin). Calculations carried out under a light microscope (Olympus BX 41). Leydig cell numbers of each group decreased, the control group (K1) with an average of 31.17 dropped to 11.2 in K1 and decreased in the treatment group (K2) with an average number of 8.01 Leydig cells. Significant differences were also shown from a control group against K1 and K2 with $p = 0.000$ ($p < 0.05$). Difference test between groups using the Kruskal walis and p value = 0.000 ($p < 0.05$), where there are differences between all groups.

Spermatogenic cell count is in the seminiferous tubules, each of which contain the seminiferous tubules of spermatogenic cells, spermatogonial primary, secondary spermatocytes, spermatids and spermatozoa (Attia, 2013), Based on the results of the study, after a measurement, the number of spermatogenic decreased, and difference test between groups using ANOVA test and p value = 0.000 ($p < 0.05$) shown from the negative control group (K0), positive control group (K1) and the treatment group (K2). This indicates that administration of *alprazolam* might decrease the number of spermatogenic cells.

Calculation of the seminiferous tubule epithelial thickness is done by pulling the end towards the luminal epithelium. Based on the measurements, the average thickness of the seminiferous tubules decreased in the negative control group (K0) to the positive control group (K1), but the thickness of the seminiferous tubules increased in the treatment group (K2), then the next test is different between groups using ANOVA test and p value = 0.000 ($p < 0.05$). If viewed from a cross-section of the testes, the density of spermatozoa decreased and the lumen of the seminiferous tubules shrunk.

The conclusion of this study is the provision of *alprazolam* might decrease the number of Leydig cells, spermatogenic cells and decrease the number of thick epithelium of the seminiferous tubules of mice *Mus musculus* model of chronic stress.

ABSTRAK

PENGARUH ALPRAZOLAM TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG, JUMLAH SEL SPERMATOGENIK DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT *Mus musculus* MODEL STRES KRONIS

Fedelita Aistania Putri, Reny I'tishom, Arifah Mustika

Latar belakang: Prevalensi stres di masyarakat Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Penggunaan obat hipnotik menjadi pilihan terapi. Penyalahgunaan obat hipnotik jenis *benzodiazepine* dalam *alprazolam* diidentifikasi sebagai permasalahan utama jenis narkoba. Ketergantungan *benzodiazepine* dapat mempengaruhi sistem saraf pusat yaitu neurotransmitter dopamin dan serotonin. Paparan *benzodiazepine* dapat menimbulkan gangguan keseimbangan protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis, dengan ditandai peningkatan protein pro-apoptosis serta menurunnya protein anti-apoptosis seperti dalam sel Leydig. Stimulasi stres oksidatif akan mengaktifkan jalur apoptosis intrinsik.

Tujuan: melihat penurunan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit jantan setelah diberikan paparan stres dengan metode CUMS, kemudian diberi terapi pengobatan *anti anxiety* dosis maksimal dari *alprazolam* 4mg/kg/bb.

Bahan dan cara: Hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur *Balb-c* dilakukan proses aklimatisasi lalu randomisasi sampel pada tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K0), mencit tidak diberikan perlakuan ataupun obat, kelompok kontrol positif (K1), mencit diberi stressor metode CUMS selama masa spermatogenesis, kelompok perlakuan (K2), mencit diberi stressor dan obat *alprazolam* dengan merk dagang *alphanax* dosis maksimal 4 mg/kg/bb yang diberi dengan cara sonde lambung. Pengukuran dilakukan setelah testis mencit dipotong melintang dan dilakukan proses HE (*Hematoxylin-Eosin*). Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop cahaya (*Olympus BX 41*).

Hasil: Uji Statistik pada variabel sel Leydig menunjukkan ada beda antar kelompok menggunakan uji *kruskal wallis* $p=0,000$ ($p<0,05$). Uji statistik pada sel spermatogenik, uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA $p=0,000$ ($p<0,05$). Penghitungan tebal epitel tubulus seminiferous dilakukan dengan menarik ujung epitel menuju lumen. uji beda antar kelompok menggunakan uji ANOVA, $p=0,000$ ($p<0,05$).

Kesimpulan: pemberian *alprazolam* dapat menurunkan jumlah sel Leydig, jumlah sel spermatogenik dan menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit *Mus musculus* model stres kronis

Kata kunci: CUMS, *alprazolam*, sel Leydig, sel spermatogenik, tubulus seminiferus

ABSTRACT

THE EFFECT OF *ALPRAZOLAM* TO NUMBER OF LEYDIG CELL, SPERMATOGENIC CELL AND THE THICKNESS OF EPITHELIAL TUBULUS SEMINIFEROUS IN MICE *Mus musculus* STRESS CHRONIC MODEL

Fedelita Aistania Putri, Reny I'tishom, Arifah Mustika

Background : Infertility in marriage life, is one of the stress stimulated. The prevalence of stress in Indonesian people was increased and they will choose hypnotic drugs. Misuse hypnotic drugs types of *benzodiazepine* in *alprazolam* as their primary drug problem. *Benzodiazepine* dependence can also affect the central nervous system that interfere with neurotransmitters dopamine and serotonin. Oxidative stress caused by exposure to *benzodiazepine* can cause interference pro-apoptotic protein balance and anti-apoptotic, with a marked increase in pro-apoptotic protein and a decrease in anti-apoptotic proteins such as in the Leydig cells. Oxidative stress stimulation activates the intrinsic apoptotic pathway

Objective: to see a decrease in the number of Leydig cells, spermatogenic cell number and thickness of seminiferous tubule epithelium of male mice after exposure to the stress with cums method, and the mice would be given anti-anxiety medication therapy was *alprazolam* with maximum dosage.

Materials and methods: The research subject using male mice (*Mus musculus*) strain *Balb-c* had acclimatization process and randomize sampling. There were divided into three groups consisting of negative control group (K0), without stress and drugs when spermatogenesis time is positive control group (K1) and treatment group (K2), the mice get a daily *alprazolam* drugs (alphanax) by gavage sonde with maximum dosage 4mg/kg/weight. The measurement's do after obtained from the testis that has been cut crosswise and do the Hematoxylin-eosin (HE). Calculations carried out under a light microscope (*Olympus BX 41*).

Results: Statistical test in Leydig cell showed that there was significant difference with *kruskal walis* $p=0,000$ ($p<0,05$). Statistical test in spermatogenic cell showed that there was significant difference with ANOVA $p=0,000$ ($p<0,05$). The calculation of the seminiferous tubule epithelial thickness is done by pulling the end towards the luminal epithelium). Statistical test showed that there was significant difference with ANOVA $p=0,000$ ($p<0,05$).