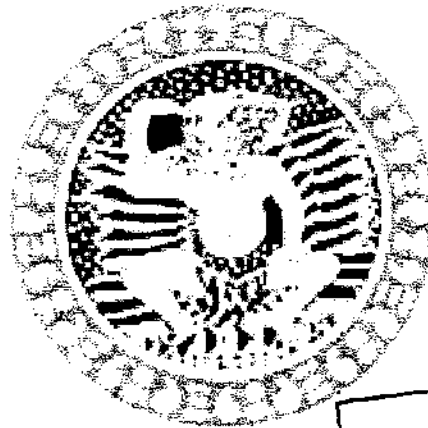


TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN ETANOL PERORAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGIK SEL - SEL SPERMATOGENIK
DAN SEL LEYDIG PADA TESTIS TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus strain Wistar*)**

Penelitian Eksperimental Laboratorik



**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

ANTONIUS OKTAVIAN IBO ILAMBRA CHRISTIANTO NGADJI FOA

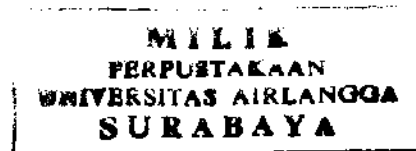
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2005

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN ETANOL PERORAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGIK SEL - SEL SPERMATOGENIK
DAN SEL LEYDIG PADA TESTIS TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus strain Wistar*)**

Penelitian Eksperimental Laboratorik



ANTONIUS OKTAVIAN IBO ILAMBRA CHRISTIANTO NGADJI FOA

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2005

**PENGARUH PEMBERIAN ETANOL PERORAL TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGIK SEL - SEL SPERMATOGENIK
DAN SEL LEYDIG PADA TESTIS TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus strain Wistar*)**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**ANTONIUS OKTAVIAN IBO ILAMBRA CHRISTIANTO NGADJI FOA
NIM. 090214742.M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

SURABAYA

2005

4 Agustus 2005

Lembar Pengesahan

TESIS TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL : 4 AGUSTUS 2005

Pembimbing Ketua



Prof Ari Gunawan, dr, MS, Ph.D
NIP. 130 531 759

Pembimbing



Abd. Kamid Iskandar, dr, MS
NIP. 130 541 811

Mengetahui :

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof. Retno Handajani, dr, MS, Ph.D
NIP. 130 541 984

Diuji pada

Tanggal 4 Agustus 2005

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Iskantijah Budi Rahardjo, dr, MS

Anggota : Prof Ari Gunawan, dr, MS, Ph.D

Abd. Kamid Iskandar, dr, MS

Sri Amindariati, dr, MS

Chairul Anwar, drh, MS

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama penulis panjatkan puji dan syukur ke hadirat Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terimakasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Prof Ari Gunawan, dr, MS, Ph.D, pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Terimakasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada Abd Kamid Iskandar, dr, MS, pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada pemerintah Republik Indonesia cq Universitas Cenderawasih yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankan penulis mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Airlangga Prof Puruhito, dr, SpBT atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof Dr Muh. Amin, dr, SpP atas kesempatan yang diberikan pada penulis untuk mengikuti Program Magister di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD yang selama ini telah membantu dalam kelancaran proses pelaksanaan ujian tesis.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof Dr HMS Wiyadi, dr, SpTHT atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.

Ketua Bagian Anatomi-Histologi Abd Kamid dr, MS yang telah memberi dorongan semangat dan mengizinkan penulis mengikuti Program Pendidikan Magister.

Iskantjah Budi Rahardjo, dr, MS; Sri Amindariati, dr, MS dan Chairul Anwar, drh, MS yang telah memberikan bimbingan dan saran dengan tulus serta bersedia sebagai penguji.

Para dosen yang selama ini dengan tulus telah memberikan bekal berbagai ilmu pengetahuan yang sangat berguna pada saat penelitian dan penulisan tesis ini.

Rektor Universitas Cenderawasih Jayapura B. Kambuaya, Drs, MBA yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Magister.

Ketua Program Pendidikan Dokter Universitas Cenderawasih Paulina Watofa, dr, SpR yang telah banyak memberikan dorongan dan memperhatikan selama mengikuti pendidikan Program Magister.

Temen-teman penulis Agnes Supraptiwi Rahayu, dr, MKes; Anike, dr; Elieser, dr; Irianto Ramandey, dr; Riami, dr; Rica Kapissa, dr; Loman Setiawan; Herlambang Budi Mulyono, dr; dan Aries Susanto Dewobroto yang selalu

membantu dan memperhatikan selama perkuliahan maupun dalam penyelesaian tesis ini.

Semua pihak yang telah membantu penulis sehingga memungkinkan tesis ini dapat diselesaikan.

Akhirnya pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan kasih sayang kepada :

Kedua orang tua penulis, papa Drs Emmanuel Ngadji dan mama Christina Sri Sutarti yang telah mendidik penulis, serta doa yang tulus dan tidak henti-hentinya sehingga penulis dapat mengikuti pendidikan di Program Magister ini.

Saudara-saudaraku tercinta MG Oktaviana, ST; Lazarus Saptasion, ST; Benediktus Heri W, SP dan keponakan Rosa Virginia Adela atas dorongan dan doa restunya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan Program Magister ini.

Semua sanak famili penulis atas dukungan dan dorongan dalam menyelesaikan tesis ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu memberikan petunjuk, bimbingan, kemudahan, kebahagiaan, keselamatan dan rahmat-Nya.

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Etanol Peroral terhadap Gambaran Histologik Sel-sel Spermatogenik dan Sel Leydig pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*)

Antonius Oktavian Ibo Hambra Christianto Ngadji Foa

Etanol telah lama digunakan sebagai minuman. Di beberapa daerah di Indonesia sendiri etanol erat kaitannya dengan acara keluarga maupun acara adat. Dewasa ini, alkoholisme merupakan masalah sosial yang menahun karena akibat yang ditimbulkannya.

Etanol berpengaruh pada beberapa metabolisme organ dan jaringan tubuh, termasuk organ reproduksi pria.

Pengaruh etanol pada organ reproduksi pria dapat berupa keterlambatan pubertas, atrofi testis, disfungsi ereksi, ginekomastia, gangguan proses spermatogenesis hingga infertilitas.

Etanol menimbulkan pengaruh negatif pada proses spermatogenesis melalui sistem hormonal pada *hypothalamic pituitary gonadal axis* maupun berpengaruh langsung melalui kerusakan dan kematian sel. Melalui sistem hormonal, etanol diketahui menghambat GnRH yang dihasilkan oleh hipotalamus. Selanjutnya GnRH yang menurun akan mengakibatkan menurunnya sekresi LH dan FSH, di samping terjadi penurunan kualitas hormon-hormon tersebut oleh etanol. Fungsi FSH sebagai pemelihara proses spermatogenesis melalui sel Sertoli dan fungsi LH pada sel Leydig baik dalam pertumbuhan dan fungsinya dalam mensekresi hormon testosteron, ikut terganggu karena pengaruh etanol. Pengaruh etanol secara langsung dalam menimbulkan kerusakan dan kematian sel-sel spermatogenik dan sel Leydig, diduga diakibatkan oleh asetaldehid yang merupakan hasil pemecahan etanol oleh sel hati.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa etanol menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatogonium dan sel spermatosit primer) dan sel Leydig, dimana pada dosis dan konsentrasi etanol yang makin besar akan terjadi penurunan yang makin tinggi pula dari sel-sel tersebut.

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design* dengan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan, dengan umur 40-60 hari (umur dewasa), sebanyak 35 ekor. Perlakuan yang diberikan adalah etanol secara peroral sebesar (1) 10%, 1 gr/kgBB/hr, (2) 10%, 3 gr/kgBB/hr, (3) 30%, 1 gr/kgBB/hr, (4) 30%, 3 gr/kgBB/hr. Perlakuan diberikan setiap hari selama 45 hari. Satu hari setelah pemberian perlakuan terakhir, hewan coba dikorbankan dan diambil testisnya sebagai sampel penelitian. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologik di laboratorium histologi, dan dilanjutkan dengan pengambilan data menggunakan mikroskop.

Data penelitian kemudian dianalisis dengan Anova dengan taraf kepercayaan 95%, dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa etanol menurunkan jumlah sel spermatogonium, sel spermatosit primer dan sel Leydig dibanding kontrol. Dari hasil uji Anova didapatkan bahwa pada dosis yang lebih besar terdapat penurunan sel spermatogonium, sel spermatosit primer dan sel Leydig yang lebih banyak, dan penurunan ini bermakna secara statistik ($p < 0,05$).

Demikian pula dengan konsentrasi etanol, didapatkan bahwa pada konsentrasi yang lebih besar terdapat penurunan sel spermatogonium, sel spermatosit primer dan sel Leydig yang lebih banyak dan bermakna secara statistik ($p < 0,05$).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa etanol berpengaruh dalam menurunkan sel-sel spermatogenik (sel spermatogonium dan sel spermatosit primer) dan sel Leydig, dimana semakin besar dosis dan konsentrasi etanol yang diberikan semakin tinggi pula tingkat penurunan dari sel-sel tersebut.

SUMMARY

The Effect of Ethanol Feeding on Spermatogenic Cells and Leydig Cells of Rats (*Wistar strain Rattus norvegicus*)

Antonius Oktavian Ibo Ilambra Christianto Ngadji Foa

Ethanol has long been used as liquor. In some areas in Indonesia, the use of ethanol is an inseparable part of family rites and traditional festivities. However, due to its serious consequences, alcoholism becomes a chronic social problem. Ethanol affects the metabolism in body organs and tissues, including reproductive organ. The effects of ethanol in male reproductive organ include delayed puberty, testicular atrophy, erectile dysfunction, gynecomastia, spermatogenetic disorder, and infertility. It induces negative effects in spermatogenetic process through hormonal system in hypothalamic pituitary gonadal axis and generates direct effects through cellular damage and death. Through the hormonal system, ethanol is found to inhibit hypothalamic-produced GnRH. Subsequently, reduced GnRH results in the reduction of LH and FSH secretion, in addition to decreased quality of those hormones by ethanol. FSH function to maintain spermatogenetic process through Sertoli cells and LH function in Leydig cells, both in their growth and function in secreting testosterone, are also disrupted due to the effect of ethanol. This effect directly results in the damage and death of spermatogenic cells and Leydig cells, which is suggested as being caused by acetaldehyde, the result of ethanol dissolution by hepatic cells.

The objective of this study was to prove that ethanol consumption may reduce the counts of spermatogenic cells (spermatogonia and primary spermatocytes) as well as Leydig cells, in which the higher ethanol dose and concentration, the higher the reduction of those cells' counts.

This study used Posttest Only Group Design with experimental animals of 35 male rats (*Wistar strain Rattus norvegicus*) that were subjected to four types of treatment, i.e., (1) feeding with 10% 1 gr/kg/day of ethanol, (2) feeding with 10% 3 gr/kg/day of ethanol, (3) feeding with 30% 1 gr/kg/day of ethanol and (4) feeding with 30% 3 gr/kg/day of ethanol. Treatment was given daily for 45 days. At the end of the study, on the day 46th, the rats was sacrificed for examination. Sample of testis were taken for histological examination. Data were analysed using Analysis of Variance (Anova). When the difference was found, the analysis was followed with Least Significant Difference at the level of significance of 95%.

The result of this study showed that ethanol reduced the counts of spermatogenic cells (spermatogonia and primary spermatocytes) as well as Leydig cells compared to control. The results of Anova test revealed that higher dosage of ethanol resulted in significantly different decrease of the cells ($p < 0.05$) compared to other dosage. True third study showed that higher concentrations of

ethanol resulted in significantly different decrease of the cells ($p < 0.05$) compared to other concentrations.

In conclusion, ethanol has effect in the reduction of the count of spermatogenic cells (spermatogonia and primary spermatocytes) as well as Leydig cells. The higher the dose and concentration of ethanol, the higher the reduction of those cells count.

ABSTRACT

The Effect of Ethanol Feeding, on Spermatogenic Cells and Leydig Cells of Rats (*Wistar strain Rattus norvegicus*)

Antonius Oktavian Ibo Ilambra Christianto Ngadji Foa

The objective of this study was to prove that ethanol consumption may reduce the counts of spermatogenic cells and Leydig cells of male rats.

This study used Posttest Only Group Design with experimental animals of 35 male rats (*Wistar strain Rattus norvegicus*) that were subjected to four types of treatment, i.e, (1) feeding with 10% 1 gr/kg/day of ethanol, (2) feeding with 10% 3 gr/kg/day of ethanol, (3) feeding with 30% 1 gr/kg/day of ethanol and (4) feeding with 30% 3 gr/kg/day of ethanol. Treatment was given daily for 45 days. At the end of the study, on the day 46th, the rats was sacrificed for examining. Sample of testis were taken for histological examination.

Data were analysed using Analysis of Variance (Anova). When the difference was found, the analysis was followed with Least Significant Difference at the level of significance of 95%.

The result of the first study showed that ethanol reduced the counts of spermatogenic cells (spermatogonia and primary spermatocytes) and Leydig cells. The second study showed that higher dosage of ethanol resulted in significantly different decrease of the cells ($p < 0.05$) compared to other dosage. The third study showed that higher concentrations of ethanol resulted in significantly different decrease of the cells ($p < 0.05$) compared to other concentrations.

The suppression and the damages of hormones in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis (GnRH, LH, FSH and testosterone) by ethanol and the damage of cells by acetaldehyde (product of ethanol metabolism) was strongly suspected as being the result of spermatogonia, primary spermatocytes and Leydig cells reduction

It can be concluded that ethanol, with the highest dosage (3 gr/kg/day) and the highest concentrations (30%) causes the decrease of spermatogonia, primary spermatocytes and Leydig cells of the rats.

Keywords : *ethanol, spermatogenic cells, Leydig cells.*

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia Penguji	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	ix
Summary	xi
Abstract	xiii
Daftar Isi	xiv
Daftar Gambar	xvii
Daftar Tabel	xviii
Daftar Lampiran	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Etanol	5
2.1.1 Absorpsi etanol	7
2.1.2 Metabolisme etanol	8
2.1.3 Pengaruh etanol pada organ dan jaringan	10
2.2 Testis	13
2.2.1 Anatomi dan histologi testis	14

2.2.2 Tubulus seminiferus	16
2.2.3 Spermatogenesis	18
2.2.4 Sel Sertoli	25
2.2.5 Sel Leydig	26
2.2.6 Pengaturan hormonal fungsi testis	26
2.3 Pemilihan Hewan Coba	27

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	29
3.2 Hipotesis	31

BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	32
4.2 Sampel Penelitian	33
4.3 Variabel Penelitian	34
4.3.1 Klasifikasi variabel	34
4.3.2 Definisi operasional	34
4.4 Bahan Penelitian	35
4.4.1 Bahan perlakuan	35
4.4.2 Bahan pemeriksaan	35
4.5 Instrumen Penelitian	36
4.5.1 Alat untuk pemeliharaan tikus putih jantan	36
4.5.2 Alat untuk pembiusan dan pengambilan jaringan testis	36
4.5.3 Alat untuk pembuatan dan pengamatan sediaan histologik testis	36
4.6 Prosedur Penelitian	37
4.6.1 Pemeliharaan hewan coba	37
4.6.2 Persyaratan etik	38
4.6.3 Perlakuan hewan coba	38
4.6.4 pembiusan	39

4.6.5	Pengambilan jaringan testis	39
4.6.6	Pembuatan sediaan histologik dan pewarnaan	40
4.6.7	Pengumpulan data	42
4.7	Analisis Data	42
4.8	Kerangka Operasional Penelitian	43
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN		
5.1	Hasil Penelitian	44
5.1.1	Jumlah sel spermatogonium	44
5.1.2	Jumlah sel spermatosit primer	45
5.1.3	Jumlah sel Leydig	47
5.2	Analisis Hasil Penelitian	48
5.2.1	Jumlah sel spermatogonium	49
5.2.2	Jumlah sel spermatosit primer	51
5.2.3	Jumlah sel Leydig	54
BAB 6 PEMBAHASAN		
6.1	Jumlah Spermatogenik	59
6.2	Jumlah Sel Leydig	62
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		
7.1	Kesimpulan	65
7.2	Saran	65
DAFTAR PUSTAKA		67
LAMPIRAN		72

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Sistem reproduksi manusia	13
Gambar 2.2 : Diagram potongan testis dan duktus-duktusnya	15
Gambar 2.3 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus testis manusia	17
Gambar 2.4 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus testis tikus	18
Gambar 2.5 : Diagram spermatogenesis	23
Gambar 2.6 : Sel spermatozoa matang	24
Gambar 2.7 : Sel Sertoli	25
Gambar 5.1 : Diagram batang jumlah spermatogonium setelah pemberian larutan etanol selama 45 hari	45
Gambar 5.2 : Diagram batang jumlah sel spermatosit primer setelah pemberian larutan etanol selama 45 hari	46
Gambar 5.3 : Diagram batang jumlah sel Leydig setelah pemberian larutan etanol selama 45 hari	47

DAFTAR TABEL

	Halaman	
Tabel 5.1	Rata-rata (Mean) dan standar deviasi (SD) jumlah spermatogonium	44
Tabel 5.2	Rata-rata (Mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sel spermatosit primer	46
Tabel 5.3	Rata-rata (Mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sel Leydig	47
Tabel 5.4	Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel spermatogonium	49
Tabel 5.5	Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel spermatogonium	50
Tabel 5.6	Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel spermatosit primer	52
Tabel 5.7	Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel spermatosit primer	52
Tabel 5.8	Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Leydig	54
Tabel 5.9	Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel Leydig	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1a : Data hasil penelitian jumlah spermatogonium	72
Lampiran 1b : Data hasil penelitian jumlah spermatisit primer	73
Lampiran 1c : Data hasil penelitian jumlah sel Leydig	74
Lampiran 2a : Hasil analisa data jumlah spermatogonium	75
Lampiran 2b : Uji LSD jumlah spermatogonium	76
Lampiran 3a : Hasil analisa data jumlah spermatisit primer	77
Lampiran 3b : Uji LSD jumlah spermatisit primer	78
Lampiran 4a : Hasil analisa data jumlah sel Leydig	79
Lampiran 4b : Uji LSD jumlah sel Leydig	80
Lampiran 5 : Gambar hewan coba dalam kandang	81
Lampiran 6 : Gambar testis hewan coba	82
Lampiran 7 : Gambar testis dalam larutan fiksasi Boein	83
Lampiran 8 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K0 (kontrol)	84
Lampiran 9 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K1 (etanol 10% 1gr/kgBB/hr)	85
Lampiran 10 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K2 (etanol 10% 3gr/kgBB/hr)	86
Lampiran 11 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K3 (etanol 30% 1gr/kgBB/hr)	87
Lampiran 12 : Gambar penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K4 (etanol 30% 3gr/kgBB/hr)	88

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Alkohol, dalam hal ini etanol, telah dikonsumsi manusia sebagai minuman lebih dari 4000 tahun dan digunakan untuk keperluan medis selama ratusan tahun sebagai sedatif dan analgetik (Pinger *et al*, 1988). Dalam perkembangannya penggunaan etanol sebagai indikasi medis relatif sangat kecil dibandingkan dengan penggunaannya secara luas di masyarakat sebagai minuman dengan alasan untuk mendapatkan euforia, melepaskan emosi serta menghindarkan diri sementara dari depresi atau ansietas (Ganiswarna, 1995; Bachtiar, 2000).

Dewasa ini alkoholisme di berbagai negara dunia merupakan masalah sosial menahun karena pengaruh yang ditimbulkannya. Peminum alkohol berat sering mendapatkan kecelakaan, kehilangan produktivitas, terlibat kejahatan, mengalami gangguan kesehatan sampai terjadi kematian (Ama, 2002; Pinger *et al*, 1998). Berhubungan dengan gangguan kesehatan, etanol dapat berpengaruh pada beberapa metabolisme organ dan jaringan tubuh, termasuk juga fungsi reproduksi manusia (Buddy, 2003; Lee dan Becker, 1995; Purdy dan Ramussen, 2003). Dari beberapa penelitian terdahulu telah dibuktikan bahwa konsumsi etanol pada pria dapat merusak produksi testosteron dan atrofi testis (Emanuele dan Emanuele, 2001), serta disfungsi ereksi (Vander *et al*, 2001). Penelitian Rengarajan *et al* (2003) dengan pemberian etanol 25% peroral dalam 3 macam dosis (0,5; 1 dan 3 gr / kgBB) yang diberikan 2 kali sehari selama 5 hari terhadap

tikus jantan menunjukkan adanya penurunan berat testis tikus. Penelitian lainnya mengindikasikan bahwa etanol dapat menurunkan kadar *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) (Emanuele dan Emanuele, 1998), dimana LH berfungsi merangsang sel Leydig untuk menghasilkan hormon testosteron sedangkan FSH berperan pada sel Sertoli untuk mendukung perkembangan dan pematangan sel-sel spermatozoa (Guyton, 1997).

Suatu penelitian terhadap kultur jaringan hipofisis tikus jantan dengan pemberian etanol dengan berbagai konsentrasi (20%, 40% dan 80%) dalam 4 hari, menunjukkan bahwa etanol dapat menurunkan respon gonadotropin terhadap GnRH dimana pada dosis 80% terjadi penurunan terbesar (Pohl *et al*, 1987). Steiner *et al* (1996) menambahkan adanya penurunan kadar *Luteinizing Hormone* (LH) serum yang berkepanjangan pada tikus jantan setelah pemberian injeksi *single dose* etanol 3gr/kgBB intraperitoneal.

Penelitian Gordon *et al* (1976) yang dikutip Emanuele dan Emanuele (1998) menyebutkan pemberian alkohol 15%, 3 gr/kgBB per hari pada pria usia muda selama lebih dari 4 minggu menyebabkan penurunan kadar testosteron darah yang tampak pada hari ke lima penelitian dan terus menurun sesuai dengan bertambahnya hari.

Salah satu penyebab menurunnya kadar testosteron menurut Emanuele & Emanuele (1998) adalah bahwa etanol mendorong terjadinya penurunan produksi testosteron di sel Leydig.

Penelitian Ellingboe dan Varanelli (1979) menunjukkan adanya penekanan biosintesis testosteron oleh etanol pada sel-sel Leydig tikus jantan dewasa kelamin baik secara *invivo* maupun *invitro*. Dengan adanya gangguan pada hormon-

hormon tersebut di atas, maka dengan sendirinya akan menimbulkan gangguan terhadap proses spermatogenesis. Penelitian autopsi oleh Pajarinen *et al* (1996) yang dikutip oleh Emanuele dan Emanuele (1998) terhadap jenazah pria dengan riwayat mengkonsumsi etanol dosis rendah (10-40gr/hari) umumnya menunjukkan bentuk sperma yang normal, tetapi pada pria peminum alkohol dosis moderat (40-80 gr/hari) dan dosis tinggi (lebih dari 80gr/hari), terlihat adanya gangguan proses pematangan sperma sampai terhentinya proses pembentukan sperma.

Untuk membuktikan adanya gangguan proses spermatogenesis setelah pemberian etanol dalam dosis dan konsentrasi yang bervariasi, maka dilakukan penelitian terhadap gambaran histologik sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig pada testis tikus putih jantan.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah pemberian etanol peroral dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan?
2. Apakah pada dosis etanol per oral terbesar (3 gr/kgBB) terdapat penurunan tertinggi jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan?
3. Apakah pada konsentrasi etanol per oral terbesar (30%) terdapat penurunan tertinggi jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan bahwa pemberian etanol per oral dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.
2. Membuktikan bahwa pada dosis etanol per oral terbesar (3 gr/kgBB) terdapat penurunan tertinggi jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.
3. Membuktikan bahwa pada konsentrasi etanol per oral terbesar (30%) terdapat penurunan tertinggi jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademis

Menambah pengetahuan tentang pengaruh etanol terhadap fungsi reproduksi pria.

1.4.2 Manfaat terapan

1. Menambah wawasan tentang pengaruh etanol pada tubuh
2. Memberikan informasi tentang bahaya penyalahgunaan etanol pada fungsi reproduksi pria.

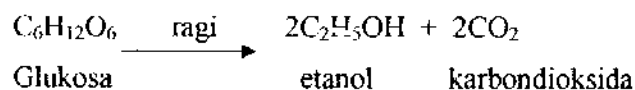
BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

Alkohol, dalam hal ini etanol, sudah dikenal manusia sejak lama. Etanol diduga ditemukan pada jaman pre-historik ketika manusia jaman itu meminum jus buah berry yang terpapar ragi di udara terbuka (Pinger *et al*, 1998). Di beberapa negara, alkoholisme merupakan masalah sosial yang kronis. Sedangkan di beberapa daerah di Indonesia penggunaan etanol erat kaitannya dengan acara-acara tertentu baik acara keluarga maupun acara adat (Bachtiar, 2000; Ganiswarna, 1995).

2.1 Etanol

Etanol merupakan senyawa organik yang sederhana dengan rumus bangun C_2H_5OH , biasa disebut sebagai ethyl alkohol atau alkohol saja, bersifat hidrofilik dan juga bersifat lipofilik. Dalam bidang medis, etanol berkhasiat sebagai bakterisid, fungisid dan virusid. Etanol banyak digunakan untuk desinfeksi kulit dan sebagai zat pembantu farmasi (Tjay dan Raharja, 2002).

Etanol yang dikonsumsi sebagai minuman berasal dari fermentasi karbohidrat dalam hal ini glukosa. Reaksi pembentukannya adalah sebagai berikut :



Alkohol yang dihasilkan berkadar rendah, dan untuk mendapatkan konsentrasi yang lebih tinggi dilakukan proses destilasi (Lee dan Becker, 1995). Kadar etanol dalam tiap jenis minuman sangat bervariasi dari yang rendah hingga tinggi dan ditentukan berdasarkan persentasenya.

Jenis Minuman	Persentase Alkohol (%)
Beer	
regular beer	4
light beer	4
low alcohol beer	1,5
malt liquor	7
ice beer	5-7
ale	5
non alcoholic brew	0,5
Wine	
natural red / wine	12
fortified, port	18-20
sherry, muscatel, madeira	
wine cooler	6
champagne	12
Distilled spirits	
whiskey, bourbon, scotch	45
irish, ry	
brandies, liquers, cardials	25-40
rum, gin, vodka	45

(Kirk dan Sawyer, 1991; Pinger *et al*, 1998).

2.1.1 Absorpsi etanol

Etanol diabsorpsi melalui lambung, usus dan kolon. Absorpsi melalui lambung sangat terbatas, tergantung pada keadaan isi lambung. Pada keadaan lambung kosong, absorpsi etanol lebih sempurna dibanding dengan keadaan lambung yang terisi. Sebagian besar etanol yang dikonsumsi akan diserap dengan sempurna oleh usus halus dan selanjutnya didistribusikan secara merata ke seluruh cairan tubuh, sehingga dengan mudah dapat dideteksi dalam darah, urine, cairan *cerebrospinal* dan udara ekspirasi (Ganiswarna, 1995; Hamilton *et al*, 1988; Ichwani, 1993; Pinger *et al*, 1993). Sifat etanol yang mudah larut dan mudah diabsorpsi menyebabkan etanol mudah menimbulkan intoksikasi. Kaitan antara kadar etanol dalam darah dan urin terhadap tubuh adalah sebagai berikut (Montgomery *et al*, 1983 *cit* Ichwani, 1993; Melmon, 1992):

- a. normal. Tidak terjadi gangguan mental atau keterampilan fisik, kadar etanol dalam darah atau urin berkisar antara 1-3 mmol/L (5-15mg/dL).
- b. stadium sosial : kadar dalam darah mencapai 11 mmol/L (50mg/dL) dan dalam urin 2-13 mmol/L (10-60mg/dL), akibat mengkonsumsi satu atau dua botol beer (@ 360ml) atau dari satu atau dua sloki whiskey (@ 30ml). Stadium ini ditandai dengan euforia ringan, merasa sehat dan tes perilaku menunjukkan hasil normal. Peminum pada stadium ini terlihat menyenangkan bagi lingkungannya dan masih bersifat tenang.
- c. stadium pra-intoksikasi: kadar etanol dalam darah 11-33 mmol/L (50-150 mg/dL) dalam urin 13-43 mmol/L (60-200 mg/dL), berasal dari dua sampai enam botol bir (@ 360 ml) atau dua sampai enam sloki whiskey. Pada

stadium ini, inhibisi sosial telah lepas kendali dan koordinasi muskuloskeletal menurun.

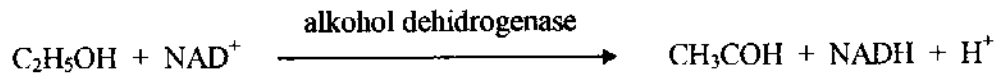
- d. stadium intoksikasi, kadar dalam darah 33-65 mmol/L (150-300 mg/dL); kadar etanol dalam urin 43-87 mmol/L (200-400 mg/dL); akibat minum enam botol bir atau enam sloki whiskey atau lebih. Percakapan terganggu dan keterampilan motorik tidak terkoordinasi.
- e. stadium stupor : kadar etanol dalam darah 65-87 mmol/L (300-400 mg/dL) dan kadar etanol dalam urin 82-109 mmol/L (375-500 md/dL), berasal dari konsumsi satu "pint" (568 ml) whiskey atau lebih. Penderita baru dapat bereaksi atas stimuli yang sangat kuat.
- f. stadium koma : darah mengandung etanol 87-130 mmol/L (400-600 mg/dL) atau lebih. Kesadaran menghilang, refleks-refleks menghilang, hipotermia dan dapat mengakibatkan kematian.

2.1.2 Metabolisme etanol

Kurang lebih 90-98% etanol dioksidasi dalam tubuh. Metabolismenya mengikuti kinetika *zero order*, artinya jumlah yang dimetabolisir tetap per satuan waktu, terlepas dari tinggi rendahnya kadar. Metabolisme terjadi dalam hati (Ganiswarna, 1995). Kecepatan metabolisme etanol dalam hati orang dewasa 7-10 gr/ jam (Lee dan Becker, 1995). Di dalam hati, oksidasi etanol menjadi asetaldehida berlangsung melalui jalur reaksi enzimatik, yaitu :

a. Jalur alkohol dehidrogenase

Sebagian besar etanol dioksidasi melalui jalur ini. Oksidasi melalui jalur ini memerlukan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD).



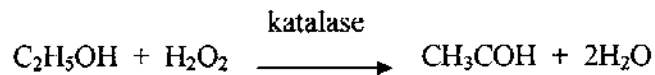
b. Microsomal Etanol Oxidizing Sistem (MEOS)

Oksidasi etanol melalui jalur memerlukan NADPH dan O_2 , reaksi ini baru aktif pada kadar etanol tinggi. Pada jalur ini dihasilkan H_2O_2

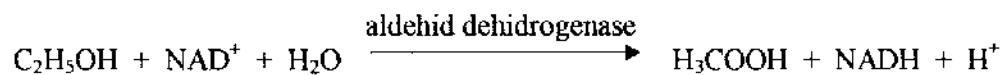


c. Jalur katalase

Pada oksidasi etanol melalui jalur ini memerlukan H_2O_2 .



Langkah berikutnya adalah oksidasi asetaldehid menjadi asam asetat. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim aldehid dehidrogenase yang juga memerlukan NAD^+ .



(Ichwani, 1993; Lee dan Becker, 1995; Melmon *et al*, 1992)

Terdapat polimorfisme genetik dari alkohol dehidrogenase dan aldehid dehidrogenase, dimana terdapat kemampuan katabolisme etanol yang berbeda. Ini menjelaskan mengapa orang Asia lebih cepat menjadi mabuk. Energi yang dihasilkan etanol ± 7 Kcal/gr, tetapi menambah etanol pada diet cukup nutrisi dan cukup kalori sering kali menyebabkan penurunan berat badan. Hal ini diduga berhubungan dengan pengaruh toksik etanol dan asetaldehid pada mitokondria

sehingga efisiensinya terganggu. Hanya $\pm 2\%$ etanol yang diminum tidak mengalami metabolisme. Ekskresinya melalui ginjal dan paru-paru (Ganiswarna, 1995).

2.1.3 Pengaruh etanol pada organ dan jaringan.

a. Susunan saraf pusat

Etanol menimbulkan depresi pada susunan saraf pusat seperti halnya anestetik. Karena adanya pengaruh depresi pada pusat-pusat hambatan maka didapat kesan adanya pengaruh stimulasi susunan saraf pusat dari etanol. Pada awalnya daya ingat, konsentrasi dan daya mawas diri menjadi tumpul lalu hilang. Rasa percaya diri meningkat, kepribadian menjadi bersemangat, tidak dapat mengontrol perasaan dan letupan emosi menjadi nyata. Perubahan psikik ini disertai gangguan sensorik dan motorik (Dixon, 1986; Goodman dan Gilman, 1996; Hamilton *et al*, 1988). Minum etanol secara kronik, secara langsung terkait dengan gangguan mental dan neurologik yang berat misalnya kerusakan otak, kehilangan ingatan, gangguan tidur dan psikik (Tjay dan Rahardja, 2002). Selain itu, defisiensi vitamin dan nutrisi akibat gangguan saluran cerna dan fungsi hati akan mengakibatkan berbagai gejala neuropsikiatrik yang biasa terdapat pada peminum alkohol (Ganiswarna, 1995).

b. Sistem sirkulasi

Pengaruh langsung etanol terhadap sirkulasi sangat kecil; tekanan darah, curah jantung dan kekuatan kontraksi otot jantung tidak banyak berubah setelah minum etanol dalam jumlah sedang. Pada kondisi keracunan

alkohol akut, terlihat depresi kardiovaskuler, yang gejalanya berupa takikardi dan hipertensi, yang disebabkan oleh faktor sentral dan depresi nafas.

Pada pembuluh darah terjadi vasodilatasi, karena hambatan vasomotor sentral, tetapi tidak berguna untuk meningkatkan vasodilatasi koroner (Ganiswarna, 1995; Goodman dan Gilman, 1996). Penggunaan jangka panjang menyebabkan kerusakan seperti *cardiomyopathy* dan penyakit jantung koroner (Pinger *et al*, 1998; Wollin dan Jones, 2001).

c. Saluran cerna

Etanol merangsang sekresi asam lambung dan saliva, tetapi jumlah pepsinnya normal. Etanol juga merangsang pelepasan gastrin, yang merupakan kontraindikasi pada penderita ulkus peptikum (Ganiswarna, 1995; Pinger *et al*, 1998).

d. Hati

Penggunaan etanol secara kronis dapat menyebabkan terjadinya perlemakan hati dan bahkan sirosis (Dixon, 1986; Ichwani, 1993), tetapi keracunan etanol akut pada manusia tidak menyebabkan gangguan fungsi hati yang menetap. Malnutrisi memperkuat gangguan hati dan saluran cerna, tetapi nutrisi yang baik tidak mencegah hepatitis alkoholik dan sirosis. Perlemakan hati merupakan kejadian dini pada alkoholisme. Penderita yang minum etanol secara kronik dapat menunjukkan gejala hipoglikemia karena nutrisi yang buruk (Ganiswarna, 1995; Goodman dan Gilman, 1996).



e. Pengaruh teratogenik

Etanol menyebabkan pengaruh teratogenik yang disebut alkohol fetal sindrom. Etanol dapat melewati plasenta dan masuk ke dalam aliran darah janin (Tjay dan Rahardja, 2002; Pinger *et al*, 1988). Akibatnya akan timbul kelainan susunan saraf pusat pada bayi yang berupa IQ rendah, mikrosefali, pertumbuhan lambat, abnormalitas di daerah muka dan kelainan lain yang disebabkan oleh terhambatnya proliferasi sel-sel embrional pada masa gestasi dini. Pada peminum berat juga dapat terjadi bayi lahir mati atau aborsi spontan (Ganiswarna, 1995; Goodman dan Gilman, 1996; Johnson, 2002). Subagjo (1984) membuktikan adanya pengaruh teratogenik ini setelah pemberian etanol 10%, 3gr/kgBB intra peritoneal pada tikus putih betina yang sedang hamil.

f. Fungsi seksual

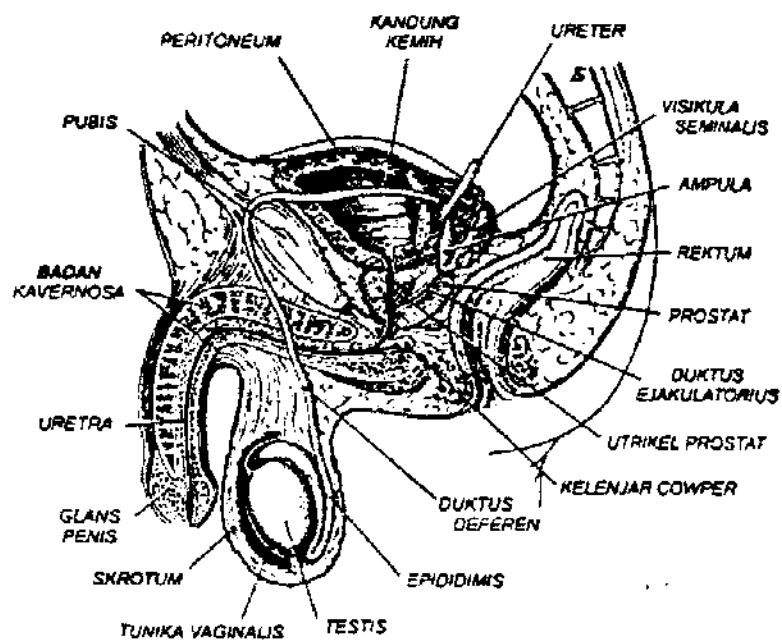
Goodman dan Gilman (1996) mengutip penelitian Wilson (1977) mengungkapkan bahwa etanol dapat menyebabkan penurunan respon seksual baik pada pria maupun wanita. Selanjutnya etanol pada wanita dapat menyebabkan defisiensi hormon, disfungsi seksual, gangguan siklus menstruasi, gangguan ovulasi, menopause dini hingga infertilitas (Buddy, 2003; Mello *et al* 1993 *cit* Emanuelle *et al*, 2003). Hal ini dibuktikan dengan penelitian Cebral *et al* (1999) terhadap tikus putih betina dengan pemberian etanol 10% selama 30 hari menunjukkan peningkatan oosit yang rusak dibanding pada hewan kontrol.

Sedangkan pada pria, alkohol disinyalir dapat menyebabkan keterlambatan mencapai pubertas, impotensi, sterilitas, atrofi testis dan ginekomastia

(Emanuele dan Emanuele 1998; Pizzorno dan Murray, 1993; Schrader, 1994; Paz *et al*, 1993).

2.2 Testis

Testis merupakan bagian dari sistem reproduksi pria yang berupa kelenjar ganda, karena secara fungsional bersifat eksokrin dan juga endokrin. Bagian endokrin menghasilkan testosteron sedangkan bagian eksokrin menghasilkan sel kelamin sehingga testis disebut sebagai kelenjar sitogenik (Geneser, 1994; Leeson, 1996).



Gambar 1 Sistem reproduksi pria (Bloom dan Fawcett, 2002)

2.2.1 Anatomi dan histologik testis

Testis terletak di luar rongga abdomen, dengan satu testis pada tiap-tiap sisi skrotum. Bentuknya lonjong dengan ukuran tebal 2 cm, lebar 3 cm dan panjang 4 cm (Bloom dan Fawcet, 2002). Berat kedua testis antara 25-27 gr (Paz *et al*, 1993). Sedangkan berat testis tikus sekitar 3,7 gr (Dixon, 1986).

Testis terletak dalam skrotum dan dibungkus oleh simpai testis yang terdiri dari 3 lapisan :

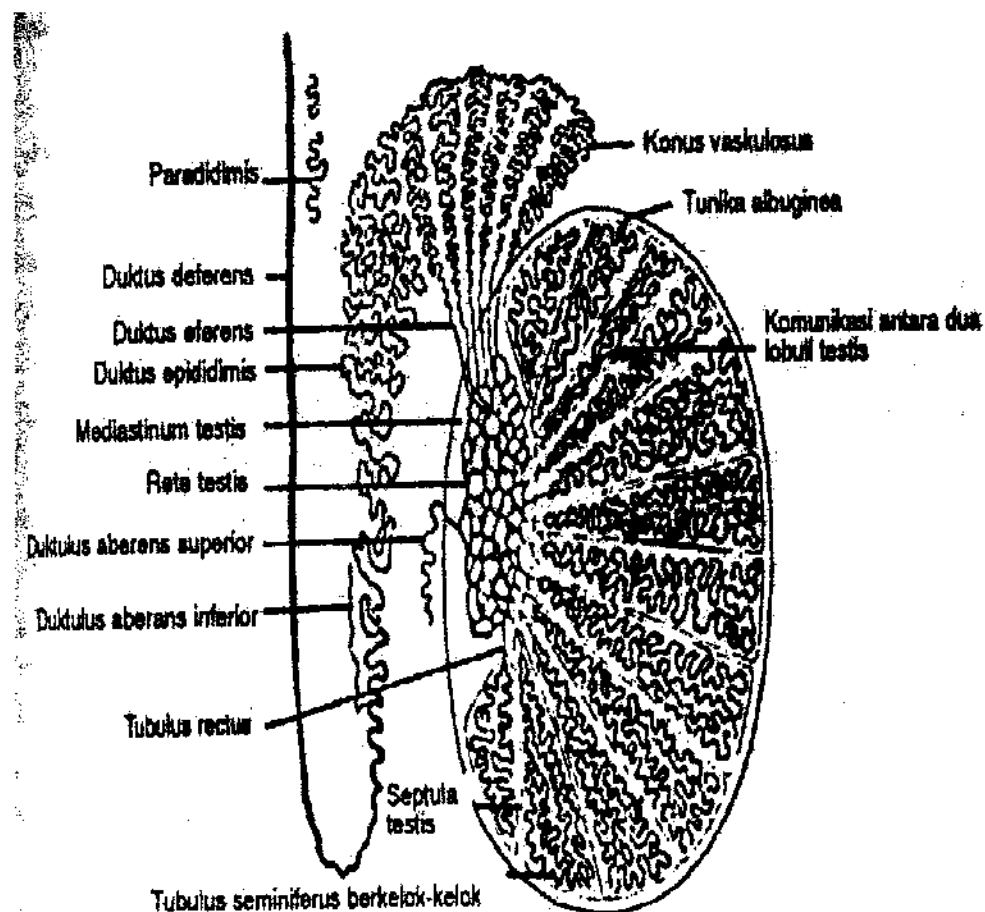
1. lapisan terluar : tunika vaginalis
2. lapisan tengah : tunika albuginea
3. lapisan terdalam : tunika vaskulosa

(Bloom dan Fawcet, 2002; Junquiera, 1997; Leeson, 1996).

Tunika albuginea testis menebal pada permukaan posterior testis dan menjorok masuk ke dalam kelenjar sebagai mediastinum testis. Sekat-sekat fibrosa yang tipis menyebar dari mediastinum testis ke arah simpai testis dan membagi permukaan dalam testis menjadi kurang lebih 250 bangunan berbentuk piramid yang disebut lobuli testis dengan puncaknya menghadap mediastinum (Leeson, 1996).

Tiap lobulus berisi 1-4 tubulus yang berkelok-kelok yaitu tubulus seminiferus. Masing-masing tubulus mempunyai diameter 150-300 μ m dan panjang sekitar 50 cm. Total panjang tubulus sekitar 250 m. Tubulus seminiferus merupakan bagian testis yang menghasilkan spermatozoa, lebih dari 200 juta spermatozoa dihasilkan tubulus perharinya (Goodman, 1980; Nowak dan Hanford, 1999). Pada tikus dewasa, panjang rata-rata satu tubulus seminiferus dari ujung ke ujung kurang lebih 32,2 cm dan diameter kurang lebih 2,50 mikron

(Clermont dan Huckins, 1961 *cit* Witono, 1998). Dengan jumlah sel spermatozoa yang dihasilkan kurang lebih 86 juta perhari (Dixon, 1986). Tiap tubulus seminiferus selanjutnya dekat mediastinum menjadi tubulus yang lurus yaitu tubulus rectus yang merupakan bagian pertama sistem saluran keluar. Tubulus rectus selanjutnya menuju ke rete testis, sistem ruang-ruang yang rumit di mediastinum.



Gambar 2.2 Diagram potongan testis dan duktus-duktusnya (Geneser, 1994)

Di sebelah luar, tunika albuginea dibungkus oleh lapisan serosa yang membentuk lapisan viseralis, yaitu tunika vaginalis propria testis (selama kehidupan fetal, testis turun dari rongga abdomen ke dalam skrotum dan bersama dengan itu membawa kantung peritoneal yang membentuk tunika vaginalis propria).

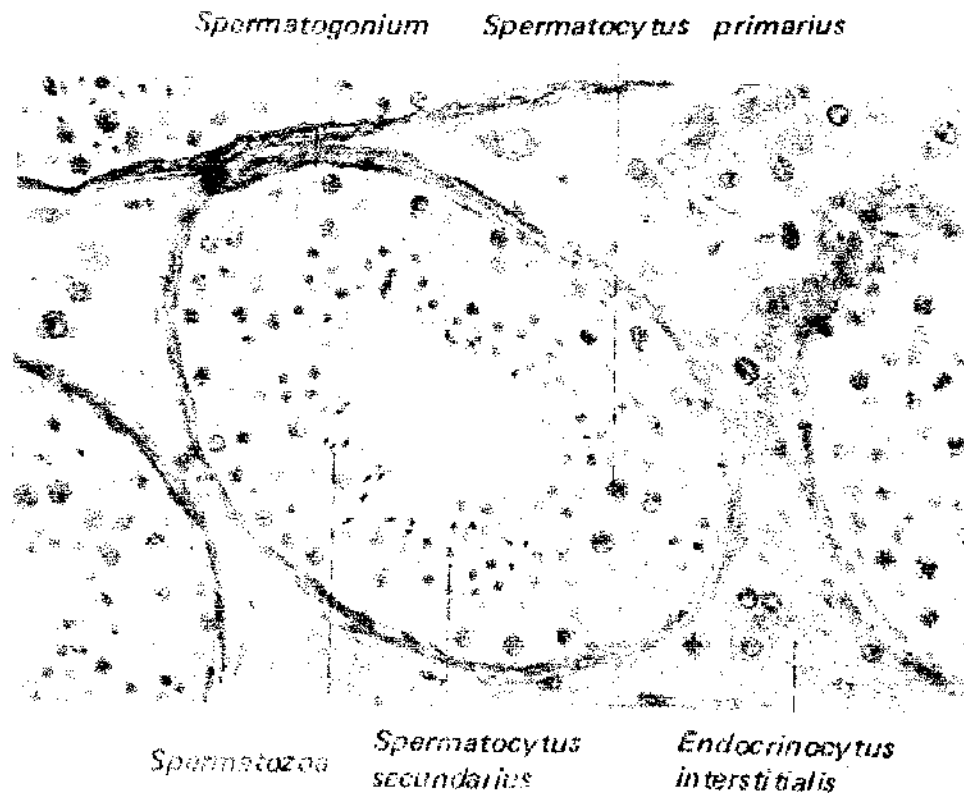
Di sebelah dalam, tunika albuginea melanjutkan diri menjadi suatu jaringan ikat longgar yang vaskuler, yaitu jaringan interstisial yang mengelilingi tubulus seminiferus dan mengisi lobulus.

Jaringan interstisial ini berisi pembuluh darah, saraf, limfe dan sel-sel epiteloid yang disebut sel-sel interstisial atau sel Leydig yang mempunyai fungsi endokrin (Geneser, 1994; Junquiera, 1997).

2.2.2 Tubulus seminiferus

Tubulus seminiferus terdiri atas suatu lapisan jaringan ikat fibrosa, lamina basalis yang berkembang baik dan suatu epitel germinal kompleks atau seminiferus (Junquiera, 1997) yang merupakan modifikasi epitel berlapis kuboid (Leeson, 1996).

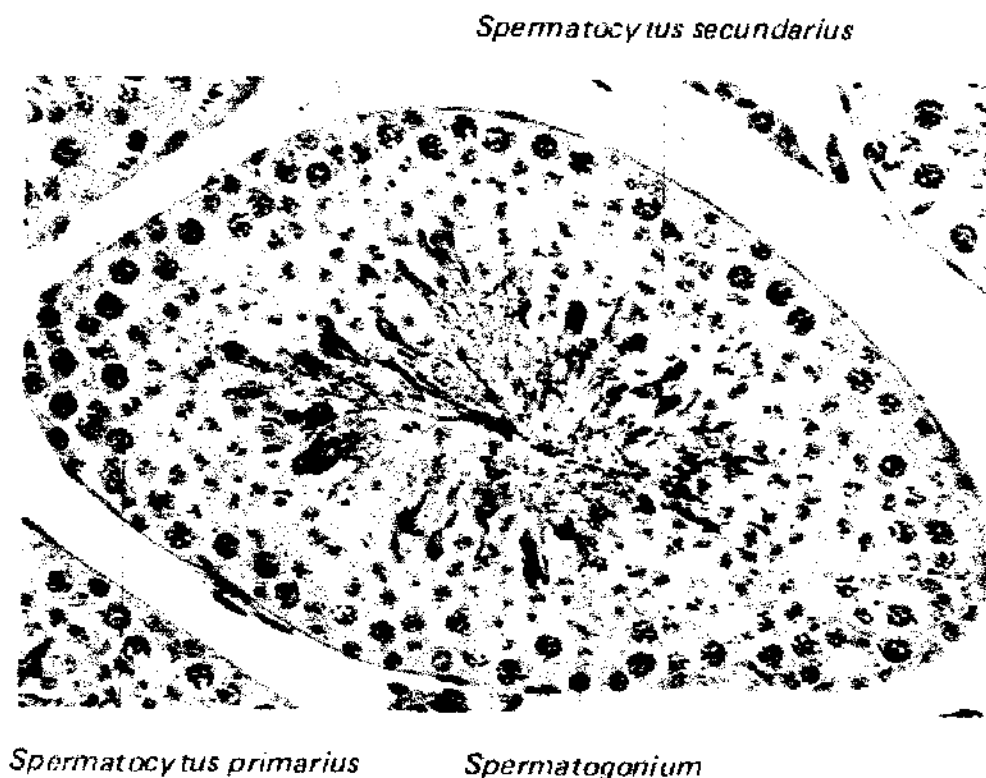
Tunika propria fibrosa yang membungkus tubulus seminiferus terdiri atas beberapa fibroblas. Lapisan paling dalam yang melekat pada lamina basalis terdiri atas sel-sel mioid gepeng yang memperlihatkan ciri otot polos (Junquiera, 1997). Sel ini bersifat kontraktile (Geneser, 1994; Bloom dan Fawcett, 2002).



Gambar 2.3 Gambar penampang lintang tubulus seminiferus testis manusia
(Sobotta dan Hammersen, 1990)

Epitel seminiferus terdiri atas dua jenis sel, yaitu sel penyokong atau sel Sertoli dan sel-sel spermatogenik. Sel-sel spermatogenik terdiri atas spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa. Hanya sel-sel Sertoli dan spermatogonium melekat pada membrana basalis (Geneser, 1994). Sel-sel spermatogenik berkembang secara progresif dari daerah basal tubulus ke arah lumen. Proliferasi mendorong sel-sel ke arah lumen berubah menjadi spermatozoa dan melepaskan diri dari epitel dan terletak bebas dalam lumen. Urutan kejadian disebut sebagai spermatogenesis. Termasuk

di dalamnya proses multiplikasi sel dan peristiwa reduksi kromosom dari jumlah diploid menjadi haploid dan diferensiasi seluler (spermiogenesis) (Leeson, 1996).



Gambar 2.4 Gambar penampang lintang tubulus seminiferus testis tikus (Sobotta dan Hammersen, 1990)

2.2.3 Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan suatu proses yang diperkirakan terjadi selama 64 hari (Geneser, 1994; Junquiera, 1997; Leeson, 1996), pada tikus putih terjadi selama 40-50 hari (Clermont dan Perey, 1957 *cit* Witono, 1998). Dimulai dengan spermatogonium yang letaknya tepat di atas lamina basalis. Spermatogonium merupakan satu-satunya sel benih yang ada sampai masa pubertas dan

mengandung kromosom diploid dalam inti selnya (44 autosom dan 2 kromosom sex, x dan y).

a. Spermatogonium

Spermatogonium adalah sel pertama dari spermatogenesis . Pada epitel tubulus seminiferus dibedakan dua jenis spermatogonium.

- spermatogonium tipe A

intinya bulat atau lonjong, dengan kromatin yang sangat halus dan satu atau dua anak inti. Sel ini merupakan sel induk dan akan mengalami beberapa kali mitosis. Beberapa di antara sel ini tetap menjadi spermatogonium tipe A dan beberapa lainnya menjadi tipe B

- spermatogonium tipe B

intinya bulat dengan bintik-bintik kromatin yang bervariasi ukurannya dan hanya terdapat satu anak inti. Bila sel ini membelah diri berdiferensiasi menjadi spermatosit primer (Geneser, 1994).

b. Spermatosit primer

Spermatosit primer bergerak ke arah lumen dan terletak dalam lapisan sel lebih ke arah lumen daripada spermatogonium. Bersamaan dengan itu, sel bertambah besar (Geneser, 1994). Spermatosit primer merupakan sel benih terbesar yang terdapat dalam tubulus seminiferus. Dengan berdiferensiasinya sel spermatosit primer, taut kedap (*tight junction*) di antara sel Sertoli yang berdekatan akan hilang sehingga memungkinkan berpindahnya spermatosit dari ruang basal ke ruang adluminal. *Tight junction* selanjutnya akan terbentuk kembali di antara spermatosit dan spermatogonium. Spermatosit kini menempati daerah tengah epitel.

Intinya bulat. Pembelahan yang terjadi pada spermatosit primer adalah meiosis yang menghasilkan spermatosit sekunder dengan membawa 23 kromosom (22 autosom; satu kromosom sex, x atau y) tiap selnya (Leeson, 1996).

c. Spermatosit sekunder

Spermatosit sekunder lebih kecil dibanding spermatosit primer. Sel ini dengan cepat memasuki pembelahan meiosis kedua dan jarang tampak pada sediaan histologik. Inti bulat berisi kromatin kasar (Geneser, 1994). Pembelahan spermatosit sekunder menghasilkan spermatid yang mengandung 23 kromosom tiap selnya (Junquiera, 1997).

d. Spermatid

Spermatid terletak dalam lapisan sel dekat lumen. Inti sel hampir memenuhi seluruh sitoplasmanya (Wonodirekso, 2000). Warna inti pucat dan eksentris. Sel sangat kecil hingga mudah dikenali (Geneser, 1994).

e. Spermiogenesis

Merupakan stadium akhir spermatogenesis. Prosesnya berupa spermatid yang berdiferensiasi menjadi spermatozoa. Tidak terdapat pembelahan sel pada proses ini (Geneser, 1994).

Spermiogenesis dapat di bagi menjadi 3 fase :

- fase Golgi

sitoplasma spermatid mengandung kompleks Golgi yang mencolok dekat dengan inti, mitokondria, sepasang sentriol ribosom bebas dan tubulus retikulum endoplasmik halus. Granula proakrosom kecil yang PAS-positif berkumpul dalam kompleks Golgi dan kemudian menyatu

membentuk satu granula akrosom yang terdapat di dalam gelembung akrosom berbatas membran. Sentriol bermigrasi ke posisi dekat permukaan sel dan berlawanan dengan lokasi dari akrosom. Pembentukan aksonema berflagel dimulai dan sentriol bermigrasi kembali ke arah inti, sambil memilin komponen aksonema sewaktu bergeser (Junquiera, 1997).

- fase akrosomal

gelembung dan granula akrosomal menyebar untuk menutupi belahan anterior dari inti yang memadat dan kini dikenal sebagai akrosom. Akrosom menggandung beberapa enzim hidrolitik. Akrosom berfungsi sebagai lisosom berjenis khusus. Enzim ini melepaskan sel sperma dari korona radiata dan mencernakan zona pelucida. Bila spermatozoa bertemu dengan ovum, maka membran luar akrosom menyatu dengan membran plasma pada beberapa tempat dan membebaskan enzim akrosom. Proses ini dikenal sebagai reaksi akrosom (Junquiera, 1997). Sewaktu pembentukan akrosom berlangsung di satu kutub inti, sentriol berhubungan dengan membran inti sel pada kutub berlawanan dan satu flagel halus tumbuh dari salah satu sentriol. Sewaktu flagel tumbuh, suatu selubung tipis yang disebut tabung kauda atau manset terbentuk mengelilingi sumbu flagel, sedangkan sentriol lain bergerak pindah ke arah permukaan sel dan melingkari sumbu panjang filamen seperti suatu cincin atau annulus. Inti sel memadat, agak gepeng-memanjang dan berpindah ke arah membran sel dan terbentuklah kepala sperma yang tetap.

Pada saat yang bersamaan terjadi pergeseran massa sitoplasma ke arah ujung ekor sel. Mitokondria yang selama itu tersebar secara tidak teratur di sitoplasma, bergerak ke daerah antara sentriol basal dan annulus. Di daerah ini, mitokondria tersusun dalam bentuk spiral atau heliks, mengitari bagian proksimal flagel, membentuk selubung mitokondria sehingga membatasi bagian tengah spermatozoa yang sedang terbentuk. Sewaktu diferensiasi berlangsung, sebagian besar sitoplasma yang berlebihan dibuang sebagai badan-badan residu dan hanya selapis tipis sitoplasma tertinggal yang membungkus inti, bagian tengah dan bagian ekor spermatozoa. Badan-badan residu difagositosis oleh sel Sertoli. Lemaknya tetap tertinggal di dalam sitoplasma sel Sertoli dan mungkin merupakan bagian terbesar lemak yang terdapat di dalam sel Sertoli, yaitu tempat spermatid melekat. Terdapat bukti yang menunjukkan bahwa lemak tersebut digunakan oleh sel Sertoli untuk membentuk hormon yang mempunyai peranan penting dalam mengatur spermatogenesis setempat. Susunan bagian ekor mirip dengan silia yaitu mempunyai susunan dan jumlah filamen longitudinal yang sama (Leeson, 1996).

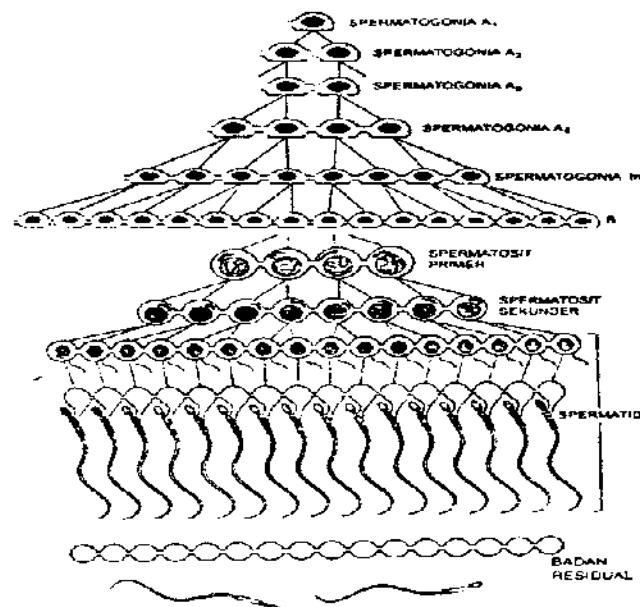
- fase pematangan

sitoplasma residu dibuang dan difagositosis oleh sel Sertoli dan spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus (spermiasi) (Junquiera, 1997).

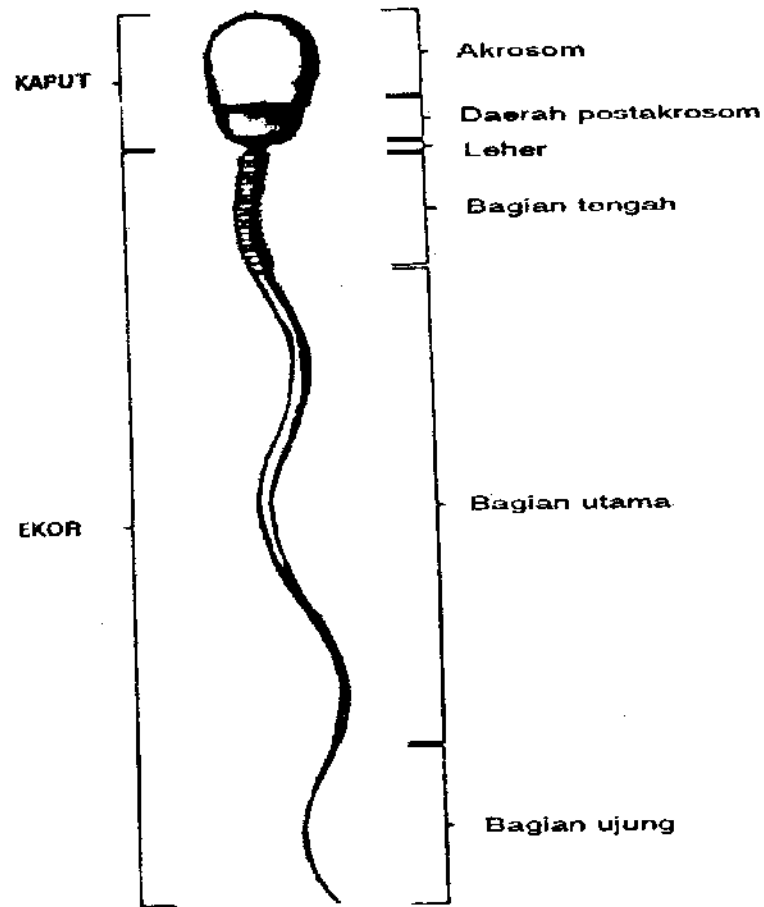
f. Spermiasi

Spermiasi adalah istilah yang menunjukkan pelepasan spermatozoa dari epitel seminiferus. Dengan diferensiasi spermatid, spermatozoa bergerak lambat ke arah permukaan epitelium dengan proliferasi generasi germinal berturut-turut di belakangnya. Pada stadium akhir perkembangan, ekornya berproyeksi ke dalam lumen. Nukleus tertutup akrosom dan tambahan kelebihan sitoplasma berbentuk tabung menempati tempat yang sesuai pada permukaan apikal sel Sertoli.

Selama pelepasan spermatozoa, kepala tampak aktif dikeluarkan oleh sel Sertoli, dan tambahan kelebihan sitoplasma yang berbentuk tabung diambil, membebaskan spermatozoa dan meninggalkan massa sitoplasma spermatid tanpa nukleus, disebut badan residual (Bloom dan Fawcett, 2002).



Gambar 2.5 Diagram spermatogenesis (Bloom dan Fawcett, 2002).

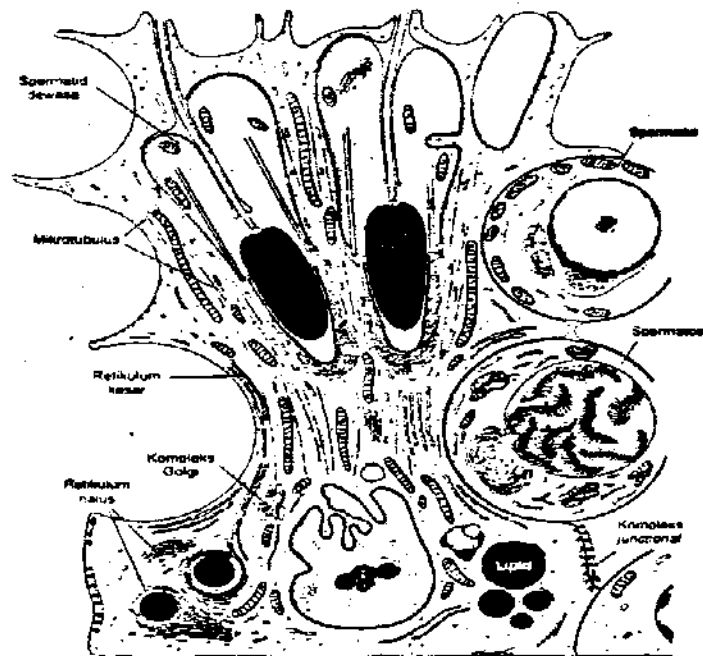


Gambar 2.6 Sel spermatozoa matang (Bloom dan Fawcett, 2002)

g. Spermatozoa

Spermatozoa pada manusia terdiri atas bagian kepala, bagian tengah dan bagian ekor. Bagian kepala terdiri atas inti dan akrosom yang memadat di bagian anterior kepala. Bagian kepala mengandung DNA. Akrosom diduga mengandung *hyaluronidase* (enzym yang mempermudah masuknya spermatozoa ke dalam sel telur).

Bagian tengah terpisah dari bagian kepala melalui leher sempit, yang mengandung filamen-filamen memanjang diselubungi mitokondria. Bagian ekor memiliki dua filamen pusat dan sembilan pasang filamen tepi (Leeson, 1996). Sel spermatozoa ini biasanya terdapat dalam kelompok, menempel pada permukaan sel Sertoli (Wonodirekso, 2003).



Gambar 2.7 Sel sertoli (Bloom dan Fawcett, 2002)

2.2.4 Sel Sertoli

Jumlahnya relatif lebih sedikit dan tersusun sepanjang tubulus pada jarak yang teratur di antara sel spermatogonium (Wonodirekso, 2003). Sel tinggi seperti tiang, dasarnya terletak pada lamina basalis. Bentuk sel tidak teratur, tidak tampak jelas dan sangat kompleks karena kepala spermatozoa matang menempati

cekungan sitoplasmanya. Inti bentuk bulat lonjong, pucat, tersusun radial, anak inti jelas (Leeson, 1996; Paz *et al*, 1993).

Fungsi sel Sertoli :

- menunjang, melindungi, mengatur nutrisi spermatozoa
- fagositosis kelebihan sitoplasma spermatid (residu)
- sekresi suatu cairan untuk transpor sperma ke tubulus seminiferus, juga mensekresikan peptida yang disebut inhibin, yang menekan sekresi FSH dan pelepasannya dalam kelenjar hipofisa anterior
- produksi hormon anti-mullerian. Hormon ini bekerja selama perkembangan embrional, untuk memudahkan regresi saluran Muller (paramesonefros) (Junquiera, 1997; Vander *et al*, 2001).

2.2.5 Sel Leydig

Terdapat di jaringan interstisial di antara tubulus seminiferus (Junquiera, 1997). Sel Leydig berkelompok memadat. Sel besar, sitoplasma sering tampak bervakuol, inti mengandung butir kromatin kasar, anak inti jelas. Umum pula ditemui sel dengan 2 inti. Sitoplasma kaya benda inklusi seperti titik lipid (Leeson, 1996). Fungsinya menghasilkan hormon testosteron (Bloom dan Fawcett, 2002; Geneser, 1994).

2.2.6 Pengaturan hormonal fungsi testis

Bagian utama dari pengaturan fungsi seksual dimulai dengan sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) oleh hipotalamus. Hormon ini selanjutnya merangsang hipofisis anterior untuk mensekresi dua hormon lain yang

disebut hormon-hormon gonadotropin, *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). LH merupakan rangsangan utama untuk sekresi testosteron oleh testis, dan FSH terutama merangsang spermatogenesis. Testosteron disekresi oleh sel-sel interstisial Leydig di dalam testis tetapi hanya apabila sel-sel interstisial Leydig dirangsang oleh LH dari kelenjar hipofisis. FSH berikatan dengan reseptor-reseptor FSH spesifik yang melekat pada sel-sel Sertoli di dalam tubulus seminiferus. Pengikatan ini mengakibatkan sel-sel tumbuh. Di sisi lain, testosteron yang terdifusi ke dalam tubulus dari sel-sel Leydig, juga mempunyai pengaruh tropik yang kuat terhadap spermatogenesis. Ketika tubulus seminiferus gagal menghasilkan sperma, sekresi FSH meningkat. Sebaliknya bila spermatogenesis berjalan terlalu cepat, sekresi FSH berkurang. Penyebab pengaruh umpan balik negatif ini adalah suatu hormon yang disekresi oleh sel Sertoli yaitu inhibin. Hormon ini mempunyai pengaruh langsung yang kuat terhadap hipofisis anterior dalam menghambat sekresi FSH (Bardin, 1986; Ganong, 2001; Guyton dan Hall, 1997; Silverthorn *et al*, 2001).

2.3 Pemilihan Hewan Coba

Pada penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan dengan alasan :

- pada penelitian ini tidak memungkinkan untuk menggunakan testis manusia sebagai sediaan histologik, di samping efek negatif dari etanol yang bersifat merugikan pada manusia.
- tikus putih sebagai hewan coba, mudah didapat dan murah.

- hewan coba tikus putih cukup jinak sehingga pemberian perlakuan dapat dilakukan dengan mudah
- testis tikus putih jantan mempunyai struktur histologik yang cukup mirip dengan manusia
- penggunaan hewan coba tikus putih juga mengacu pada penelitian-penelitian sejenis sebelumnya.

BAB 3

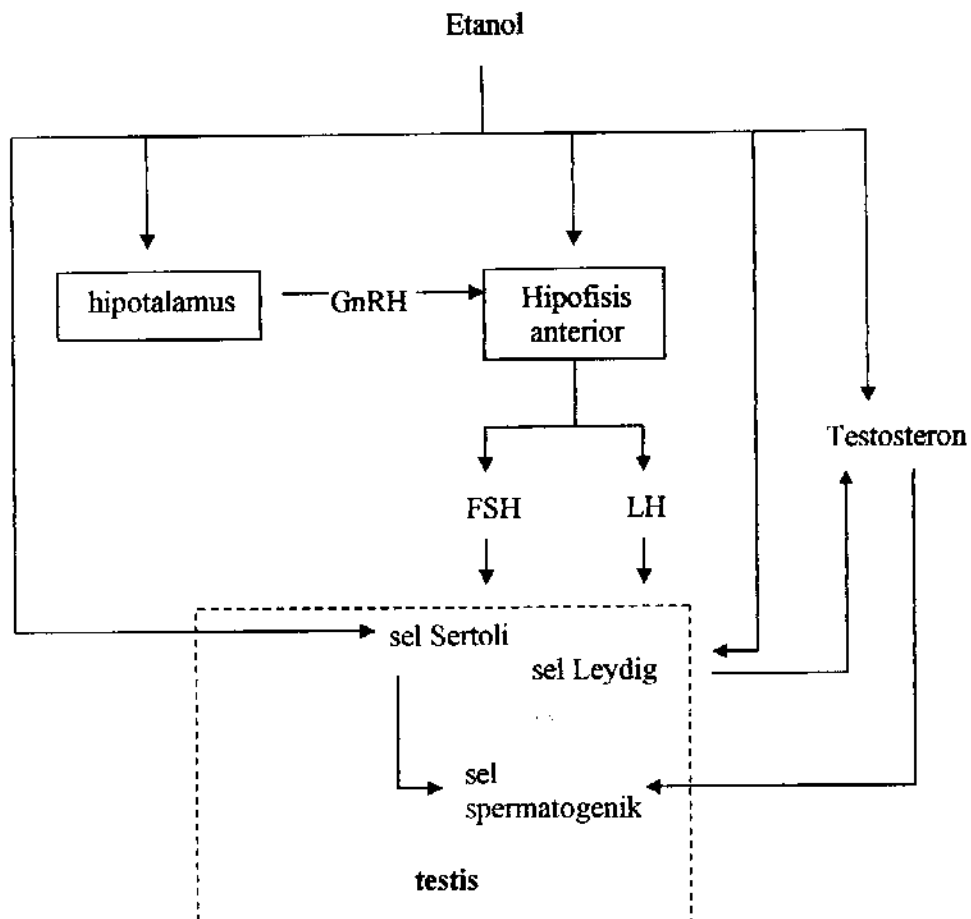
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Sudah sejak lama etanol dikenal sebagai salah satu jenis minuman yang dikonsumsi manusia, dengan tujuan untuk mendapatkan perasaan gembira, melepaskan depresi dan untuk mendapatkan ketenangan. Dalam perkembangannya, etanol ternyata memberikan pengaruh yang kurang menguntungkan pada berbagai organ dan jaringan tubuh manusia, tidak ketinggalan pengaruhnya terhadap fungsi seksual pria, termasuk impotensi, sterilitas dan atrofi testis. Dari penelitian-penelitian didapatkan bahwa penggunaan etanol dapat menurunkan kadar GnRH darah, yang dengan sendirinya menurunkan kadar LH dan FSH darah. Di samping itu, dalam hipofisis etanol juga menurunkan kepekaan dan respon gonadotropin terhadap GnRH. Dengan menurunnya LH dan FSH dalam darah akan menurunkan stimuli terhadap sel Sertoli dan sel Leydig dalam testis. Sel Leydig yang berfungsi untuk melepaskan hormon testosteron akan terhambat oleh etanol, di sisi lain etanol sendiri merusak hormon testosteron dalam darah. Sel Sertoli yang bekerja merangsang pertumbuhan dan pematangan sel-sel spermatogenik juga mengalami hambatan oleh karena etanol, sehingga proses spermatogenesis pun akan mengalami gangguan. Dari penelitian terakhir juga ditemukan bahwa etanol tidak hanya menghambat sel Sertoli dan sel Leydig melalui jalur aksis hipofisis-testis, tetapi diduga langsung mengakibatkan kerusakan pada kedua jenis sel tersebut.

Dari keterangan di atas, maka perlu dibuktikan apakah pemberian etanol per oral dalam beberapa dosis dan konsentrasi yang bervariasi, dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik dan sel Leydig pada tikus putih jantan.

Kerangka konseptual dapat digambarkan dengan diagram di bawah ini :



3.2 Hipotesis

Dari kerangka konseptual di atas, maka dapat dikemukakan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Terdapat penurunan jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan setelah pemberian etanol per oral.
2. Terdapat penurunan tertinggi jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan pada dosis etanol terbesar (3 gr/kgBB).
3. Terdapat penurunan tertinggi jumlah sel-sel spermatogenik, dan sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan pada konsentrasi etanol terbesar (30%).

BAB 4

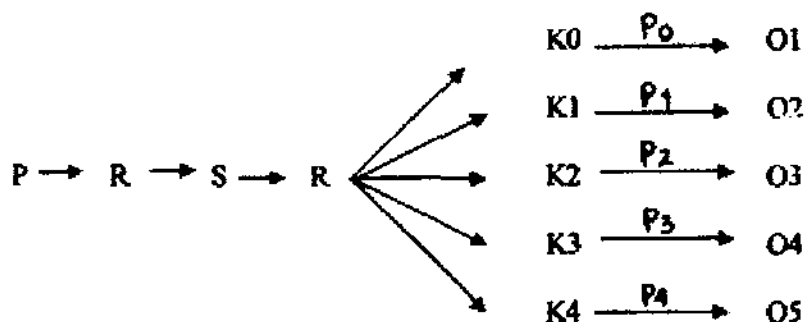
MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design* (Zainuddin, 2000).

Rancangan penelitian ini disusun sebagai langkah untuk melihat gambaran histologik tubulus seminiferus setelah pemberian etanol dalam dosis dan konsentrasi yang bervariasi, yang diberikan pada kelompok perlakuan dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

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



P : Populasi

R : Randomisasi

S : Sampel

K0 : Kelompok kontrol dengan pemberian aquadest 2 ml/hr/per oral

- K1 : Kelompok dengan pemberian etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral
 K2 : Kelompok dengan pemberian etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral
 K3 : Kelompok dengan pemberian etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral
 K4 : Kelompok dengan pemberian etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral
 P0 : Perlakuan dengan pemberian aquadest 2 ml/hr/per oral
 P1 : Perlakuan dengan pemberian etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral
 P2 : Perlakuan dengan pemberian etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral
 P3 : Perlakuan dengan pemberian etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral
 P4 : Perlakuan dengan pemberian etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral
 O1 : Data kelompok kontrol setelah 45 hari perlakuan
 O2 : Data kelompok K1 setelah 45 hari perlakuan
 O3 : Data kelompok K2 setelah 45 hari perlakuan
 O4 : Data kelompok K3 setelah 45 hari perlakuan
 O5 : Data kelompok K4 setelah 45 hari perlakuan

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan yang berusia sekitar 40 – 60 hari (umur dewasa) dan mempunyai berat rata-rata 200 - 250 gram (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988) yang diperoleh dari laboratorium Biokimia FK Unair.

Besar sampel penelitian ini adalah 35 ekor tikus putih, yang ditetapkan berdasarkan rumus (Steel and Torrie, 1991 *cit* Rosida, 2002)

$$(K-1)(r-1) \geq 20 \text{ dimana}$$

K – jumlah macam perlakuan

R = jumlah replikasi untuk setiap kelompok

Hasil, K = 5 dan r = 6

Dari rumus tersebut diperoleh besar sampel untuk tiap kelompok minimal 6 ekor.

Karena selama perlakuan terdapat kemungkinan mati (f) \pm 10%, maka besar sampel tersebut dikalikan $1 / 1-f$, sehingga besar sampel keseluruhan adalah 7 ekor tikus putih per kelompok perlakuan.

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara random.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

a. Variabel bebas

Etanol dengan variasi dosis dan konsentrasi.

b. Variabel tergantung

- jumlah spermatogonium
- jumlah spermatisit primer
- jumlah sel Leydig

4.3.2 Definisi operasional

- ##### a. Variabel bebas : etanol dengan variasi dosis dan konsentrasi.
- Etanol yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol hasil pengenceran etanol absolut yang diperoleh dari PT Kurnia Jaya Multisentosa, pengenceran dilakukan dengan aquades.

b. Variabel terikat

- Jumlah spermatogonium adalah jumlah spermatogonium pada tubulus seminiferus di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
- Jumlah spermatosit primer adalah jumlah spermatosit primer pada tubulus seminiferus di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.
- Jumlah sel Leydig adalah jumlah sel Leydig pada jaringan interstisial testis di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40.

4.4 Bahan Penelitian**4.4.1 Bahan perlakuan**

Bahan yang digunakan pada hewan coba adalah :

- a. Pellet
- b. Air ledeng PDAM
- c. Etanol 10% dan 30%
- d. Aquades

4.4.2 Bahan pemeriksaan

- a. Eter untuk pembiusan
- b. NaCl fisiologis untuk mencuci testis
- c. Testis tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*)
- d. Bahan untuk pembuatan preparat histologik metode parafin
 - larutan Bouin untuk fiksasi
 - alkohol 70%, 80%, 90%, 95% dan absolut untuk dehidrasi
 - larutan xylol untuk clearing
 - parafin cair untuk blok jaringan

- albumin Meyer, dibuat dari putih telur dan gliserin 1 : 1
- Entelan / Canada Balsam
- e. Bahan untuk pewarnaan Periodic Acid-Schiff (PAS)
 - larutan Xylol
 - larutan alkohol 95% dan absolut
 - larutan periodic acid 5 %
 - reagen Schiff
 - larutan hematoksin
 - *acid* alkohol (Sudiana; Gridley, 1960)

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat untuk pemeliharaan tikus putih jantan

- a. kandang tempat pemeliharaan
- b. botol untuk tempat minum
- c. tempat makanan
- d. sonde (feeding tube) no. 8
- e. spuit 10 cc untuk memasukkan bahan coba dalam sonde

4.5.2 Alat untuk pembiusan dan pengambilan jaringan testis

- a. toples dengan tutup untuk pembiusan
- b. botol kecil dengan tutup untuk fiksasi jaringan
- c. seperangkat alat bedah minor

4.5.3 Alat untuk pembuatan dan pengamatan sediaan histologi testis

- a. mikrotom

- b. *object glass* dan *deck glass*
- c. cetakan dari logam yang berbentuk L
- d. *water bath*
- e. *staining jar*
- f. mikroskop dengan okuler skala mikrometer
- g. alat *counter*

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Pemeliharaan hewan coba

Sebelum diberikan perlakuan, hewan coba diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium, di laboratorium Biokimia FK Unair. Hewan coba dipelihara dalam kandang, dilengkapi dengan tempat minum/makan. Ukuran kandang harus diperhitungkan mengingat pentingnya kebebasan bergerak bagi hewan coba (Chengelis dan Gad, 1992). Untuk luas kandang mengikuti rumus :

$$A' = n (0,7 W + 6 W')$$

$$A' = \text{luas kandang (cm}^2\text{)}$$

$$W = \text{berat hewan (gram)}$$

$$N = \text{jumlah hewan (Kusumawati, 2003)}$$

Makanan tikus putih menggunakan makan standar dan minum air ledeng dari PDAM.

4.6.2 Persyaratan etik

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

4.6.3 Perlakuan hewan coba

Tikus putih dibagi secara acak menjadi 5 kelompok

- a. Kelompok K : kelompok kontrol yang diberi aquadest 2 ml/hr/per oral selama 45 hari.
- b. Kelompok K1 : kelompok perlakuan yang diberi etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral selama 45 hari.
- c. Kelompok K2 : kelompok perlakuan yang diberi etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral selama 45 hari,
- d. Kelompok K3 : kelompok perlakuan yang diberi etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral selama 45 hari
- e. Kelompok K4 : kelompok perlakuan yang diberi etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral selama 45 hari.

Masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus putih jantan umur 40 - 60 hari dengan berat sekitar 200 - 250 gram. Etanol diberikan 1 kali / hari pada waktu yang sama. Cara pemberian per oral dengan menggunakan sonde. Perlakuan ini diberikan selama 45 hari, mengingat satu siklus spermatogenesis

tikus putih adalah 40 - 50 hari, sehingga diharapkan dalam waktu 45 hari sudah terlihat hasil yang diinginkan.

Perhitungan dosis yang diberikan pada tikus putih adalah :

Pemberian etanol dengan konsentrasi 10% pada tikus putih dengan berat 200 gram.

- untuk dosis 1 gr/kgBB/hari (1000 mg/kgBB/hari)

dosis untuk tikus putih (200 g) = 200 mg/hari

etanol 10% berarti 100 mg/ml

jumlah larutan : $\frac{200 \text{ mg}}{100} = 2 \text{ ml}$

- untuk dosis 3 gr/kgBB/hari (3000 mg/kgBB/hari)

dosis untuk tikus putih (200 g) = 600 mg/hari

etanol 10% berarti 100 mg / ml

jumlah larutan : $\frac{600 \text{ mg}}{100} = 6 \text{ ml}$

4.6.4 Pembiusan

Pembiusan dilakukan dengan menggunakan eter. Tikus putih dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditutup dengan kaca, kemudian larutan eter diteteskan ke dalam botol tersebut. Tikus diangkat dari toples jika sudah tidak bergerak lagi ($\pm \frac{1}{2}$ - 1 menit setelah eter diteteskan) kemudian diletakkan di papan bedah untuk pengambilan jaringan testis.

4.6.5 Pengambilan jaringan testis

Tikus putih diletakkan di atas meja bedah dalam posisi terlentang dengan keempat anggota gerak difiksasi. Testis diambil dengan cara membuka skrotum. Testis diikat dengan memotong duktus epididimis yang berbatasan dengan testis kemudian testis dibersihkan dari jaringan ikat dan lemak serta pembungkusnya, dan setelah itu seluruhnya segera dimasukkan ke dalam larutan fiksatif dan dilabelisasi.

4.6.6 Pembuatan sediaan histologik dan pewarnaan

Setelah semua testis terkumpul kemudian dibawa ke laboratorium Histologi Bagian Anatomi-Histologi FK Unair untuk dibuat sediaan histologik metode parafin dengan pewarnaan PAS.

a. Langkah-langkah pembuatan sediaan histologik model parafin adalah sebagai berikut :

1. Fiksasi : dengan larutan Bouin (Picro-Formal)

Picric acid dan jenuh sekitar 1,22% 750 ml

Formalin, Full strength (37-40%) Formaldehyde 250 ml

Acetic acid, Glacial 50 ml (Liben, 1992)

2. Dehidrasi : dengan larutan alkohol 70% selama 2 jam

dengan larutan alkohol 80% selama 2 jam

dengan larutan alkohol 90% selama 2 jam

dengan larutan alkohol 95% selama 2 jam

dengan larutan alkohol absolut I selama 1 jam

dengan larutan alkohol absolut II selama 1 jam

3. *Clearing* : dengan larutan Xylol I selama 2 jam

dengan larutan Xylol II selama 2 jam

4. Infiltrasi : parafin cair I selama 3 jam
parafin cair II selama 3 jam
parafin cair III selama 3 jam
5. *Embedding* : dicetak bentuk blok kemudian didinginkan selama 24 jam
7. *Trimming* : dikepris menjadi cetakan yang rapi
8. *Sectioning* : dilakukan penyayatan/pemotongan dengan mikrotom, dengan tebal 5-7 mikron
9. *Mounting* : hasil potongan diletakkan di atas obyek gelas yang diberi albumin Meyer, dikeringkan dan sediaan siap untuk diwarnai.

b. Langkah-langkah pewarnaan dengan *Periodic Acid Schiff* (PAS) adalah sebagai berikut :

1. Masukkan obyek glass yang berisi jaringan xylene.
2. Masukkan ke alkohol absolut kemudian alkohol 90%.
3. Cuci dengan air.
4. Masukkan ke dalam *periodic acid* 0,5% selama 5 menit.
5. Cuci dengan air.
6. Masukkan ke dalam reagen Schiff selama 15 menit.
7. Cuci dengan air selama \pm 10 menit sampai warna menjadi merah muda.
8. Masukkan ke dalam *acid* alkohol selama 2 menit.
9. Cuci dengan air.
10. Masukkan ke air amoniak sampai berwarna biru.

11. Cuci dengan air.
12. Masukkan ke hematoksilin selama 5 menit.
13. Cuci dengan air.
14. Masukkan ke dalam alkohol 95% kemudian alkohol absolut.
15. Masukkan ke dalam Xylene.
16. Mounting : jaringan ditetesi entelan / Canada Balsam kemudian ditutup dengan gelas penutup (Sudiana; Gridley, 1960).

4.6.7 Pengumpulan data

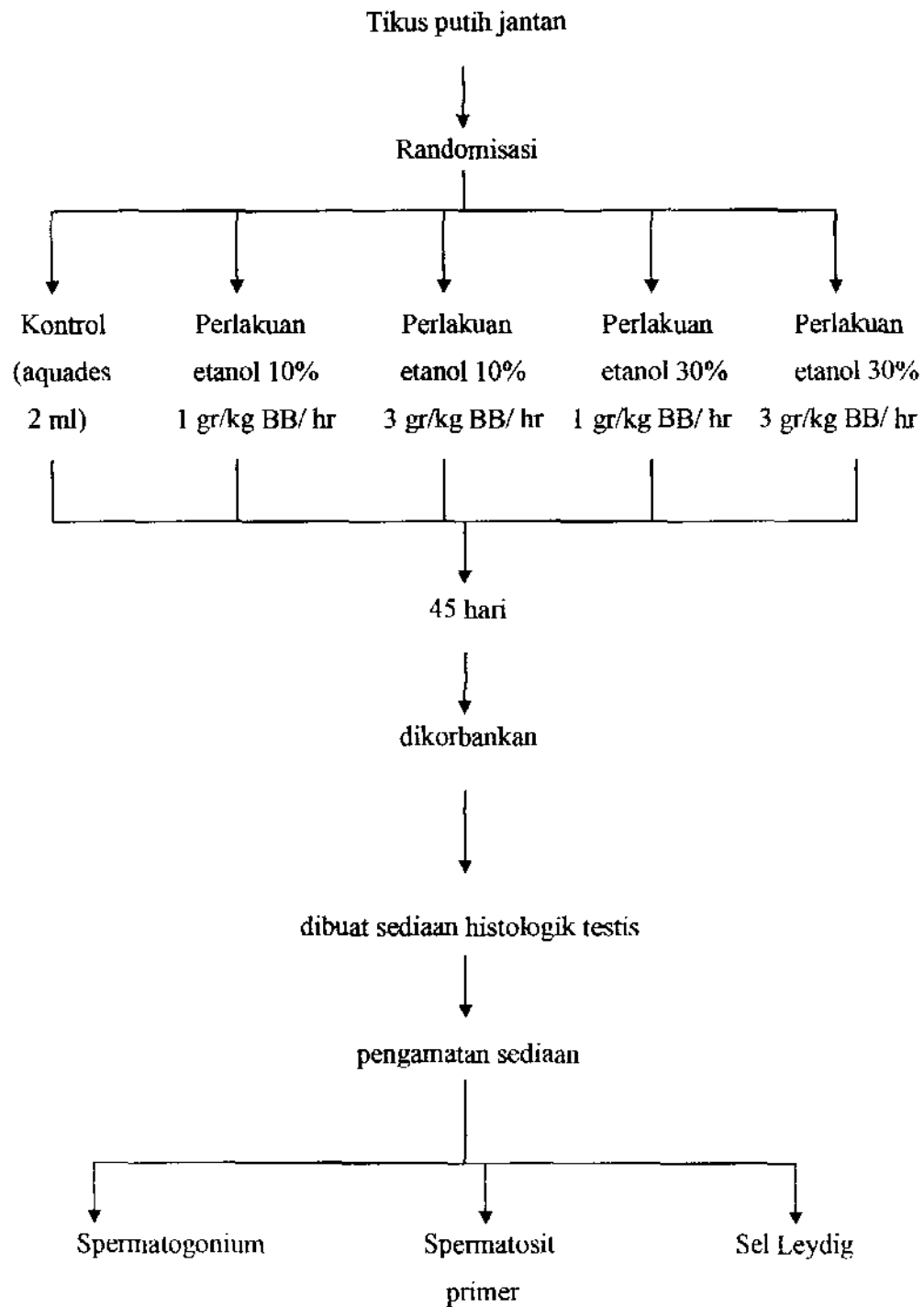
Pengambilan data dengan melihat sediaan histologik di bawah mikroskop cahaya, dan dilakukan penghitungan dengan menggunakan gratikulae terhadap jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, dan sel Leydig.

Tiap sediaan testis tikus putih akan dilihat 10 buah tubulus seminiferus dan 10 jaringan interstisialnya, kemudian diambil rata-rata (mean).

4.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan uji Anova (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 LSD (*Least Significant Difference*).

4.8 Kerangka Operasional Penelitian



BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Selama 45 hari beberapa ekor hewan coba mati, hingga di akhir perlakuan tiap kelompok menyisakan 6 ekor hewan coba. Kemungkinan penyebab kematian adalah aspirasi paru pada saat pemberian larutan etanol. Proses pembuatan sediaan histologik juga berlangsung dengan baik. Hasil penelitian adalah sebagai berikut :

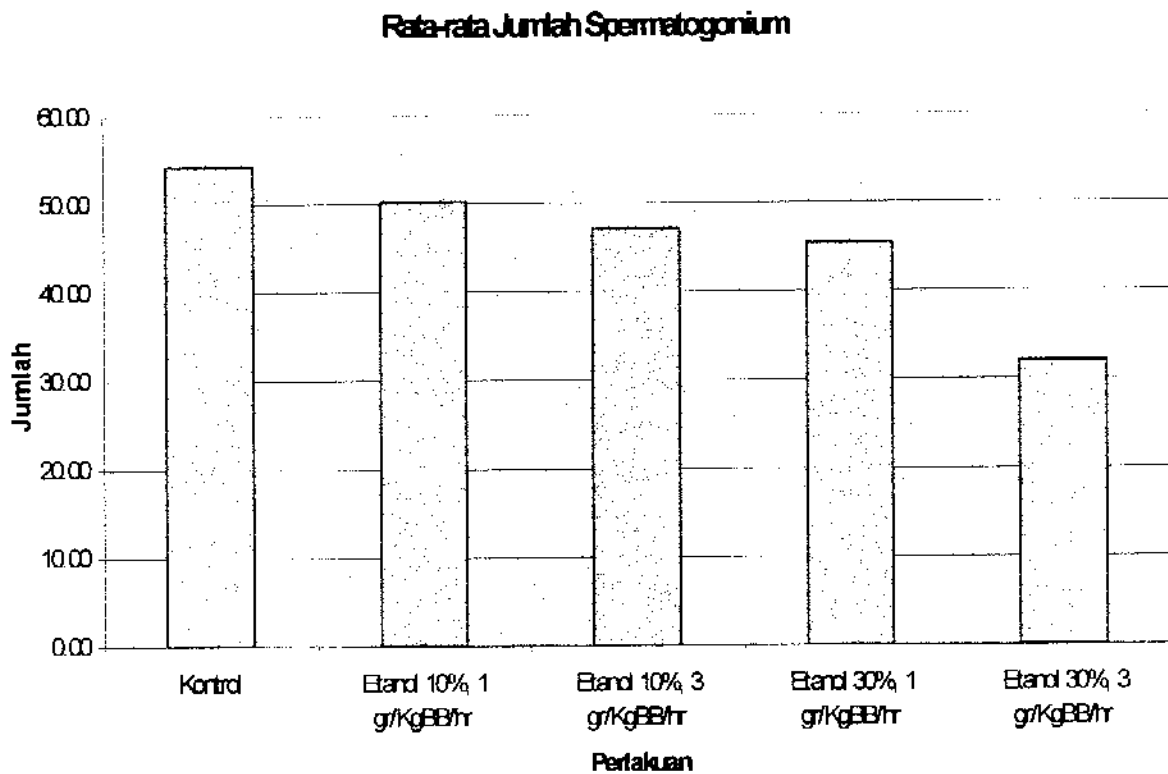
5.1.1 Jumlah sel spermatogonium

Rata-rata jumlah spermatogonium setelah pemberian larutan etanol pada tiap kelompok perlakuan mengalami penurunan. Hal ini dapat dilihat dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol (K0). Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah spermatogonium setelah perlakuan selama 45 hari dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut ini :

Tabel 5.1 Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah spermatogonium

Kelompok	Ulangan	Mean \pm SD
K0	6	54,33 \pm 1,37
K1	6	50,17 \pm 0,41
K2	6	47,00 \pm 1,26
K3	6	45,50 \pm 1,38
K4	6	32,00 \pm 1,10

Dari tabel di atas tampak pemberian larutan etanol 10% dan 30% sebesar 1 gr/kgBB/hari dan 3 gr/kgBB/hari dapat menurunkan jumlah sel spermatogonium dibandingkan kelompok kontrol. Penurunan jumlah sel spermatogonium ini dapat digambarkan pada diagram batang di bawah ini:



Gambar 5.1 Diagram batang jumlah sel spermatogonium setelah pemberian larutan etanol selama 45 hari.

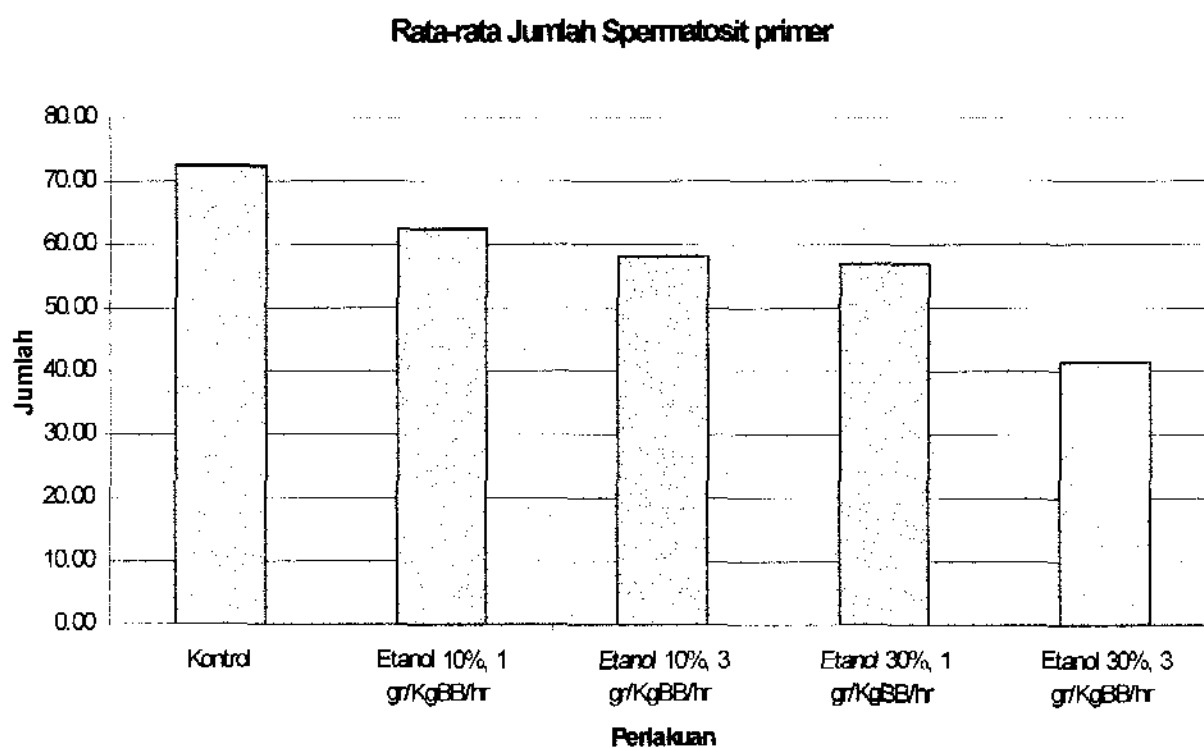
5.1.2 Jumlah sel spermatosit primer

Seperti halnya sel spermatogonium, sel spermatosit setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol juga mengalami penurunan. Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sel spermatosit primer setelah perlakuan selama 45 hari dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sel spermatosit primer

Kelompok	Ulangan	Mean \pm SD
K0	6	72,33 \pm 1,97
K1	6	62,33 \pm 1,37
K2	6	58,17 \pm 1,33
K3	6	57,00 \pm 1,26
K4	6	41,50 \pm 1,22

Tabel di atas tampak pemberian larutan etanol 10% dan 30% sebesar 1 gr/kgBB/hari dan 3 gr/kgBB/hari menyebabkan penurunan jumlah sel spermatosit primer. Hal ini juga digambarkan pada diagram batang berikut ini.



Gambar 5.2 Diagram batang jumlah sel spermatosit primer setelah pemberian larutan etanol selama 45 hari.

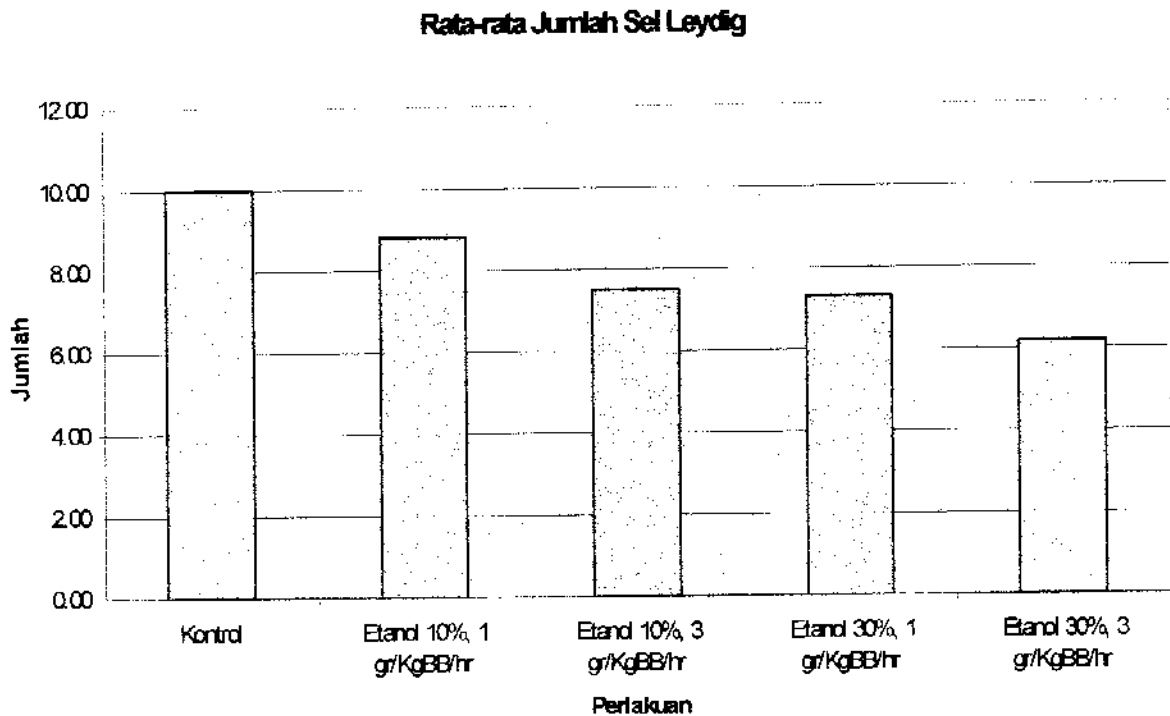
5.1.3 Jumlah sel Leydig

Jumlah sel Leydig dihitung dari 10 jaringan interstisial dan diambil rata-ratanya. Pada penelitian ini rata-rata jumlah sel Leydig mengalami penurunan bila dibandingkan dengan kontrol (K0). Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sel Leydig setelah perlakuan selama 45 hari dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sel Leydig

Kelompok	Ulangan	Mean \pm SD
K0	6	10,00 \pm 0,63
K1	6	8,83 \pm 0,75
K2	6	7,50 \pm 0,55
K3	6	7,33 \pm 0,52
K4	6	6,17 \pm 0,41

Dari tabel di atas tampak pemberian larutan etanol 10% dan 30% sebesar 1 gr/kgBB/hari dan 3 gr/kgBB/hari menyebabkan penurunan jumlah sel Leydig dibandingkan kelompok kontrol. Penurunan jumlah sel Leydig ini dapat digambarkan pada diagram batang berikut ini.



Gambar 5.3 Diagram batang jumlah sel Leydig setelah pemberian larutan etanol selama 45 hari.

5.2 Analisis Hasil Penelitian

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok, maka semua data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varian (Anova) pada $\alpha = 0,05$. Sebelumnya dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan *Levene statistic*.

Dari uji normalitas data tersebut didapat nilai p hitung lebih besar dari α untuk semua data, maka kesimpulan yang diambil bahwa penelitian ini memiliki distribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan analisis varian (Anova). Jika dengan Anova terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan, maka

dilanjutkan dengan *Least Significant Difference* (LSD). Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 2b, 3b dan 4b.

5.2.1 Jumlah sel spermatogonium

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan pada penelitian ini terhadap jumlah sel spermatogonium dapat dilihat dari tabel 5.4 berikut ini.

Tabel 5.4 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel spermatogonium

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Between groups	1703,133	4	425,783	316,176	,000
Within groups	33,667	26	1,347		
Total	1736,800	29			

Dari tabel tersebut didapatkan F hitung 316,176 dengan signifikasi (p) = 0,000, ini berarti $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan K0, K1, K2, K3 dan K4 terhadap rata-rata jumlah sel spermatogonium. Kemudian dari hasil tersebut dilakukan uji LSD untuk mengetahui antar kelompok mana saja yang berbeda bermakna. Rangkuman uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel spermatogonium

Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K0	K1	,000	Bermakna
	K2	,000	Bermakna
	K3	,000	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K1	K2	,000	Bermakna
	K3	,000	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K2	K3	,034	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K3	K4	,000	Bermakna

Keterangan :

K0 = kontrol

K1 = etanol 10% 1 gr/kgBB/hari

K2 = etanol 10% 3 gr/kgBB/hari

K3 = etanol 30% 1 gr/kgBB/hari

K4 = etanol 30% 3 gr/kgBB/hari

Dari uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K0 terhadap K1, K2, K3, K4; juga antara kelompok K1 terhadap K2, K3, K4. Demikian pula antara kelompok K2 terhadap K3, K4; dan antara kelompok K3 terhadap K4.

Untuk melihat pengaruh dosis etanol terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium dapat diketahui dengan melihat tabel LSD antara kelompok K0 terhadap K1, K2 dan K0 terhadap K3, K4. Juga antara kelompok K1 terhadap

K2 dan K3 terhadap K4. Dari uji LSD antara kelompok K1 dan K2 ,serta kelompok K3 dan K4 (memiliki besar konsentrasi etanol sama, dengan besar dosis yang bertingkat), dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara dosis 0 (kelompok K0) dengan dosis 1 gr/kgBB/hr dan dengan dosis 3 gr/kgBB/hr. Demikian juga antara dosis 1 gr/kgBB/hr dengan dosis 3 gr/kgBB/hr terhadap jumlah sel spermatogonium.

Sedangkan pengaruh konsentrasi etanol terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium dapat diketahui dengan melihat uji LSD pada kelompok K0 terhadap K1, K3 dan K0 terhadap K2, K4; juga antar kelompok K1 terhadap K3 dan K2 terhadap K4. Dari uji LSD antara kelompok K1 dan K3 serta antara kelompok K2 dan K4 (memiliki besar dosis etanol yang sama dengan konsentrasi yang bertingkat) dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi etanol 0% (kelompok K0) dengan konsentrasi etanol 10% dan konsentrasi 30%. Demikian juga antara konsentrasi etanol 10% dengan konsentrasi 30% terhadap penurunan jumlah sel spermatogonium.

5.2.2 Jumlah sel spermatosit primer

Jumlah sel spermatosit primer setelah 45 hari perlakuan mengalami penurunan, dan dari tabel 5.6 dapat dilihat pengaruh perbedaan perlakuan terhadap rata-rata jumlah sel spermatosit primer.

Tabel 5.6 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel spermatisit primer.

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Between groups	2982,867	4	745,717	351,753	,000
Within groups	53,000	25	2,120		
Total	3035,867	29			

Dari tabel di atas didapat F hitung 351,753 dengan signifikasi (p) = 0,000, ini berarti $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan K0, K1, K2, K3 dan K4 terhadap rata-rata jumlah sel spermatisit primer. Untuk mengetahui antar kelompok mana saja yang berbeda bermakna dilakukan uji LSD. Rangkuman uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel spermatisit primer

Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K0	K1	,000	Bermakna
	K2	,000	Bermakna
	K3	,000	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K1	K2	,000	Bermakna
	K3	,000	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K2	K3	,177	Tidak Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K3	K4	,000	Bermakna

Keterangan :

- K0 = kontrol
K1 = etanol 10% 1 gr/kgBB/hari
K2 = etanol 10% 3 gr/kgBB/hari
K3 = etanol 30% 1 gr/kgBB/hari
K4 = etanol 30% 3 gr/kgBB/hari

Dari tabel di atas diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K0 terhadap K1, K2, K3, K4; juga antara kelompok K1 terhadap K2, K3, K4. Demikian pula antara kelompok K2 terhadap K4 dan kelompok K3 terhadap K4. Sedangkan antara kelompok K2 terhadap K3 terdapat perbedaan yang tidak bermakna. Dari tabel LSD dapat dilihat pengaruh dosis maupun pengaruh konsentrasi etanol terhadap jumlah sel spermatosit primer.

Pengaruh dosis etanol dapat dilihat dengan cara membandingkan antara kelompok K0 terhadap K1, K2 dan K0 terhadap K3, K4. Juga antara kelompok K1 terhadap K2 dan kelompok K3 terhadap K4. Dari uji LSD diperlihatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara dosis 0 (kelompok K0) dengan dosis 1 gr/kgBB/hr dan dosis 3 gr/kgBB/hr. Demikian juga antara dosis 1 gr/kgBB/hr dan dosis 3 gr/kgBB/hr terhadap jumlah sel spermatosit primer.

Dengan membandingkan uji LSD antara kelompok K0 terhadap K1, K3 dan K0 terhadap K2, K4; juga antara kelompok K1 terhadap K3 dan antara kelompok K2 terhadap K4 dapat diketahui pengaruh konsentrasi etanol terhadap jumlah sel spermatosit primer. Dari uji LSD didapatkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara konsentrasi etanol 0% dengan konsentrasi etanol 10% dan

30%, juga antara konsentrasi 10% dengan konsentrasi 30% terhadap penurunan jumlah sel spermatosit primer.

5.2.3 Jumlah sel Leydig

Setelah 45 hari perlakuan didapatkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel Leydig. Tabel 5.8 menggambarkan pengaruh perbedaan perlakuan terhadap rata-rata jumlah sel Leydig.

Tabel 5.8 Rangkuman Anova pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah sel Leydig

	Sum of squares	df	Mean square	F	Sig
Between groups	52,467	4	13,117	38,578	,000
Within groups	8,500	25	,340		
Total	60,967	29			

Tampak F hitung pada tabel di atas adalah 38,578 dengan signifikansi (p) = 0,000. Berarti $p < 0,05$ hingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan K0, K1, K2, K3, K4 terhadap rata-rata jumlah sel Leydig. Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna. Rangkuman uji LSD dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Rangkuman uji LSD terhadap jumlah sel Leydig

Pasangan	Kelompok	Sig	Kesimpulan
K0	K1	,002	Bermakna
	K2	,000	Bermakna
	K3	,000	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K1	K2	,001	Bermakna
	K3	,000	Bermakna
	K4	,000	Bermakna
K2	K3	,625	Tidak Bermakna
	K4	,001	Bermakna
K3	K4	,002	Bermakna

Keterangan :

K0 = kontrol

K1 = etanol 10% 1 gr/kgBB/hari

K2 = etanol 10% 3 gr/kgBB/hari

K3 = etanol 30% 1 gr/kgBB/hari

K4 = etanol 30% 3 gr/kgBB/hari

Dari tabel di atas diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K0 terhadap K1, K2, K3, K4; juga antara K1 terhadap K2, K3, K4. Perbedaan bermakna, terdapat pula pada kelompok K2 terhadap K4 dan juga pada kelompok K3 terhadap K4. Sedangkan pada kelompok K2 terhadap K3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Pengaruh dosis etanol terhadap jumlah sel Leydig dapat dilihat dengan cara membandingkan antara kelompok K0 terhadap K1, K2 dan K0 terhadap K3,

K4. Juga antara kelompok K1 terhadap K2 dan antara kelompok K3 terhadap K4. Pada kelompok-kelompok ini, memiliki besar konsentrasi etanol yang sama, dengan dosis etanol yang bertingkat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara dosis 0 (K0) dengan dosis 1 gr/kgBB/hr dan dosis 3 gr/kgBB/hr. Demikian juga terdapat perbedaan yang bermakna antara dosis 1 gr/kgBB/hr dengan dosis 3 gr/kgBB/hr terhadap jumlah sel Leydig.

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi etanol terhadap jumlah sel Leydig, dilakukan dengan cara membandingkan hasil uji LSD antara kelompok K0 terhadap K1, K3 dan kelompok K0 terhadap K2, K4; juga antara kelompok K1 terhadap K3 dan kelompok K2 terhadap K4. Hasilnya dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi etanol 0% (K0) dengan konsentrasi 10% dan 30%; juga antara konsentrasi etanol 10% dengan 30% terhadap jumlah sel Leydig.

BAB 6

PEMBAHASAN

Etanol sudah menjadi masalah sosial yang kronis di beberapa negara, sedangkan pada beberapa daerah tertentu di Indonesia juga masih dijumpai kebiasaan mengkonsumsi etanol (Ganiswarna, 1985). Banyak penelitian menunjukkan bahwa penyalahgunaan alkohol (etanol) pada pria dapat menyebabkan gangguan produksi testosteron dan pengecilan ukuran testis. Perubahan-perubahan ini menimbulkan impotensi, infertilitas dan gangguan tanda-tanda seks pria seperti penurunan jumlah rambut wajah dan dada, pembesaran payudara dan penimbunan lemak di daerah perut dan pinggul (Alder, 1992 *cit* Emanuele dan Emanuele, 1998). Di samping berpengaruh pada produksi testosteron, etanol juga berpengaruh terhadap produksi *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) (Emanuele dan Emanuele, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pengaruh etanol terhadap jumlah sel spermatogonium, sel spermatosit primer dan sel Leydig. Rancangan penelitian ini menggunakan *Posttest Only Control Group Design* (Zainuddin, 2000). Pemilihan tikus putih jantan sebagai hewan coba didasarkan pada kemiripan sistem reproduksinya dengan sistem reproduksi pria (Emanuele dan Emanuele, 2001). Sampel yang diambil adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan umur dewasa bertujuan untuk mendapatkan kondisi tubulus seminiferus yang aktif. Pengukuran variabel tergantung, jumlah sel spermatogonium dan jumlah sel spermatosit primer digunakan untuk mengetahui pengaruh etanol terhadap sel-sel spermatogenik yang merupakan bagian dari epitel tubulus

seminiferus. Jumlah sel Leydig juga merupakan salah satu variabel yang dinilai sehubungan dengan fungsinya sebagai kelenjar endokrin khas (karena tidak berkembang dari permukaan epitel seperti kelenjar kebanyakan tetapi berasal dari stroma mesenkim testis), yang mensekresi hormon testosteron (Leeson, 1996).

Pengamatan dilakukan terhadap preparat jaringan testis tikus putih jantan yang diwarnai dengan PAS. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan setelah 45 hari perlakuan, dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Ternyata setelah 45 hari perlakuan terjadi penurunan jumlah sel spermatogonium (tabel 1a), sel spermatosit primer (tabel 1b) dan sel Leydig (tabel 1c).

Ada 2 hal yang dinilai dari etanol sebagai variabel bebas, yaitu pengaruh dari besar dosis dan pengaruh dari konsentrasi etanol.

Untuk menilai pengaruh dosis etanol terhadap masing-masing variabel tergantung, dengan cara membandingkan antara kelompok K0 (Aquadess 2 ml/hari/peroral), dengan pasangan kelompok K1 (etanol 10% 1 gr/kgBB/hr) dan K2 (etanol 10% 3gr/kgBB/hr); juga dengan pasangan kelompok K3 (etanol 30% 1 gr/kgBB/hr) dan K4 (etanol 30% 3 gr/kgBB/hr).

Untuk menilai pengaruh konsentrasi etanol terhadap masing-masing variabel tergantung dilakukan dengan cara; membandingkan antara kelompok K0 (Aquadess 2 ml/hari/peroral) dengan pasangan kelompok K1 (etanol 10% 1 gr/kgBB/hr) dan K3 (etanol 30% 1 gr/kgBB/hr); juga dengan pasangan kelompok K2 (etanol 10% 3gr/kgBB/hr) dan K4 (etanol 30% 3 gr/kgBB/hr).

6.1 Jumlah Sel Spermatogenik

Epitel tubulus seminiferus terdiri atas 2 kategori sel yang berbeda, yaitu sel-sel penyokong dan nutrisi (sel Sertoli) serta sel-sel spermatogenik. Sel-sel spermatogenik membentuk bagian terbesar dari lapisan epitel dan melalui proliferasi serta diferensiasi yang komplek akan menghasilkan spermatozoa (Leeson, 1996). Pada penelitian ini hanya menggunakan dua jenis sel spermatogenik, yaitu sel spermatogonium dan sel spermatosit primer. Dari hasil penelitian diketahui bahwa pemberian larutan etanol konsentrasi 10% dan 30% dengan dosis 1 gr/kgBB/hr dan 3 gr/kgBB/hr selama 45 hari dapat menurunkan jumlah sel spermatogonium dan sel spermatosit primer tikus putih jantan (tabel 5.1, tabel 5.2), dan setelah diuji dengan Anova ternyata penurunan jumlah kedua jenis sel spermatogenik ini bermakna ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (tabel 5.4, tabel 5.6).

Dari penelitian terdahulu telah diketahui bahwa etanol dapat menurunkan kadar testosteron, FSH dan LH. Hormon testosteron sendiri secara lokal diperlukan untuk meneruskan dan memelihara proses spermatogenesis dalam tubulus seminiferus. Selain kerja lokalnya, testosteron yang beredar dalam darah memiliki fungsi penting untuk mempertahankan fungsi kelenjar asesorius reproduksi pria (vesicula seminalis, prostat dan kelenjar bulboourethral). Selain itu juga bertanggung jawab untuk mempertahankan karakteristik seks sekunder pria seperti pola rambut pubis pria, pertumbuhan janggut, suara rendah dan pembentukan otot tubuh (Bloom dan Fawcett, 2002).

Dengan sendirinya, apabila terjadi penurunan testosteron akan terjadi penurunan produksi sel spermatogenik, termasuk di dalamnya spermatogonium

dan sel spermatosit primer. Sedangkan FSH dan LH sudah diketahui merupakan hormon-hormon gonadotropin yang memelihara proses spermatogenesis. Di samping melalui jalur hormonal, etanol berdasarkan sifat toksiknya dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik secara langsung melalui kerusakan dan kematian sel.

Dari kenyataan ini diasumsikan bahwa mekanisme kerja etanol terhadap penurunan jumlah sel-sel spermatogenik dapat terjadi melalui :

1. Menghambat di hipotalamus

Di hipotalamus, etanol mempunyai efek menurunkan kadar GnRH. Seperti telah diketahui bahwa GnRH berfungsi untuk merangsang sekresi LH dan FSH di hipofisis anterior. Hal ini ditunjang dengan penelitian pada hewan coba, dimana terbukti bahwa etanol berpengaruh secara langsung pada pelepasan hormon-hormon dari hipotalamus dan hipofisis (Emanuele, 1993 *cit* Emanuele dan Emanuele, 1998).

2. Menghambat di hipofisis

Etanol menyebabkan penurunan kadar hormon-hormon yang disekresi oleh hipofisis yaitu LH dan FSH. Penurunan jumlah FSH dan LH dengan sendirinya akan mengganggu proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus. FSH dibutuhkan dalam pemeliharaan spermatogenesis melalui sel Sertoli, sementara LH bekerja pada sel Leydig untuk mensintesis testosteron. Suatu toksikan dapat mempengaruhi fungsi reproduksi lewat kelenjar-kelenjar endokrin ini (Lu, 1995). Etanol menghambat fungsi LH baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Etanol akan mengganggu fungsi reseptor GnRH pada hipofisis sehingga terjadi penurunan sekresi LH. Etanol juga

mempengaruhi aktivitas molekul LH, sehingga menurunkan kinerjanya dalam menstimulasi produksi hormon testosteron pada sel Leydig. Sedangkan terhadap FSH etanol terbukti menurunkan sekresi FSH, akan tetapi mekanismenya belum banyak terungkap (Emanuele dan Emanuele, 2001).

3. Menghambat di testis

Dengan menurunnya hormon-hormon gonadotropin dari hipofisis anterior (LH dan FSH), mengakibatkan terganggunya fungsi dari sel-sel yang kerjanya dipengaruhi oleh kedua hormon ini yaitu sel Sertoli dan sel Leydig, yang selanjutnya akan mengganggu proses spermatogenesis di dalam testis (Weinbauer dan Nieschlag, 1993; Paz *et al*, 1993). Di samping itu etanol juga dapat merusak sel Sertoli secara langsung, yang dibuktikan dalam penelitian secara *invitro* dan *invivo* pada sel Sertoli tikus jantan (Zhu, 1997).

4. Menghambat testosteron

Mekanisme yang memungkinkan hambatan terhadap fungsi testosteron oleh etanol dapat dijelaskan melalui proses aromatisasi, dimana pada proses aromatisasi ini terjadi perubahan dari testosteron menjadi estradiol (Emanuele dan Emanuele, 1998).

5. Menghambat sel spermatogenik

Epitel tubulus seminiferus sensitif terhadap berbagai zat toksik, termasuk etanol, sehingga sel-sel yang mengalami degenerasi menjadi lebih banyak (Bloom dan Fawcett, 2002).

Menurut Emanuele dan Emanuele (2001) peminum etanol berat dalam jangka waktu yang lama menyebabkan kerusakan yang berat, hingga kematian dari sel-sel yang berada dalam testis. Meskipun mekanismenya belum diketahui

dengan jelas, kemungkinan hasil metabolisme etanol yaitu asetaldehid, yang berperan langsung terhadap kerusakan sel. Diduga asetaldehid ini lebih toksik dibandingkan dengan etanol sendiri. Etanol yang telah diabsorpsi oleh tubuh akan segera dimetabolisir oleh enzim alkohol dehidrogenase menjadi suatu substansi yang toksik yaitu asetaldehid (Taylor dan Slaby, 1992). Asetaldehid bersifat toksik karena bersifat reaktif, dapat merusak protein, termasuk enzim (Ganiswarna, 1995; Wright *et al*, 1991).

Jika dilihat hubungan antara dosis etanol dan jumlah sel spermatogenik, terbukti bahwa pada dosis yang terbesar (3 gr/kgBB/hr) terjadi penurunan sel spermatogenik yang lebih banyak dibandingkan dosis 1 gr/kgBB/hr pada tingkat konsentrasi etanol yang sama, dan dibandingkan dengan kontrol. Secara statistik, penurunan ini bermakna ($p < 0,05$).

Demikian pula dengan pengaruh konsentrasi etanol terhadap jumlah sel spermatogenik (sel spermatogonium dan sel spermatosit primer), tampak bahwa pada konsentrasi 30% penurunan jumlah sel-sel spermatogenik juga lebih banyak dibanding konsentrasi 10% dan dibanding dengan kontrol.

Jumlah sel-sel spermatogenik terendah tampak terjadi pada etanol konsentrasi 30% dosis 3 gr/kgBB/hr dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini menunjukkan pada dosis etanol terbesar dan konsentrasi etanol tertinggi, paling banyak terjadi penurunan jumlah sel-sel spermatogenik.

6.2 Jumlah Sel Leydig

Setelah 45 hari perlakuan, jumlah sel Leydig menunjukkan penurunan yang bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol (tabel 5.8).

Penurunan sel Leydig ini diasumsikan dapat disebabkan karena pengaruh dari menurunnya hormon-hormon gonadotropin yang diproduksi oleh hipofisis anterior terutama LH yang berfungsi sebagai pemelihara sel Leydig, baik dalam pertumbuhan maupun dalam fungsinya untuk mensekresi testosteron. Sel-sel Leydig sesungguhnya berkembang dari sel yang menyerupai fibroblast di jaringan interstisial dan dirangsang oleh LH. LH juga merangsang sintesis dan sekresi testosteron (Geneser, 1994). Peran LH terhadap sel Leydig dibuktikan dalam suatu penelitian dengan penyuntikan LH yang dimurnikan pada seorang anak laki-laki usia berapapun, akan menyebabkan sel-sel yang serupa fibroblast itu berevolusi menjadi sel-sel Leydig (Guyton dan Hall, 1997).

Sama halnya dengan sel-sel spermatogenik, etanol menurunkan jumlah sel Leydig tidak hanya melalui jalur hormonal. El-Sokarry (2001) mengungkapkan kerusakan sel Leydig dan gangguan fungsinya dalam mensekresi testosteron, akibat terpapar asetaldehid yang merupakan hasil pemecahan etanol melalui enzim alkohol dehidrogenase.

Dari penelitian ini didapatkan bahwa pada dosis dan konsentrasi etanol yang terbesar (30% 3 gr/kgBB/hr) paling banyak terjadi penurunan sel Leydig. Pengaruh dosis etanol sendiri terhadap jumlah sel Leydig tampak bahwa pada dosis 3 gr/kgBB/hr terjadi penurunan lebih banyak dibanding dosis 1 gr/kgBB/hr dan kontrol. Demikian pula pada konsentrasi 30% tampak adanya penurunan lebih besar dibanding konsentrasi 10% dan kontrol. Perbedaan antara kelompok ini setelah diuji secara statistik bermakna, dengan nilai $p < 0,05$.

Semakin besar dosis dan konsentrasi etanol, akan semakin besar pula efeknya terhadap sel-sel tersebut, sebab berapapun besar dosisnya, hanya sekitar

2% dari etanol yang masuk ke dalam tubuh tidak dimetabolisme (Ganiswarna, 1995). Sedangkan sisanya mengalami metabolisme dan dipecah menjadi asetaldehid. Jadi semakin banyak etanol yang masuk ke dalam tubuh, semakin banyak pula yang dimetabolisme.

Begitu juga halnya dengan konsentrasi etanol. Etanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi akan menimbulkan tingkat konsentrasi etanol darah yang tinggi pula. Dengan konsentrasi etanol darah yang makin tinggi, makin berat pula efek yang ditimbulkannya (Pinger *et al*, 1998).

Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa etanol berpengaruh terhadap penurunan sel spermatogonium, sel spermatosit primer dan sel Leydig, dimana semakin besar dosis dan konsentrasi etanol yang diberikan akan semakin turun pula jumlah sel-sel tersebut di atas. Etanol dapat mempengaruhi sel-sel ini melalui beberapa mekanisme baik secara hormonal ataupun sebagai toksikan langsung terhadap sel.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan maka hipotesis dapat terbukti kebenarannya, yaitu :

1. Pemberian etanol peroral selama 45 hari dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatogonium dan sel spermatosit primer) serta sel Leydig pada tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan.
2. Pada dosis etanol terbesar (3 gr/kgBB), terdapat penurunan tertinggi dari jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatogonium dan sel spermatosit primer) serta sel Leydig pada tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan.
3. Pada konsentrasi etanol terbesar (30%) terdapat penurunan tertinggi dari jumlah sel-sel spermatogenik (sel spermatogonium dan sel spermatosit primer) serta sel Leydig pada tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan.

7.2 Saran

Untuk memperluas khasanah penelitian mengenai pengaruh etanol terhadap sistim reproduksi pria, disarankan untuk melakukan penelitian seperti :

1. Pengaruh etanol terhadap jaringan testis dengan dosis dan konsentrasi yang lebih bervariasi dengan interval yang lebih sempit, termasuk membandingkan antara pengaruh dosis etanol ataukah konsentrasi etanol

yang lebih kuat efeknya dalam menurunkan jumlah sel spermatogenik dan sel Leydig.

2. Mekanisme kerja etanol dalam menghambat hormon-hormon yang berperan pada spermatogenesis.
3. Mekanisme kerja etanol dalam menimbulkan kerusakan dan kematian sel secara langsung dalam spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Ama KK, 2003. Dunia Pendidikan Papua Dililit Minuman Keras. www.kompas.com
- Bachtiar WW, 2000. Kenapa Miras Harus Dilarang. www.infomedia.com
- Bardin CW, 1986. Pitutary-Testicular Axis. In (Yen SSC dan Jaffe RB, eds). Reproductive Endocrinology, Physiology, Pathophysiology and Clinical Management. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, pp 177-94.
- Bloom dan Fawcett, 2002. Buku Ajar Histologi. Edisi ke-12. Alih bahasa : Jan Tambayong. Jakarta, EGC; hal 687-730.
- Buddy T, 2003. Alcohol and hormones, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism.
- Cebal E, Lasserre A, Retorri V , dan Gimeno MA, 1999. Deleterious effects of chronic moderate alcohol intake by female mice on preimplantation embryo growth in vitro. Alcohol and Alcoholism, Vol 34(4) : pp 551-8.
- Chengelis CP dan Gad SC, 1992. Introduction Animal Models in Toxicology. In (Gad SC dan Changelis CP, eds). New York : Marcel Dekker, Inc, pp 1-20.
- Dixon RL, 1986. Toxic Responses of the Reproductive System. In (Casarett LJ dan Doull Junquiera, 1997,eds) Toxicology. The basic science of poisons. 3rd ed. New York: MacMillan Publishing Company, pp 432-7.
- Ellingboe J dan Varnelli CC, 1979. Ethanol inhibits testosterone biosynthesis by direct action on Leydig cells. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 24(1):87-102.
- El-Sokarry GH, 2001. Quantitative Study on the Effects of Chronic Ethanol Administration on the Testis of Adult Male Rate. Neuroendocrinal Lett 22(2): 93-9.
- Emanuele MA dan Emanuele NV, 1998. Alcohol's effects on male reproduction. Alcohol Health and Research World. Vol 22(3): pp 195-201.
- Emanuele MA dan Emanuele NV, 2001. Alcohol and the male reproductive sistem. Alcohol Research and Health. Vol 25(4): pp 282-8.
- Emanuele MA, Wezeman F, dan Emanuele NV, 2003. Alcohol's effects on female reproductive function. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism.

- Emanuele NV, Lapagli N, Steiner J, Calantoni A, Van Thiel OH dan Emanuele MA, 2001. Peripubertal Paternal EtOH exposure. *Endocrine*, 14(2) : 213-9.
- Ganiswarna SG, 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: hal 143-7.
- Ganong WF, 2001. *Review of Medical Physiology*, 12th ed. USA: McGraw-Hill Companies.Inc, pp 398-438.
- Geneser F, 1994. *Buku Teks Histologi*. Jilid 2. Alih bahasa : Arifin Wijaya dkk. Jakarta. Binarupa Aksara : hal 310-41.
- Goodman LS dan Gilman A, 1996. *The Pharmacological. Basic of Therapeutics*. 9th ed. New York : Macmillan Publishing co.inc, pp 386-91.
- Goodman M, 1980. *Reproduction*. In (Mountcastle VB, ed) *Medical Physiology*. 14th ed. USA: CV Mosby Company, pp 1602-37.
- Gridley MF, 1960. *Manual of Histologic and Special Staining Technics*. 2nd ed. USA: McGraw-Hill Book Company Inc, pp 132-3.
- Guyton AC dan Hall JE, 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. Alih bahasa : Irawati Setiawan dkk. Jakarta : EGC, hal 1265-82.
- Hamilton EMN, Whitney EN dan Sizer FS, 1988. *Nutricion: Concepts and Controversies*, 4th ed. St Paul West Publishing Company, pp 489-96.
- Ichwani HK, 1993. Pengaruh Etanol terhadap Beberapa Proses Metabolisme dalam Tubuh dan Cara Penetapannya Dalam Cairan Tubuh. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, Vol 1(3): hal 64-75.
- Junqueira LC, Carneiro J dan Kelley RO, 1997. *Histologi Dasar*. Edisi ke-8. Alih bahasa: Jan Tambayong. Jakarta:EGC, hal 418-33.
- Johnson J, 2002. *Nutritional and Environmental Approaches to Infertility*. Positive Health Publication Ltd.
- Kirk RS dan Sawyer R, 1991. *Pearson's Composition and Analysis of Foods*. 9th ed. Singapore: Longman Scientific and Technical, pp 431-67.
- Kusumawati D, 2003. *Bahan Ajar Tentang Hewan Coba*. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Lee NM dan Becker CE, 1995. *The Alcohols*. In (Katzung BG, eds). *Basic Clinical Pharmacology*. 6th ed. USA: Prentice Hall International Inc, pp 350-9.

- Leeson CR, Leeson TS dan Paparo AA, 1996. Buku Ajar Histologi. Edisi ke-5. Alih bahasa: Jan Tambayong. Jakarta: EGC, hal 511-33.
- Liben P, 1992. Pengetahuan Teknik Laboratorium, Universitas Airlangga.
- Lu FC, 1995. Toksikologi Dasar. Edisi ke-2. Alih bahasa : Edi Nugroho. Jakarta; UI-Press, hal 287-95.
- Meistrich ML, 1993. Nuclear Morphogenesis during Spermiogenesis. In (Kretser D, eds) Molecular Biology of the Male Reproductive Sistem. USA : Academic Press Inc, pp 67-97.
- Melmon KI, Morelli HF, Hoffman BB dan Nierenberg DW, 1992. Clinical Pharmacology. Basic Principles in Therapeutics. 3rd ed. USA: McGraw-Hill, Inc, pp 771-5.
- Nowak TJ dan Handford AG, 1999. Essentials of Pathophysiology. Concepts and Applications for Health Care Professionals. 2nd ed. USA: WCB. McGraw-Hill, pp 488-512.
- Paz GF, Yavetz H, Hauser R, Yogev L, Lewin LM, Homonnai ZT, 1993. Pathophysiology of the Human Testis. In (Insler V dan Lunenfeld Back, eds). Infertility : Male and Female. 2nd ed. Churchill Livingstone, pp 195-225.
- Pinger RR, Payne WA, Hahn DB dan Hahn EJ, 1998. Drugs Issues for Today. 3rd ed. USA: WCB. McGraw-Hill, pp 255-69.
- Pizzorno dan Murray, 1993. Male Infertility. Internet.
- Pohl CR, Guilinger RA dan Van Thiel DH, 1987. Inhibitory Action of Ethanol on Luteinizing Hormone Secretion by Rat Anterior Pituitary Cells in Culture. *Endocrinology* 120(3): 849-52.
- Purdy RH dan Rasmussen DD, 2003. Alcohol's Effects on Testosterone. www.sciteclibrary.com
- Rengarajan S, Malini T, Sivakumar R, Govindarajulu P, Balasubramanian K, 2003. Effects of Ethanol Intoxication on LH Receptors and Glucose oxidation in Leydig Cells of Adult Albino Rats. *Reproductive Toxicology* 17(6), pp 641-8.
- Rosida L, 2002. Gambaran Sel Spermatogenik, Sel Sertoli dan Sel Leydig Setelah Pemberian Ekstrak Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* jack) peroral pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Jantan strain Wistar. Tesis, Program Pascasarjana Unair-Surabaya.

- Schrader SM, 2004. *Toxic Exposures & Male Infertility*. National Institute for Occupational Safety Health.
- Silverthorn DV, Ober WC, Garrison CW dan Silverthorn AC, 2001. *Human Physiology on Integrated Approach*. 2nd ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc, pp 731-69.
- Smith JB dan Mangkoewidjojo, 1988. *Pemeliharaan, pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di daerah Tropis*. Jakarta: UI Press, hal 37-57.
- Sobotta dan Hammersen F, 1990. *Atlas Histologi*. Edisi ke-3. Alih Bahasa : Petrus Andrianto. Jakarta: ECG, hal : 180-1.
- Steiner JC, Holoran MM, Jabamoni K, Emanuele dan Emanuele NV, Emanuele dan Emanuele MA, 1996. *Sustained Effects of Alcohol Single Injection of Ethanol on the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Male Rat*. *Alcohol ClinExp Res* 20(8): 1368-74.
- Subagyo, 1984. *Pengaruh Teratogenik Alkohol 10% dan Pengurangan Makanan pada Janin Tikus Putih (Albino Rat)*. Tesis, Program Pasca Sarjana Unair, Surabaya.
- Sudiana IK. *Teknik Praktis untuk Jaringan-Sel*. Bali: CV Dharma Shandi, hal 44-56.
- Taylor WA dan Slaby AE, 1992. *Acute Treatment of Alcohol and Cocaine Emergencies In (Galanter M, eds)*. *Recent Development in Alcoholism*. Vol 10, New York : Plenum Press, pp 179-91.
- Tjay TH dan Rahardja K, 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi ke-5. Jakarta : Elex Media Computindo, hal 335-56.
- Vander A, Sherman J, dan Luciano D, 2001. *Human Physiology, The Mechanism of Body Function*. New York : McGraw-Hill, pp 639-49.
- Weinbauer GF dan Nieschlag E, 1993. *Hormonal Control of Spermatogenesis In (Kretser D, eds) Molecular Biology of the Male Reproductive System*. USA: Academic Press Inc, pp 99-142.
- Witono RP, 1998. *Pengaruh Bahan Sterol dalam Biji Lamtoro gung (Leucaena leucocephala) terhadap Sel-sel Spermatogenik Testis Tikus Putih (Rattus norvegicus strain Wistar)*. Tesis, Program Pascasarjana Unair.
- Wollin SD dan Jones PJ, 2001. *Alcohol, Red Wine and Cardiovascular Disease*. *J.Nutr* 131(5):1401-4.
- Wright HI, Gavalier JS dan Thiel DV, 1991. *Effects of Alcohol on The Male Reproductive System*, *Alcohol Health Research World*, Spring.

Wonodirekso S, 2003. *Penuntun Praktikum Histologi. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : Dian Rakyat.*

Zainuddin M, 2000. *Metodologi Penelitian. Universitas Airlangga, Surabaya.*

Zhu Q, Van Thiel DH, Gavalier JS, 1997. Effects of Ethanol on Rat Sertoli Cell Function: Studies in vitro and in vivo. *Alcohol Clinexp Res* 21(8): 1409-17.

Lampiran Ia

Jumlah Spermatogonium

spermatogonium												
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)											Kontrol	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
A	55	58	58	48	45	40	63	55	64	57	54.3	54
B	50	58	55	54	47	49	50	59	63	55	54.0	54
C	55	55	53	58	53	52	59	54	67	64	57.0	57
D	49	67	68	67	49	45	35	68	52	42	54.2	54
E	51	65	50	56	51	60	49	51	60	45	53.8	54
F	54	54	54	49	52	55	56	57	49	54	53.4	53
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral												
A	56	59	42	47	56	49	37	53	50	46	49.5	50
B	51	47	54	42	44	50	58	48	66	41	50.1	50
C	53	45	60	54	52	50	53	40	43	50	50.0	50
D	50	41	50	58	58	34	44	62	53	55	50.5	51
E	43	48	52	54	59	64	41	45	46	44	49.6	50
F	40	42	58	56	57	36	53	58	50	50	50.0	50
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral												
A	56	50	47	43	44	50	42	38	38	44	45.2	45
B	51	57	46	47	48	47	54	42	42	40	47.4	47
C	43	41	48	55	50	37	40	52	56	60	48.2	48
D	37	55	50	55	45	49	57	45	34	49	47.6	48
E	40	45	53	60	42	51	37	50	44	58	48.0	48
F	48	50	33	40	45	53	51	51	42	47	46.0	46
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral												
A	30	50	58	50	45	50	40	54	37	55	46.9	47
B	42	49	48	48	49	55	40	33	49	48	46.1	46
C	47	30	44	41	41	34	59	49	53	50	44.8	45
D	50	42	35	34	40	46	40	45	54	50	43.6	44
E	43	53	40	48	49	34	50	42	39	40	43.8	44
F	43	41	50	49	34	61	60	40	43	48	46.9	47
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral												
A	42	40	33	38	40	32	32	24	30	25	33.6	34
B	29	34	30	25	35	28	30	32	40	31	31.4	31
C	34	37	41	37	23	45	28	17	30	23	31.5	32
D	36	39	30	40	23	18	28	29	37	35	31.5	32
E	35	30	39	49	38	19	29	30	31	14	31.4	31
F	40	30	44	32	37	25	28	30	39	16	32.1	32

Lampiran 1b

Jumlah Spermatisit Primer

spermatisit primer											
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
76	80	75	71	73	79	74	71	75	70	74.4	75
64	81	78	75	69	70	71	78	78	67	73.1	73
77	67	79	75	82	74	65	70	62	82	73.3	73
80	71	72	71	60	65	71	84	67	63	70.4	70
63	76	73	74	68	66	67	68	68	72	69.5	70
80	81	71	76	70	69	63	66	67	82	72.5	73
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral											
63	76	61	54	62	58	60	66	63	58	62.1	62
63	56	61	53	51	62	62	76	80	50	61.4	61
62	59	67	60	80	62	70	50	53	73	63.6	64
63	58	62	61	65	45	63	68	58	63	60.6	61
59	53	60	65	70	85	57	53	60	56	61.8	62
61	46	60	66	84	63	63	73	60	62	63.8	64
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral											
60	63	66	60	54	60	65	46	48	66	58.8	59
62	60	53	59	64	64	67	57	52	56	59.4	59
50	56	63	66	68	41	58	56	68	65	59.1	59
44	64	60	66	64	54	67	46	42	60	56.7	57
57	55	61	75	57	60	45	60	52	65	58.7	59
60	60	40	49	50	62	60	60	59	63	56.3	56
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral											
48	64	62	65	56	60	57	65	45	60	58.2	58
59	54	63	55	60	70	56	40	53	55	56.5	57
54	65	51	58	59	43	67	59	70	58	58.4	58
65	58	44	40	49	51	56	59	73	64	55.9	56
59	66	46	57	54	49	70	49	44	53	54.7	55
51	54	55	67	48	75	65	53	60	50	57.8	58
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral											
47	46	56	42	51	44	38	33	36	25	41.8	42
33	52	40	31	40	35	51	43	50	41	41.6	42
42	48	47	46	41	53	48	31	40	34	43.0	43
40	48	41	54	34	30	36	33	44	41	40.1	40
41	42	42	55	40	27	34	47	40	30	39.8	40
45	50	53	42	43	37	35	39	51	25	42.0	42

Lampiran 1c

Sel Leydig

	lapangan pandang											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)											
A	10	7	11	8	8	14	8	16	8	12	10.2	10
B	10	9	10	12	8	11	13	7	16	12	10.8	11
C	12	14	9	15	8	8	8	11	9	10	10.4	10
D	12	9	8	10	7	9	8	14	7	9	9.3	9
E	13	7	12	8	10	10	13	10	13	8	10.4	10
F	15	9	8	8	10	10	11	8	8	14	10.1	10
	Etanol 10%, 1 gr/KgBB/hr per oral											
A	7	9	6	8	5	11	10	6	8	6	7.6	8
B	10	8	8	9	6	14	11	8	7	13	9.4	9
C	8	8	11	10	8	9	10	12	12	6	9.4	9
D	11	8	11	8	10	9	6	7	13	14	9.7	10
E	10	9	10	8	10	10	5	12	10	8	9.2	9
F	6	5	10	6	9	8	6	8	9	10	7.7	8
	Etanol 10%, 3 gr/KgBB/hr per oral											
A	10	9	7	7	8	5	9	8	11	6	8	8
B	8	9	10	6	7	7	11	5	6	5	7.4	7
C	7	8	6	8	8	11	9	10	8	8	8.3	8
D	5	9	10	10	6	6	5	7	8	7	7.3	7
E	8	7	8	7	9	10	8	5	6	6	7.4	7
F	10	9	8	6	6	4	9	9	9	8	7.8	8
	Etanol 30%, 1 gr/KgBB/hr per oral											
A	7	7	10	9	4	4	10	8	8	6	7.3	7
B	9	10	7	6	7	5	8	8	6	10	7.6	8
C	6	8	5	10	7	9	7	9	5	8	7.4	7
D	8	10	11	7	8	4	5	6	8	9	7.6	8
E	4	7	8	9	8	11	5	7	8	5	7.2	7
F	8	6	9	7	6	6	10	10	4	7	7.3	7
	Etanol 30%, 3 gr/KgBB/hr per oral											
A	4	8	7	9	6	6	8	9	8	7	7.2	7
B	6	3	5	7	7	9	10	7	6	4	6.4	6
C	8	6	5	8	6	7	3	9	4	3	5.9	6
D	6	7	6	7	8	9	3	5	6	6	6.3	6
E	9	7	8	8	5	5	7	6	3	6	6.4	6
F	3	9	7	4	6	4	8	6	7	9	6.3	6

Lampiran 2a

Hasil Analisis Jumlah Spermatogonium

Oneway

Descriptives

Jumlah Spermatogonium

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	6	54.33	1.37	.56	52.90	55.77	53	57
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	6	50.17	.41	.17	49.74	50.60	50	51
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	6	47.00	1.26	.52	45.67	48.33	45	48
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	6	45.50	1.38	.56	44.05	46.95	44	47
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	6	32.00	1.10	.45	30.85	33.15	31	34
Total	30	45.80	7.74	1.41	42.91	48.69	31	57

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Spermatogonium

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.525	4	25	.225

ANOVA

Jumlah Spermatogonium

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1703.133	4	425.783	316.176	.000
Within Groups	33.667	25	1.347		
Total	1736.800	29			

Lampiran 2b

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Spermatogonium

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	4.17*	.67	.000	2.79	5.55
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	7.33*	.67	.000	5.95	8.71
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	8.83*	.67	.000	7.45	10.21
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	22.33*	.67	.000	20.95	23.71
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-4.17*	.67	.000	-5.55	-2.79
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	3.17*	.67	.000	1.79	4.55
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	4.67*	.67	.000	3.29	6.05
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	18.17*	.67	.000	16.79	19.55
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-7.33*	.67	.000	-8.71	-5.95
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-3.17*	.67	.000	-4.55	-1.79
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	1.50*	.67	.034	.12	2.88
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	15.00*	.67	.000	13.62	16.38
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-8.83*	.67	.000	-10.21	-7.45
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-4.67*	.67	.000	-6.05	-3.29
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	-1.50*	.67	.034	-2.88	-.12
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	13.50*	.67	.000	12.12	14.88
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-22.33*	.67	.000	-23.71	-20.95
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-18.17*	.67	.000	-19.55	-16.79
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	-15.00*	.67	.000	-16.38	-13.62
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-13.50*	.67	.000	-14.88	-12.12

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

Lampiran 3a

Hasil Analisis Jumlah Spermatisit Primer**Oneway****Descriptives**

Jumlah Spermatisit Primer

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	6	72.33	1.97	.80	70.27	74.40	70	75
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	6	62.33	1.37	.56	60.90	63.77	61	64
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	6	58.17	1.33	.54	56.77	59.56	56	59
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	6	57.00	1.26	.52	55.67	58.33	55	58
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	6	41.50	1.22	.50	40.21	42.79	40	43
Total	30	58.27	10.23	1.87	54.45	62.09	40	75

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Spermatisit Primer

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.683	4	25	.611

ANOVA

Jumlah Spermatisit Primer

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2982.867	4	745.717	351.753	.000
Within Groups	53.000	25	2.120		
Total	3035.867	29			

Lampiran 3b

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Spermatisit Primer
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	10.00*	.84	.000	8.27	11.73
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	14.17*	.84	.000	12.44	15.90
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	15.33*	.84	.000	13.60	17.06
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	30.83*	.84	.000	29.10	32.56
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-10.00*	.84	.000	-11.73	-8.27
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	4.17*	.84	.000	2.44	5.90
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	5.33*	.84	.000	3.60	7.06
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	20.83*	.84	.000	19.10	22.56
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-14.17*	.84	.000	-15.90	-12.44
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-4.17*	.84	.000	-5.90	-2.44
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	1.17	.84	.177	-.56	2.90
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	16.67*	.84	.000	14.94	18.40
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-15.33*	.84	.000	-17.06	-13.60
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-5.33*	.84	.000	-7.06	-3.60
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	-1.17	.84	.177	-2.90	.56
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	15.50*	.84	.000	13.77	17.23
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-30.83*	.84	.000	-32.56	-29.10
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-20.83*	.84	.000	-22.56	-19.10
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	-16.67*	.84	.000	-18.40	-14.94
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-15.50*	.84	.000	-17.23	-13.77

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

Lampiran 4a

Hasil Analisis Jumlah Sel Leydig

Oneway

Descriptives

Jumlah Sel Leydig

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	6	10.00	.63	.26	9.34	10.66	9	11
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	6	8.83	.75	.31	8.04	9.62	8	10
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	6	7.50	.55	.22	6.93	8.07	7	8
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	6	7.33	.52	.21	6.79	7.88	7	8
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	6	6.17	.41	.17	5.74	6.60	6	7
Total	30	7.97	1.45	.26	7.43	8.51	6	11

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Sel Leydig

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.703	4	25	.598

ANOVA

Jumlah Sel Leydig

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	52.467	4	13.117	38.578	.000
Within Groups	8.500	25	.340		
Total	60.967	29			

Lampiran 4b

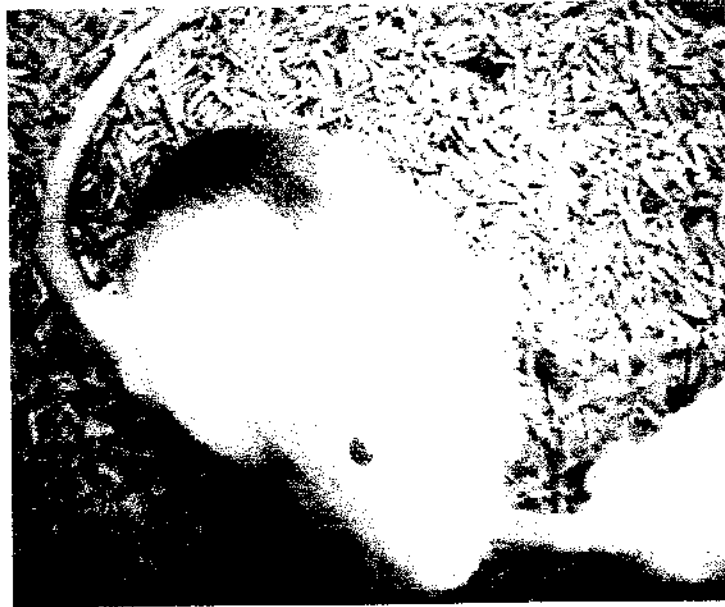
Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Sel Leydig
LSD

(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	1.17*	.34	.002	.47	1.86
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	2.50*	.34	.000	1.81	3.19
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	2.67*	.34	.000	1.97	3.36
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	3.83*	.34	.000	3.14	4.53
Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-1.17*	.34	.002	-1.86	-.47
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	1.33*	.34	.001	.64	2.03
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	1.50*	.34	.000	.81	2.19
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	2.67*	.34	.000	1.97	3.36
Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-2.50*	.34	.000	-3.19	-1.81
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-1.33*	.34	.001	-2.03	-.64
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	.17	.34	.625	-.53	.86
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	1.33*	.34	.001	.64	2.03
Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-2.67*	.34	.000	-3.36	-1.97
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-1.50*	.34	.000	-2.19	-.81
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	-.17	.34	.625	-.86	.53
	Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	1.17*	.34	.002	.47	1.86
Etanol 30%, 3 gr/kgBB/hr per oral	Kontrol (Aquadest 2 ml/hr per oral)	-3.83*	.34	.000	-4.53	-3.14
	Etanol 10%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-2.67*	.34	.000	-3.36	-1.97
	Etanol 10%, 3 gr/kgBB/hr per oral	-1.33*	.34	.001	-2.03	-.64
	Etanol 30%, 1 gr/kgBB/hr per oral	-1.17*	.34	.002	-1.86	-.47

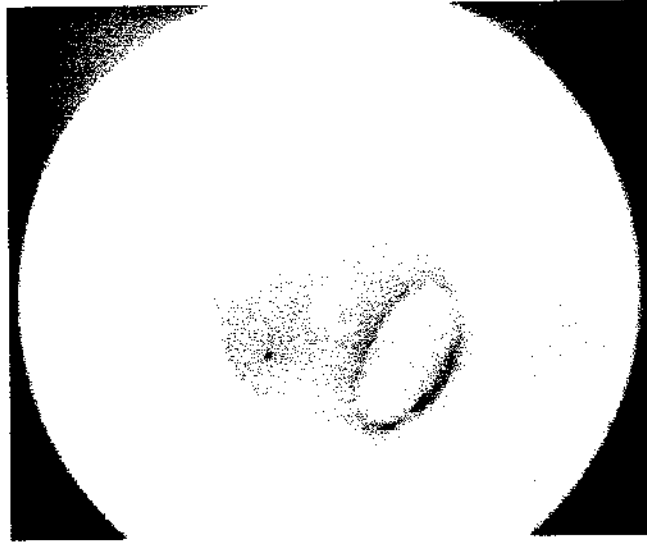
*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 5



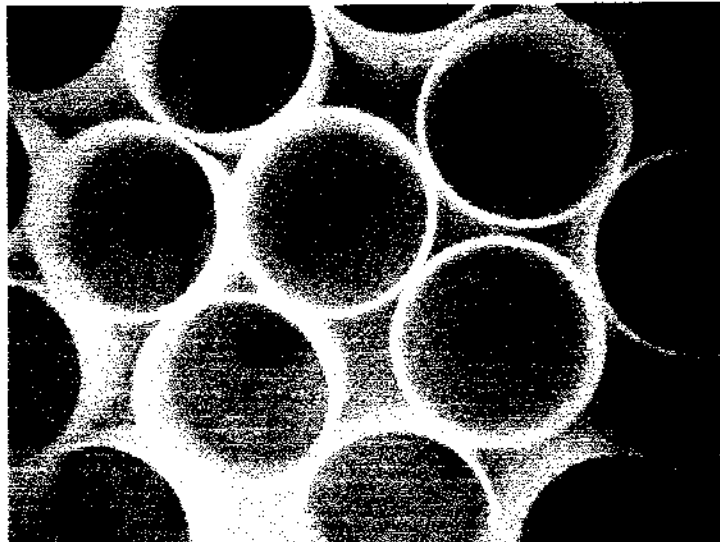
Gambar Hewan coba dalam kandang

Lampiran 6



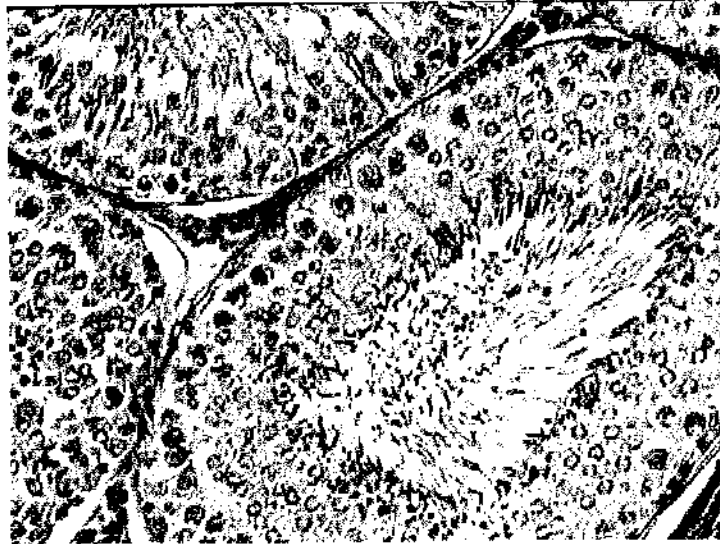
Gambar Testis hewan coba

Lampiran 7



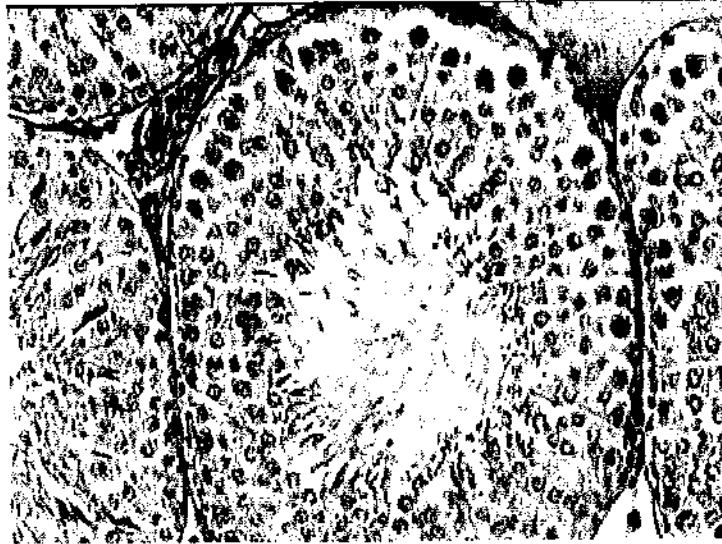
Gambar Testis hewan coba dalam cairan fiksasi Boein

Lampiran 8



Gambar Penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K0 (kelompok kontrol; aquades 2ml/ hari). Pewarnaan PAS, pembesaran 200 X

Lampiran 9



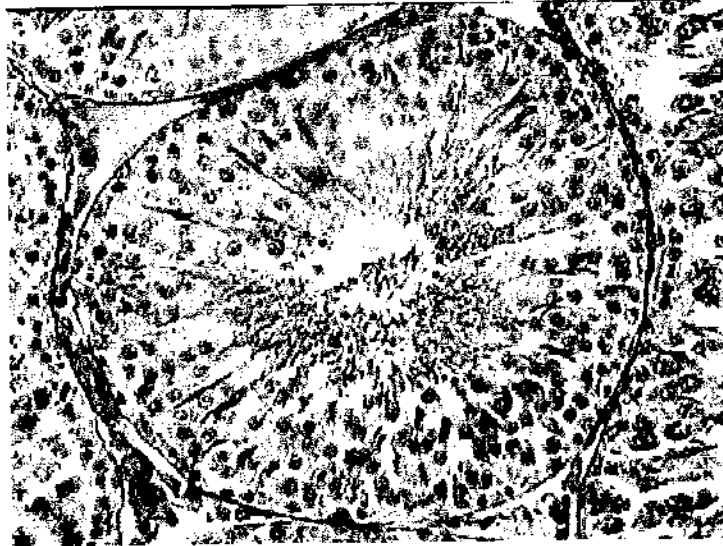
Gambar Penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K1 (perlakuan 1: etanol 10 %, 1 gr/kg BB/hari). Pewarnaan PAS, pembesaran 200X

Lampiran 10



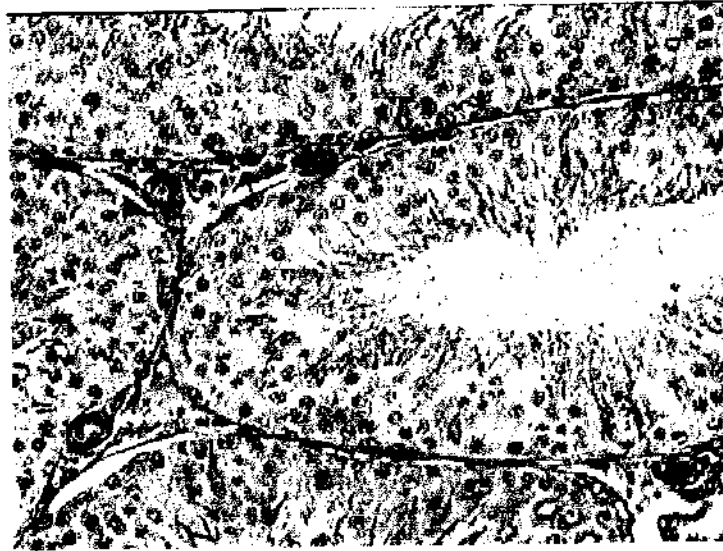
Gambar Penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K2 (perlakuan 2; etanol 10% 3 gr/kg BB/hari). Pcwarnaan PAS, pembesaran 200X

Lampiran 11



Gambar Penampang lintang tubulus seminiferus kelompok K3 (perlakuan 3; etanol 30% 1 gr/kgBB/hari). Pewarnaan PAS, pembesaran 200X

Lampiran 12



Gambar Penampang Lintang tubulus seminiferus kelompok K4 (perlakuan 4; etanol 30% 3gr/kgBB/hari). Pewarnaan PAS, pembesaran 200X.