

**PENGARUH KOMBINASI DEPOT
MEDROKSIPROGESTERON ASETAT DAN EKSTRAK CABE
JAWA TERHADAP BERAT TESTIS DAN PENURUNAN
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS, SEL-SEL
SPERMATOGENIK SERTA SEL LEYDIG TIKUS**

TESIS

**DITA RANY ANGGRAENI
NPM: 0606150712**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
JAKARTA
JANUARI 2009**

**PENGARUH KOMBINASI DEPOT
MEDROKSIPROGESTERON ASETAT DAN EKSTRAK CABE
JAWA TERHADAP BERAT TESTIS DAN PENURUNAN
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS, SEL-SEL
SPERMATOGENIK SERTA SEL LEYDIG TIKUS**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Ilmu Biomedik**

**DITA RANY ANGGRAENI
NPM: 0606150712**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
BIOLOGI KEDOKTERAN
JAKARTA
JANUARI 2009**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Dita Rany Anggraeni

NPM : 0606150712

Tanda Tangan :



Tanggal : 20 Januari 2009

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : Dita Rany Anggraeni
NPM : 0606150712
Program Studi : Ilmu Biomedik
Judul Tesis : Pengaruh kombinasi depot medroksiprogesteron asetat dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis dan penurunan diameter tubulus seminiferus, sel-sel spermatogenik serta sel Leydig tikus

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Biomedik pada Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. dr. Nukman H. Moeloek, Sp.And. (.....)

Pembimbing II : Drs. Yurnadi, M.Kes. (.....)

Penguji I : Dr.rer.nat. Dra. Asmarinah, MS. (.....)

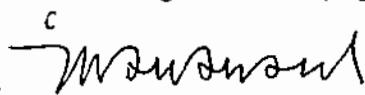
Penguji II : Dr.dr. Erni Hernawati Purwaningsih, MS. (.....)

Penguji III : drg. Dwirini Retno Gunarti, MS. (.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 20 Januari 2009

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik:



(Dr.rer.physiol. dr. Septelia Inawati Wanandi)

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim, puji syukur Alhamdulillah saya ucapkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Shalawat dan salam tidak lupa saya ucapkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, thabiit, dan thabiin. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan kebaikan dan kemuliaan bagi mereka semua.

Saya menyadari bahwa penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan, semangat dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya dan penghormatan yang sebesar-besarnya kepada:

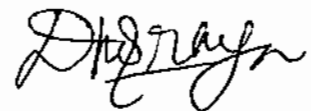
1. Prof. Dr. dr. Nukman H. Moeloek, Sp.And selaku pembimbing I. Meskipun aktivitas beliau begitu padat, tetapi masih berkenan memberikan bimbingan dan arahan mulai dari awal pembuatan proposal sampai penyelesaian tesis ini. Banyak sekali ilmu yang bisa saya ambil dari beliau terutama dari berbagai hasil penelitian yang telah beliau lakukan sejak dulu.
2. Drs. Yurnadi, M.Kes selaku pembimbing II. Di tengah-tengah kepadatan aktivitas sebagai seorang dosen, namun beliau masih bersedia membimbing dan membantu saya dalam penelitian, mulai dari mengoreksi tesis, mengajarkan teknik penelitian sampai meminjamkan jurnal dan buku-buku yang berkaitan dengan penelitian.
3. Ketua kekhususan Biologi Kedokteran, Prof. Drs. Purnomo Soeharso, Ph.D, dan ketua Departemen Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI) atas segala bantuannya.
4. Seluruh staf pengajar di kekhususan Biologi Kedokteran; Prof.Drs.Purnomo Soeharso, PhD., Dr.Dwi Anita Suryandari, M.Biomed., Dr.rer.nat.Dra. Asmarinah, MS., Prof.Dr. Oentoeng Soeradi, Dra. Puji Sari, MS., dr. Indra G.M.DHES, SpAnd dan lain-lain.
5. Hibah Bersaing Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (DP2M) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dirjen Dikti) Departemen Pendidikan

Nasional (Depdiknas) sebagai penyandang dana, dimana penelitian ini merupakan projek dari dosen pembimbing penulis.

6. Ketua Program Studi Ilmu Biomedik, seluruh staf pengajar serta pak Dani, pak Zacky dan mbak Ela atas bantuannya selama ini.
7. Semua teman-teman di kekhususan Biologi Kedokteran FKUI; Yoel Asmida (teman seperjuangan selama penelitian), mbak Murni, mbak Silvia, mas Adi, mbak Asti, kak Lysbeth, pak Syafruddin, pak Heru, pak Daniel, pak Irsan atas dukungan, bantuan dan kebersamaanya selama ini.
8. Teman-teman seangkatan di Biomedik, terutama kelompok TAKSI (Mbak fani, mbak fini, mbak Ray, mbak Lolo, Marcia), Mbak Novi, Wati, Imel, mbak Cici, mbak Ika dan Pak Lewa
9. Budi Wahono, yang telah banyak membantu penelitian selama di *animal house* Departemen Biologi Kedokteran FKUI. Kemudian, kepada Drs. Bambang Wahjoedi APU, yang telah membantu kelangsungan penelitian ini.
10. Seluruh staf dan karyawan Departemen Biologi Kedokteran FKUI; pak Ismail, mas Rukmana, mas Amarudin, mas Yuliadi, mas Basuki, mas Agus, dan lain-lain.
11. Mama dan papa tercinta yang telah melahirkan, membesarkan, membimbing dan mendoakan saya agar menjadi orang yang berguna bagi nusa, bangsa dan agama.
12. Adik-adik tersayang Dhodi Bangun Pradana dan Dhandi Bintang Utama
13. Sahabat-sahabat tersayang yang selalu memotivasi, menjadi pelipur lara dan memberikan semangat untuk menyelesaikan tesis ini.

Serta kepada seluruh pihak yang tidak mungkin saya sebutkan satu per satu dalam tulisan ini. Semoga Allah SWT meridhoi dan membalas kebaikan kalian semua. Amin ya rabbal alamin...

Jakarta, Januari 2009



Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dita Rany Anggraeni
NPM : 0606150712
Program Studi : Ilmu Biomedik
Departemen : Biologi Kedokteran
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

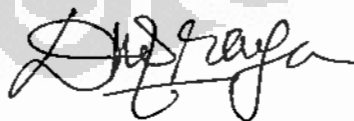
'Pengaruh kombinasi depot medroksiprogesteron asetat dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis dan penurunan diameter tubulus seminiferus, sel-sel spermatogenik serta sel Leydig tikus'

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada tanggal : 20 Januari 2009

Yang menyatakan



(Dita Rany Anggraeni)

ABSTRAK

Nama : Dita Rany Anggraeni
Program Studi : Ilmu Biomedik
Judul : Pengaruh kombinasi depot medroksiprogesteron asetat dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis dan penurunan diameter tubulus seminiferus, sel-sel spermatogenik serta sel Leydig tikus.

Latar belakang: Pengembangan kontrasepsi hormonal pada pria didasarkan pada pengetahuan bahwa spermatogenesis sangat tergantung pada sekresi dari hormon gonadotropin. Pemberian depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) yang dikombinasikan dengan testosteron prospeknya baik untuk dikembangkan menjadi bahan kontrasepsi pria karena dapat menekan gonadotropin, sehingga menghambat spermatogenesis. Di alam terdapat berbagai macam tanaman obat yang mengandung androgen, salah satunya adalah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.). Secara tradisional buah cabe jawa digunakan untuk obat lemah syahwat dan telah terbukti dapat meningkatkan kadar hormon testosteron darah serta meningkatkan frekuensi koitus pria hipogonad.

Tujuan: Mengetahui pengaruh kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis, diameter tubulus seminiferus, populasi sel-sel spermatogenik dan populasi sel Leydig tikus galur *Sprague-Dawley*.

Metode: Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), *equal size sample* yaitu terdiri dari 6 kelompok yang menggunakan tikus jantan galur *Sprague Dawley* sebagai model. Kelompok perlakuan terdiri atas kelompok kontrol perlakuan (KP=tikus disuntik DMPA dan diberi plasebo), perlakuan I (PI=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 0,94 mg), perlakuan II (PII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 1,88 mg), perlakuan III (PIII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 2,82 mg), perlakuan IV (tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 3,76 mg) dan kelompok kontrol (K). Penyuntikan DMPA dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 perlakuan, sedangkan pencekokan ekstrak cabe jawa dilakukan setiap hari dimulai dari minggu ke-7 sampai minggu ke-18 perlakuan.

Hasil: Tidak terdapat penurunan berat testis antara kelompok perlakuan dan kontrol akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa. Terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus secara signifikan pada kelompok perlakuan dibanding dengan kontrol. Terjadi penurunan populasi sel spermatogonia A, spermatosit I preleptoten, spermatosit I pakiten dan spermatid secara signifikan pada kelompok perlakuan dibanding kontrol. Terjadi penurunan populasi sel Leydig secara signifikan pada kelompok perlakuan dibanding dengan kontrol.

Kesimpulan: Pemberian kombinasi DMPA dan berbagai dosis ekstrak cabe jawa menyebabkan penekanan spermatogenesis. Terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus, populasi sel-sel spermatogenik dan populasi sel Leydig. Tetapi, tidak terjadi penurunan berat testis pada tikus percobaan.

Kata kunci: DMPA, cabe jawa, testis, tubulus seminiferus, sel-sel spermatogenik dan sel Leydig.

ABSTRACT

Name : Dita Rany Anggraeni
Study program: Biomedical of Science
Title : Effect of combination of depot medroxyprogesterone acetate and javanese long pepper toward testis weight and the decreasing of seminiferous tubules diameter, population of spermatogenic cells and Leydig cell of rat.

Background: The developing of hormonal male contraception based on the knowledge that spermatogenesis is depends to the secretion of gonadotrophin hormone. Administration of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) combined with testosterone has a good prospect to become hormonal male contaception because they can supress gonadotrophin so that can inhibit spermatogenesis. In the nature there are many kinds of herbal medicine contains of androgene, one of them is javanese long pepper (*Piper retrofractum* Vahl). Traditionally, the fruit is used to cure impotency and has been prove can increase blood testosterone levels and frequency of coitus in hypogonad man.

Aim: The aim of this study was to find out the effects of combination of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) and javanese long pepper toward testis weight, seminiferous tubules diameter, population of spermatogenic cells, and Leydig cell of rat.

Method: This research was using complete random design, equal size sample consist of six groups using male rat strain Sprague-Dawley as a model. Treatment groups consist of treatment control (KP=rat administered with DMPA and placebo), treatment I (PI=rat administered with DMPA and javanese long pepper extract dose 0,94 mg), treatment II (PII=rat administered with DMPA and javanese long pepper extract dose 1,88 mg), treatment III (PIII=rat administered with DMPA and javanese long pepper extract dose 2,82 mg), and treatment IV (PIV=rat administered with DMPA and javanese long pepper extract dose 3,76 mg), and also control group. Injection of DMPA was conducted in week-0 and week-12, meanwhile administered of javanese long pepper was conducted everyday start at week-7 until week-18.

Result: There was no decreasing of testis weight between treatment groups and control group after administration of DMPA and javanese long pepper extract. There was the decreasing of tubules seminiferous diameter significantly between treatment groups and control group. There was the decreasing of population of spermatogonia A, spermatocyte I preleptotene, spermatocyte I pakhiten and spermatid significantly between treatment groups and control group. There was the decreasing of Leydig cell population significantly between treatment groups and control group.

Conclusion: Administration of DMPA and javanese long pepper can supress spermatogenesis. There was decreasing of seminiferous tubules diameter, spermatogenic cells population and Leydig cell population. However, there is no decreasing of testis weight.

Key words: DMPA, javanese long pepper, testis, seminiferous tubules, spermatogenic cell, Leydig cell

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vi
ABSTRAK/ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
DAFTAR RUMUS.....	xviii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Hipotesis.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	6
1.6. Kerangka Teori.....	7
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Testis.....	8
2.1.1. Perkembangan Testis.....	8
2.1.2. Anatomi Testis.....	9
2.1.3. Tubulus Seminiferus.....	10
2.1.3.1. Epitel Tubulus Seminiferus.....	10
2.1.3.2. Sel Leydig.....	11
2.2. Spermatogenesis.....	12
2.2.1. Spermatositogenesis.....	13
2.2.2. Meiosis.....	13
2.2.3. Spermiogenesis.....	14
2.3. Siklus Epitel Seminiferus.....	16
2.4. Pengendalian Spermatogenesis oleh Hormon.....	17
2.5. Kontrasepsi Hormonal Pria.....	20
2.5.1. Regimen Androgen Tunggal.....	21
2.5.2. Regimen Kombinasi Androgen-Progestin.....	22
2.6. Depot Medroksiprogesteron Asetat (DMPA).....	24
2.6.1. Farmakokinetik DMPA.....	25
2.6.2. Efek Fisiologi DMPA.....	26
2.7. Buah Cabe Jawa (<i>Piper Retrofractum</i> Vahl).....	26
2.7.1. Klasifikasi Tanaman Cabe Jawa.....	27
2.7.2. Morfologi Tanaman Cabe Jawa.....	27
2.7.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Cabe	

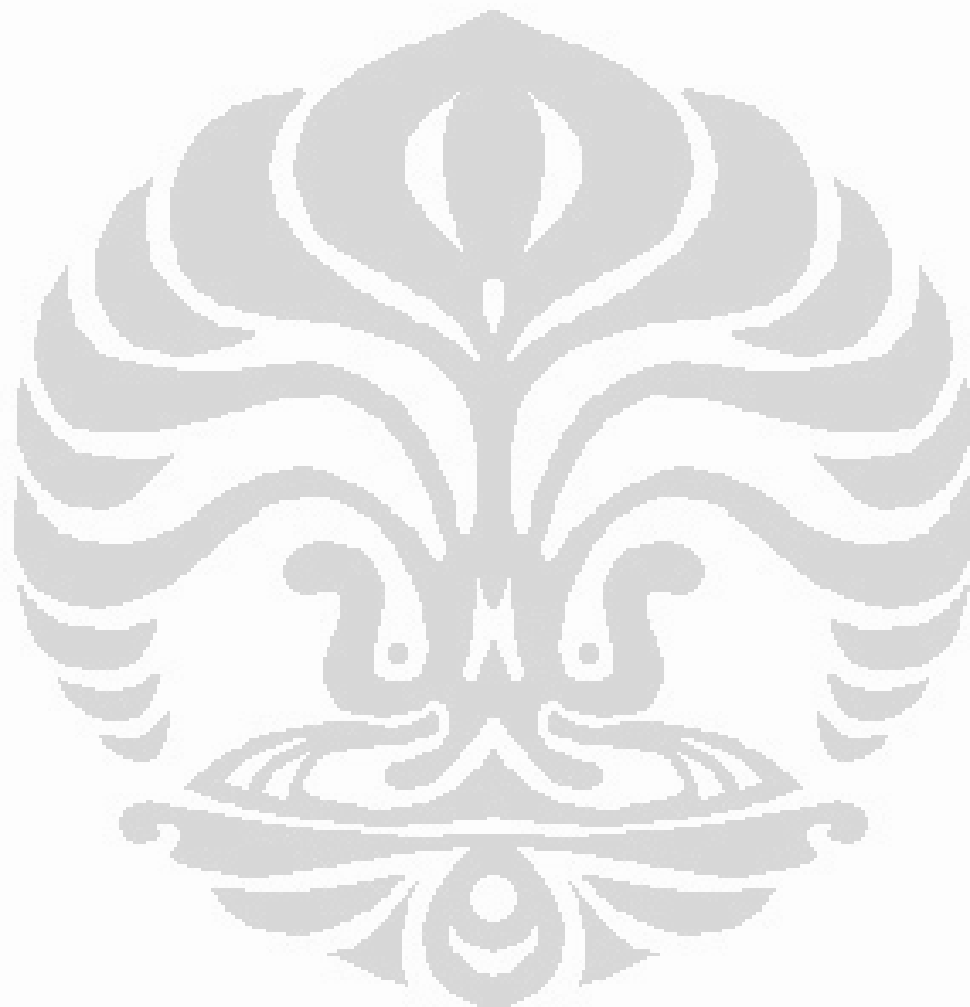
Jawa.....	28
3. METODE PENELITIAN	33
3.1. Bahan Penelitian	33
3.1.1. Hewan Percobaan.....	33
3.1.2. Ekstrak Cabe Jawa	34
3.1.3. Bahan Kimia	35
3.2. Alat Penelitian.....	36
3.3. Rancangan Penelitian.....	36
3.4. Perlakuan Hewan Percobaan.....	36
3.5. Pembuatan Preparat Testis	37
3.6.1. Fiksasi (<i>Fixation</i>).....	37
3.6.2. Dehidrasi (<i>Dehydration</i>).....	37
3.6.3. Pembeningan (<i>Clearing</i>).....	38
3.6.4. Pembenaman (<i>Embedding</i>).....	38
3.6.5. Pencetakan Blok (<i>Blocking</i>).....	38
3.6.6. Pemotongan (<i>Sectioning</i>).....	38
3.6.7. Penempelan pita parafin (<i>Mounting</i>)	38
3.6.8. Pewarnaan (<i>Staining</i>).....	39
3.6. Parameter Penelitian	39
3.7. Analisa Data.....	40
4. HASIL PENELITIAN.....	41
4.1. Berat Testis.....	41
4.2. Diameter Tubulus Seminiferus	42
4.3. Populasi Sel Spermatogonia A.....	43
4.4. Populasi Sel Spermatisit I Preleptoten	44
4.5. Populasi Sel Spermatisit I Pakiten	45
4.6. Populasi Sel Spermatisid	46
4.7. Populasi Sel Leydig.....	47
5. PEMBAHASAN.....	48
6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
6.1. Kesimpulan.....	58
6.2. Saran.....	58
7. DAFTAR PUSTAKA	59
8. LAMPIRAN.....	68
9. RIWAYAT HIDUP	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Perkembangan Gonad.....	8
Gambar 2.2.	Organ Reproduksi Tikus Jantan	9
Gambar 2.3.	Anatomi Testis	9
Gambar 2.4.	Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus.....	10
Gambar 2.5.	Gambaran Histologi Sel-sel Leydig	12
Gambar 2.6.	Proses spermatogenesis	13
Gambar 2.7.	Proses Spermiogenesis	16
Gambar 2.8.	Tipe-tipe Asosiasi Sel Germinal pada Berbagai Tingkat Perkembangan dalam Tubulus Seminiferus Tikus.....	17
Gambar 2.9.	Pengendalian Hormon pada Testis.....	18
Gambar 2.10.	Konversi Kolesterol menjadi Testosteron	19
Gambar 2.11.	Target Potensial Kontrasepsi pada Pria.....	20
Gambar 2.12.	Regimen Kontrasepsi Hormonal Pria (Androgen Tunggal atau Kombinasi dengan Progestin atau GnRH antagonis) Menghambat Poros Hipotalamus-Hipofisis-Testis	21
Gambar 2.13.	Perbandingan Kemampuan Penekanan Spermatogenesis pada Beberapa Penelitian Regimen Testosteron Tunggal dan Regimen Kombinasi Testosteron dan Progestin	23
Gambar 2.14.	Struktur Kimia MPA	25
Gambar 2.15.	Tanaman Cabe jawa (<i>Piper retrofractum</i> Vahl.).....	27
Gambar 2.16.	Struktur β -sitosterol dan Kolesterol	31
Gambar 2.17.	Reaksi Konversi Fitosterol menjadi Kolesterol.....	32
Gambar 4.1.	Rata-rata Berat Testis Tikus Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa.....	41
Gambar 4.2.	Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus Tikus Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa.....	42
Gambar 4.3.	Rata-rata Populasi Sel Spermatogonia A Tikus Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa.....	43
Gambar 4.4.	Rata-rata Populasi Sel Spermatisit I Preleptoten Tikus Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa.	44
Gambar 4.5.	Rata-rata Populasi Sel Spermatisit I Pakiten Tikus Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa.....	45
Gambar 4.6.	Rata-rata Populasi Sel Spermatid Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa	46
Gambar 4.7.	Rata-rata Populasi Sel Leydig Tikus Percobaan Setelah Penyuntikan DMPA dan Pencekakan Berbagai Dosis Cabe Jawa	47

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Rancangan penelitian	36
---------------------------------------	----



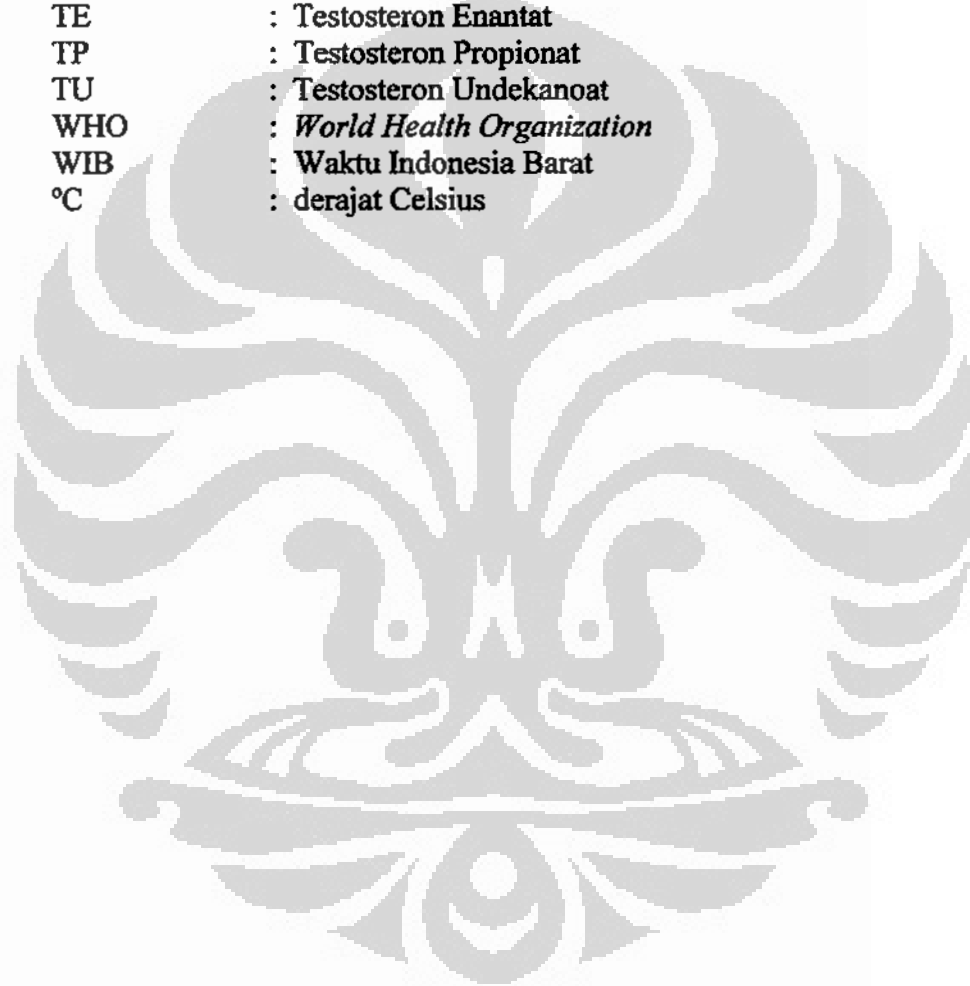
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Lolos Kaji Etik Percobaan dengan Hewan	68
Lampiran 2.	Data Berat Testis	69
Lampiran 3.	Uji Statistik Data Berat Testis	70
Lampiran 4.	Data Diameter Tubulus Seminiferus	71
Lampiran 5.	Uji Statistik Data Diameter Tubulus Seminiferus	72
Lampiran 6.	Data Populasi Sel Spermatogonia A	74
Lampiran 7.	Uji Statistik Data Populasi Sel Spermatogonia A	75
Lampiran 8.	Data Populasi Sel Spermatisit I Preleptoten	77
Lampiran 9.	Uji Statistik Data Populasi Sel Spermatisit I Preleptoten.....	78
Lampiran 10.	Data Populasi Sel Spermatisit I Pakiten	80
Lampiran 11.	Uji Statistik Data Populasi Sel Spermatisit I Pakiten.....	81
Lampiran 12.	Data Populasi Sel Spermatisid	83
Lampiran 13.	Uji Statistik Data Populasi Sel Spermatisid	84
Lampiran 14.	Data Populasi Sel Leydig	86
Lampiran 15.	Uji Statistik Data Populasi Sel Leydig	87
Lampiran 16.	Sediaan Histologi Hasil Penelitian	89

DAFTAR SINGKATAN

19 NT	: 19 Nortestosteron heksiloksifenil-propionat
ABCG	: <i>ATP-binding cassette protein G</i>
ABP	: <i>Androgen Binding Protein</i>
Ap	: <i>A pale</i>
Ad	: <i>A dark</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variances</i>
AR	: <i>Androgen Receptor</i>
ATP	: <i>Adenosine Tri Phospat</i>
BKKBN	: Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makan
cAMP	: <i>cyclic Adenosine Monophospate</i>
cm	: centimeter
CoA	: CoenzimA
CPA	: <i>Cyproterone Acetate</i>
Depkes RI	: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
DHT	: Dihidrotestosteron
DI	: desi liter
DMPA	: <i>Depot Medroksiprogesteron Asetat</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dpl	: di atas permukaan laut
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
g	: gram
GnRH	: <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
HE	: <i>Haematoxylin-Eosin</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
ICCRPC	: <i>International Committee for Contraceptive Research of the Population Council</i>
K	: kontrol
KB	: Keluarga Berencana
KP	: kontrol perlakuan
LCAT	: <i>Lechitin Cholesterol Acyltransferase</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
M	: molar
m	: meter
mg	: miligram
ml	: mililiter
mm	: milimeter
MPA	: Medroksiprogesteron Asetat
N	: nukleotida
Na ⁺	: natrium
NaCl	: Natrium Klorida
Na-CMC	: <i>Natrium Carboxy Metil Cellulosa</i>
ng	: nanogram
PGC	: <i>Primordial Germ Cell</i>

PSA	: <i>Prostate Specific Antigene</i>
PI	: perlakuan I
PII	: perlakuan II
PIII	: perlakuan III
PIV	: perlakuan IV
RAL	: Rancangan acak lengkap
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SHBG	: <i>Sex Hormone Binding Globulin</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SRX	: <i>Sex-determining Region on Y</i>
TB	: Testosteron Busiklat
TDF	: <i>Testis-determining Factor</i>
TE	: Testosteron Enantat
TP	: Testosteron Propionat
TU	: Testosteron Undekanoat
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WIB	: Waktu Indonesia Barat
°C	: derajat Celsius



DAFTAR RUMUS

Rumus Federer : $(t-1)(n-1) \geq 15$

t = total perlakuan, n = total ulangan

Rumus Abercrombie :

$$P = A \frac{M}{L + M}$$

P = Rata-rata jumlah inti persayatan (*true count*), A = Jumlah perhitungan kasar inti/persayatan (*crude count*), M = Ketebalan sayatan (mikron), L = Rata-rata diameter inti (mikron)



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hasil proyeksi menunjukkan bahwa jumlah penduduk Indonesia pada tahun 2025 akan mencapai 273 juta jiwa dengan pertumbuhan penduduk di bawah 1,5%.¹ Untuk mengatasi hal tersebut, pemerintah Indonesia mencanangkan program Keluarga Berencana (KB) bagi pasangan suami isteri (pasutri) usia subur. Selama ini yang banyak terlibat dalam KB adalah pihak wanita, sedangkan keikutsertaan pria sebagai akseptor KB masih sedikit. Kontrasepsi pria yang tersedia saat ini sangat sedikit bila dibandingkan dengan alat kontrasepsi wanita. Sampai pertengahan abad 20, metode kontrasepsi pria digunakan oleh 30% pasangan di dunia, diantaranya adalah kondom, vasektomi, koitus interruptus dan abstinensi seks. Diperkirakan 45 juta pria telah melakukan vasektomi dan 45 juta menggunakan kondom di dunia. Hal ini menunjukkan bahwa pria bersedia ikut terlibat dalam program kontrasepsi apabila sudah terdapat metode kontrasepsi yang efektif.²

Pria merupakan fokus baru untuk program KB yang selama ini belum banyak diperhatikan. Kontrasepsi pria mempunyai harapan perkembangan yang cukup luas di masa datang dengan ditemukannya hasil-hasil penelitian terbaru. Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional (BKKBN) berusaha mendorong penelitian untuk menemukan alat dan obat kontrasepsi baru bagi kaum pria guna meningkatkan partisipasi pria dalam program KB. Dengan memperbanyak variasi pilihan alat dan obat kontrasepsi untuk pria diharapkan partisipasi pria dalam KB yang saat ini baru 1,3% bisa meningkat menjadi 4,5% pada tahun 2009 seperti yang telah ditargetkan.³ *World Health Organization* (WHO) sebagai Badan Kesehatan Dunia telah membentuk suatu *Task Force* untuk mencari atau mengembangkan metode pengatur kesuburan pria.⁴ Di dalam usaha memilih dan mencari bahan kontrasepsi pria, maka hal penting yang mendasari usaha ini adalah bahwa kontrasepsi tersebut harus aman, efektif, mudah digunakan, reversibel, dan dapat diterima masyarakat.⁵

Pada saat ini terus dikembangkan kontrasepsi hormonal yang ideal untuk pria dan menjadi tujuan pengembangan kontrasepsi oleh beberapa peneliti dunia. Arah pendekatan pencarian kontrasepsi hormonal pada pria didasarkan pada pengetahuan bahwa spermatogenesis sangat tergantung pada sekresi dari hormon gonadotropin *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) oleh kelenjar hipofisis. Oleh karena testosteron di atas kadar fisiologis dapat menghambat sekresi gonadotropin melalui umpan balik negatif pada hipofisis, maka pemberian testosteron dapat menghambat proses spermatogenesis. Pemberian testosteron tunggal atau kombinasi dengan progestin secara intramuskuler atau secara oral telah diketahui menjadi penyebab terjadinya penghambatan spermatogenesis sehingga pria normal menjadi azoospermia.^{6,7,8,9}

Progestin yang dikombinasikan dengan androgen potensial untuk dikembangkan sebagai kontrasepsi pria. Progestin dapat bekerja menekan gonadotropin pada poros hipotalamus-hipofisis dan proses spermatogenesis sehingga menurunkan produksi sperma.^{6,9,10,11,12,13} Depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) merupakan suatu progesteron sintetik yang jika diberikan secara intramuskuler (injeksi) akan memberikan efek kerja yang panjang (*long acting*), aman dan efektif. DMPA adalah penghambat kuat sekresi gonadotropin hipofisis yang digunakan secara luas untuk kontrasepsi wanita.^{13,14,15} DMPA yang dikombinasikan dengan testosteron prospeknya baik untuk dikembangkan menjadi bahan kontrasepsi pria, karena waktu efektifnya diperlukan untuk menghambat sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH), sehingga menekan spermatogenesis dan juga kadar testosteron plasma. Penurunan testosteron ini dapat diatasi dengan adanya pemberian testosteron eksogen.^{6,10,16}

WHO melalui *Task Force* untuk Metode Pengaturan Kesuburan Pria, melakukan penelitian yang membandingkan kombinasi antara dua androgen: Testosteron Enantat (TE) atau 19-nortestosteron hexyloxyphenyl propionat (19 NT-HPP) dengan DMPA terhadap konsentrasi spermatozoa pria di Indonesia. Sebagian relawan mendapat suntikan TE dan sebagian lain 19 NT-HPP dosis 200 mg/minggu selama 7 minggu, yang kemudian diikuti dengan suntikan 3 minggu sekali sampai minggu ke-24. Kedua kelompok tersebut setelah itu disuntik dengan DMPA 250 miligram (mg) pada minggu ke-0, 6, 12 dan 18. Hasil

Universitas Indonesia

penelitian menunjukkan bahwa pada penyuntikan TE dan DMPA, 95,6% (43 dari 45 relawan) mencapai azoospermia, sedangkan penyuntikan 19 NT-HPP dan DMPA, 97,8% (44 dari 45 relawan) mencapai azoospermia.¹⁷

Pada tahun 2001, kontrasepsi hormonal Testosteron Undekanoat (TU) dan DMPA telah diteliti di Indonesia dengan mengikutsertakan 20 pria. Setelah diacak kemudian 10 pria disuntik dengan 500 mg TU dengan interval 6 minggu (Kelompok I) dan 10 pria lain disuntik dengan 500 TU interval 6 minggu dan 250 mg DMPA dengan interval 12 minggu (Kelompok II). Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok I terjadi penurunan sperma 69,48% dan pencapaian azoospermia 10%, sedangkan pada kelompok II terjadi penurunan sperma sebesar 99,45% dan pencapaian azoospermia sekitar 80% dan 20% lainnya mengalami oligozoospermia berat dengan konsentrasi spermatozoa kurang dari 0,1 juta/mililiter (ml).¹⁸

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, pemberian DMPA secara tunggal pada pria normal akan menekan fungsi testis secara efektif sehingga menurunkan jumlah spermatozoa. Tetapi, masalah yang ditemukan adalah DMPA dapat pula menghambat sekresi testosteron intra-testikuler, sehingga kadarnya di dalam plasma darah menurun dan berakibat menurunnya libido serta mengganggu potensi seks. Penambahan testosteron menunjukkan kerja sinergistik, menghambat sekresi gonadotropin dan testosteron tetap tinggi sehingga libido dan potensi seks tetap tidak terganggu. Hal inilah yang menyebabkan para ahli tertarik untuk mengkombinasikan progestin dengan androgen.^{16,17,18,19}

Spermatogenesis merupakan rangkaian proliferasi dan diferensiasi sel spermatogonia di dalam testis membentuk spermatozoa yang fungsional. Komponen paling dominan yang menyusun testis adalah tubulus seminiferus. Proses spermatogenesis menyebabkan epitel tubulus seminiferus menjadi tebal dan diikuti dengan menebalnya lumen tubulus. Aktivitas spermatogenesis ini pada akhirnya akan menyebabkan pelebaran diameter tubulus seminiferus. Selain itu komponen testis yang berperan aktif dalam spermatogenesis adalah sel Leydig. Indikasi bahwa sel Leydig sedang aktif memproduksi hormon dapat dilihat dari volume selnya yang lebih besar dibandingkan ketika tidak aktif.

Universitas Indonesia

Dengan demikian aktivitas kedua komponen di atas (tubulus seminiferus dan sel Leydig) akan berpengaruh terhadap peningkatan besarnya volume testis.^{20,21,22}

Pemberian kombinasi hormon testosteron dan progesterin terbukti dapat menyebabkan penurunan volume atau berat testis.^{22,23,24} Di samping itu juga dapat menyebabkan penyusutan diameter tubulus seminiferus.^{22,24} Penelitian lain menunjukkan bahwa kombinasi testosteron dan progesterin menyebabkan penurunan populasi sel-sel spermatogenik.^{25,26} Penurunan populasi sel-sel spermatogenik disebabkan karena hambatan pada hormon gonadotropin (FSH dan LH) sehingga mengganggu perkembangan sel-sel spermatogenik.²⁵ Penelitian terkini menjelaskan bahwa penurunan populasi sel-sel spermatogenik akibat pemberian hormon salah satunya disebabkan oleh mekanisme apoptosis di dalam testis.²⁶ Penelitian Ericson dan Dutt dalam Sutjarso²³ pada domba yang disuntik dengan derivat progesteron asetat, dilaporkan tidak hanya menyebabkan terhentinya spermatogenesis melainkan juga terjadinya atrofi sel-sel Leydig.

Di alam terdapat berbagai macam tanaman obat yang mengandung androgen, antara lain: cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl), jambu monyet (*Anacardium occidentale* L), vanili (*Vanilla sp*), Akar ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn), muira puama (*Ptychopetalum uncinatum* L), damiana (*Turnera aphrodisiaca* L) dan siberian ginseng (*Eleutherococcus senticosus* L).²⁷ Tanaman cabe jawa secara tradisional buahnya digunakan untuk obat lemah syahwat, lambung lemah, peluruh keringat dan lain-lain. Kandungan kimia cabe jawa antara lain piperin, piperatin, beta-sitosterol, senyawa asam amino bebas, minyak atsiri, damar, saponin, polifenol, resin (kavisin), dan lain-lain.^{27,28}

Penelitian yang dilakukan oleh Sa'roni *et al.*,²⁸ menunjukkan bahwa infus buah cabe jawa dosis 2,1 mg/10 gram berat badan tikus menunjukkan adanya efek androgenik dan anabolik. Isnawati *et al.*, melaporkan bahwa ekstrak buah cabe jawa yang diuji dengan metode Ames tidak memperlihatkan adanya efek mutagenik sehingga aman untuk dikonsumsi.²⁹ Selanjutnya penelitian Wahjoedi *et al.*,³⁰ menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah cabe jawa mempunyai efek androgenik terhadap anak ayam jantan pada dosis 3,75 mg/100 gram berat badan mempunyai respon tidak berbeda nyata dengan bahan standar TU dosis 500 mg/100 gram berat badan.

Pada tahun 2006 dilakukan penelitian uji klinik ekstrak cabe jawa untuk mengetahui efek androgeniknya pada 9 pria hipogonad yang dilakukan oleh Moeloek *et al.*³¹ Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ternyata ekstrak cabe jawa dapat meningkatkan kadar testosteron darah pada 7 dari 9 pria hipogonad (78%), tidak menurunkan kadar hormon FSH dan LH, dapat meningkatkan frekuensi koitus dan tidak menimbulkan efek samping yang serius.

Senyawa β -sitosterol yang terkandung dalam cabe jawa adalah senyawa kimia yang diduga dapat menggantikan testosteron dalam darah. Kesamaan struktur antara β -sitosterol dengan kolesterol memungkinkan dikonversinya β -sitosterol menjadi kolesterol yang merupakan komponen utama pembentuk testosteron. Sterol dalam bentuk glikosida yaitu saponin (β sitosterol- β -D-glikosida) di dalam lambung yang bersifat asam mengalami pemutusan bagian gula, sehingga dapat memberikan efek seperti sterol bebas.^{27,32,33}

Dari beberapa penelitian di atas diketahui bahwa DMPA dapat mengakibatkan penurunan testosteron sehingga dapat menekan spermatogenesis, sedangkan ekstrak cabe jawa mempunyai efek androgenik yang dapat meningkatkan kadar testosteron sehingga dapat mengganti testosteron yang hilang akibat pengaruh DMPA. Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap proses spermatogenesis dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba.

1.2. Perumusan Masalah

Pemberian DMPA efektif dalam menghambat spermatogenesis dan sekresi testosteron testis, tetapi mengakibatkan penurunan libido dan potensi seksual. Cabe jawa sebagai tanaman/herbal yang mempunyai efek androgenik dapat meningkatkan kadar hormon testosteron. Namun, sejauh ini belum ada informasi tentang pengaruh kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis, diameter tubulus seminiferus, populasi sel-sel spermatogenik dan populasi sel Leydig. Oleh karena itu timbul pertanyaan: "Apakah kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menyebabkan penurunan berat testis,

diameter tubulus seminiferus, populasi sel-sel spermatogenik, dan populasi sel Leydig tikus jantan galur *Sprague-Dawley*?"

1.3. Tujuan penelitian.

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1.3.1 Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis, diameter tubulus seminiferus, populasi sel-sel spermatogenik, dan populasi sel Leydig tikus galur *Sprague-Dawley*.
- 1.3.2 Mengetahui manfaat kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa sebagai bahan kontrasepsi yang efektif.

1.4. Hipotesis

Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menyebabkan penurunan:

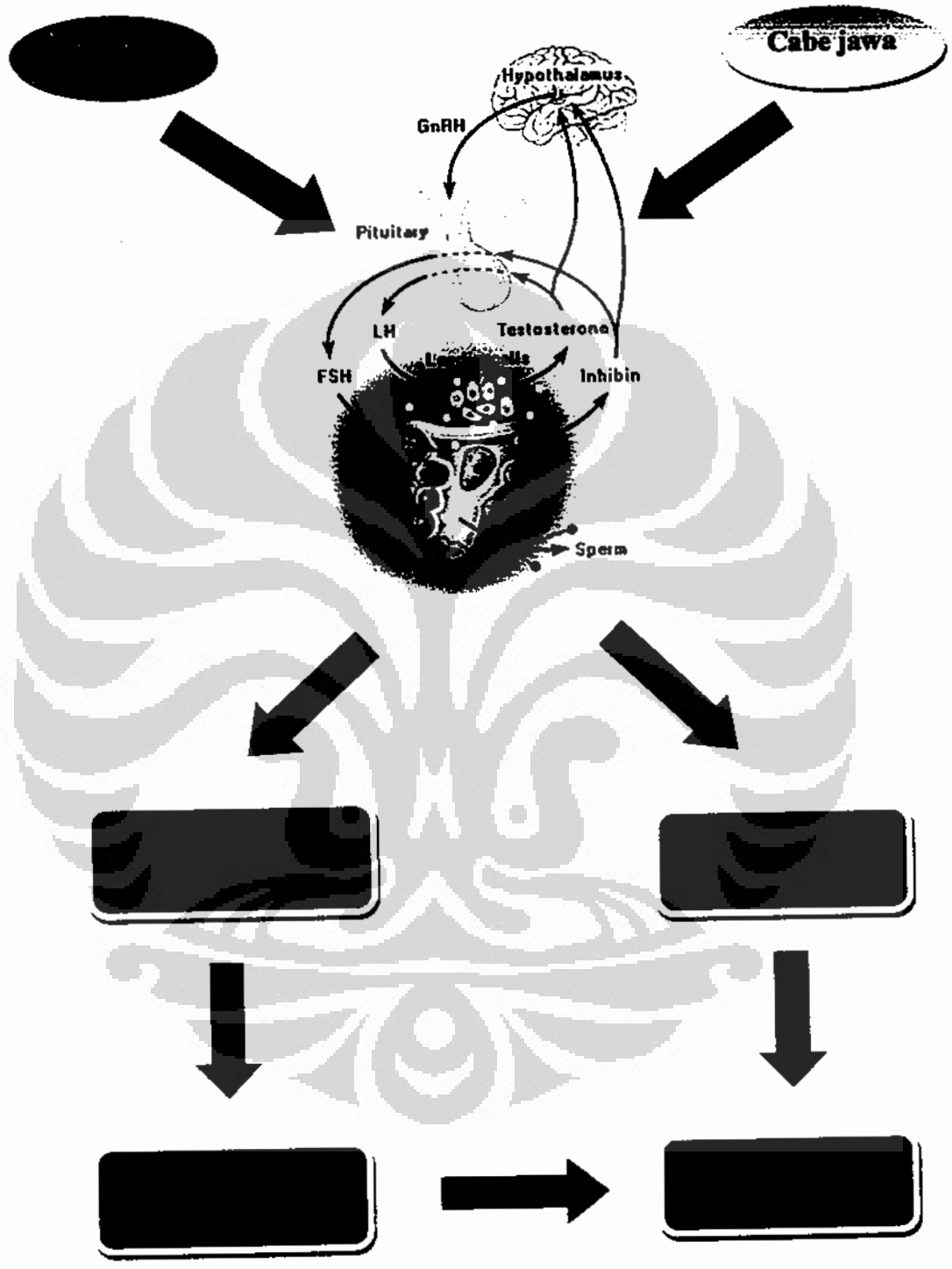
- 1.4.1. Berat testis
- 1.4.2. Diameter tubulus seminiferus
- 1.4.3. Populasi sel-sel spermatogenik (spermatogonia A, spermatosit I preleptoten, spermatosit I pakiten dan spermatid)
- 1.4.4. Populasi sel Leydig

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

- 1.5.1. Memanfaatkan potensi sumber daya alam Indonesia yaitu cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) untuk digunakan sebagai bahan alternatif untuk kontrasepsi hormonal pada pria dan dalam pengobatan disfungsi seksual pada pria.
- 1.5.2. Menghemat devisa negara yang banyak dikeluarkan akibat mengimpor androgen sintetis dari luar negeri.

1.6. Kerangka Konsep



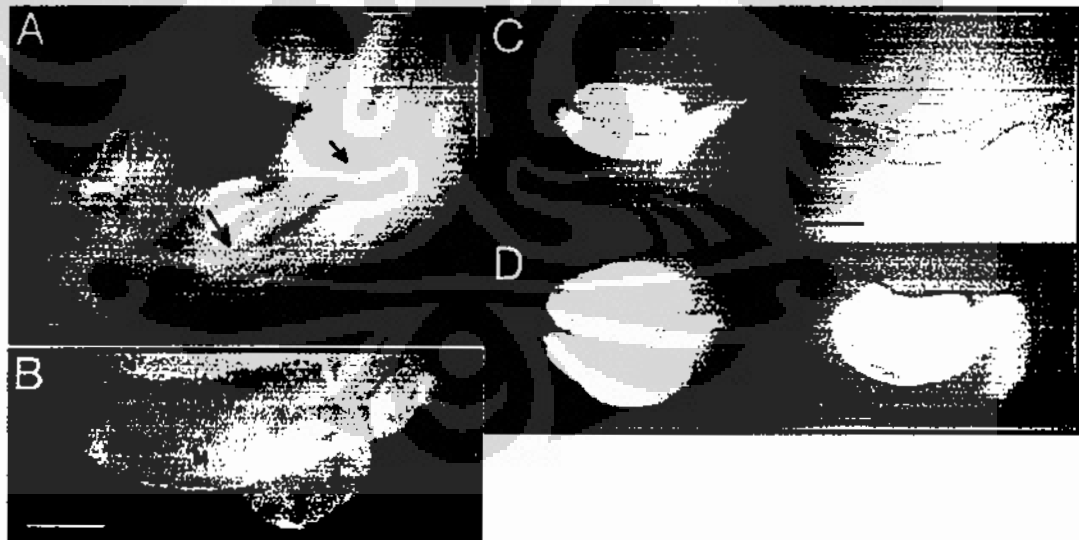
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Testis

2.1.1. Perkembangan Testis

Testis adalah pusat reproduksi pada pria/jantan. Testis mempunyai dua fungsi ganda, yakni sebagai kelenjar endokrin karena menghasilkan hormon dan juga berfungsi sebagai kelenjar eksokrin karena menghasilkan spermatozoa. Testis muncul dari gonad primitif pada mesonefros embrionik (Gambar 2.1). Sel germinal primordial atau *Primitive Gonad* segera bermigrasi ke *genital ridge* untuk membentuk *sex cords*. Pada pria/jantan *sex cords* akan berkembang dan berproliferasi menjadi testis dan rete testis. *Primordial Germ Cell* (PGC) mengalami diferensiasi seksual menjadi spermatogonia. Diferensiasi seksual pada mamalia ditentukan oleh gen pada kromosom Y. Gen *Testis-determining Factor* (TDF) dan *Sex-determining Region on Y* (SRY) berperan penting dalam pembentukan testis dan fenotip pria/jantan.^{34,35,36,37}



Gambar 2.1. Perkembangan Gonad.³⁷

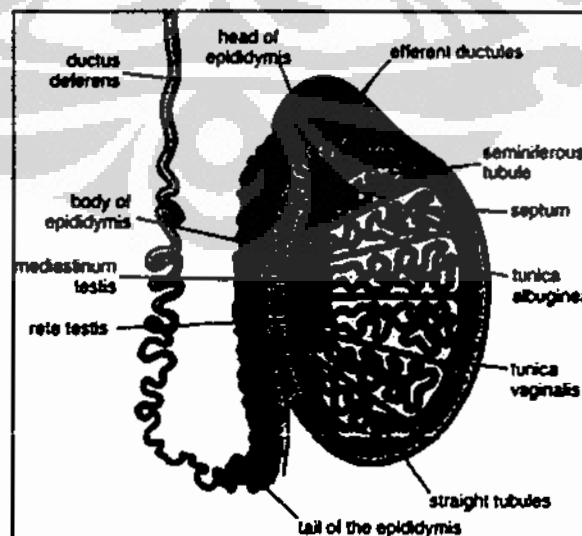
Keterangan: A. Bipotensial *urogenital ridge* (panah besar) di sisi dorsal aorta (panah kecil) sepanjang aksis anterior-posterior antara *fore limb bud* dan *hind limb bud*. B. Gonad pria menunjukkan perbedaan gambaran morfologi, meliputi selom pembuluh darah (panah), G=gonad, M=mesonefros, K=kidney. C dan D. Dimorfisme seksual antara pria (kiri) dan wanita (kanan)

2.1.2. Anatomi Testis

Testis mamalia (Gambar 2.2 dan 2.3) berbentuk ovoid, berada dalam skrotum dan terbungkus membran serosa hampir pada semua permukaan kecuali bagian posterior yang disebut tunika vaginalis. Tunika ini terdiri atas lapisan sebelah luar (parietal) dan lapisan sebelah dalam (viseral). Berat testis tikus rata-rata 2 gram. Testis terbagi menjadi lobulus-lobulus. Setiap lobulus terdiri atas empat tubulus seminiferus. Saluran yang keluar dari testis disebut epididimis, yang terbagi atas tiga bagian, yakni kepala (caput), badan (corpus) dan ekor (cauda). Saluran ini menuju ke saluran di bawahnya yakni saluran vas deferens, vesika seminalis, dan berakhir di uretra^{20,21,38,39,40}.



Gambar 2.2. Organ reproduksi tikus jantan.³⁹

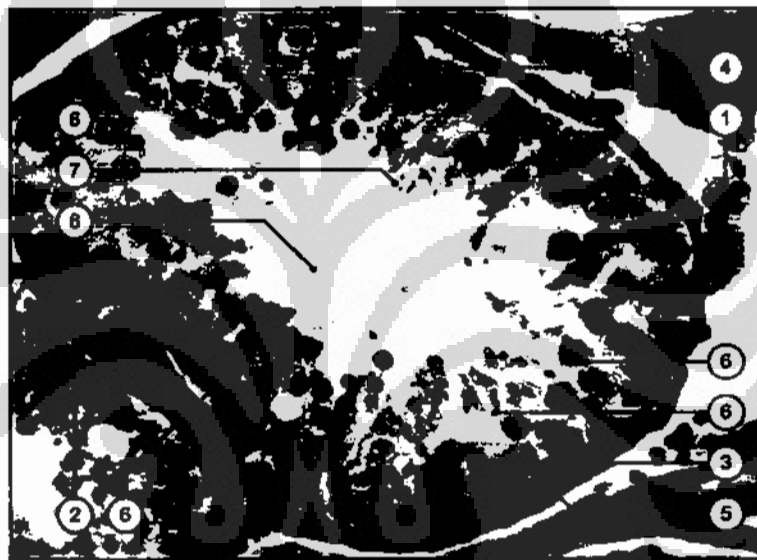


Gambar 2.3. Anatomi testis.⁴⁰

2.1.3. Tubulus Seminiferus

2.1.3.1. Epitel Tubulus Seminiferus

Setiap tubulus seminiferus (Gambar 2.4) terdiri atas suatu lapisan jaringan ikat fibrosa, lamina basalis yang berkembang baik, dan suatu epitel germinal kompleks atau epitel seminiferus. Lamina propria fibrosa yang membungkus tubulus seminiferus terdiri atas beberapa lapis fibroblas. Lapisan paling dalam yang melekat pada lamina basalis terdiri atas sel-sel mioid gepeng, yang memperlihatkan ciri otot polos. Epitel tubulus seminiferus terdiri atas dua jenis sel yaitu sel Sertoli dan sel-sel spermatogenik.^{20,41,42}



Gambar 2.4. Gambaran histologi tubulus seminiferus.⁴²

Keterangan:

- 1) Membran basalis, 2) Miofibroblas, 3) Fibrosit, 4) Sel Sertoli, 5) Spermatogonia, 6) Berbagai tahapan sel-sel spermatogenik selama spermatogenesis, 7) Spermatozoa, 8) Lumen.

Sel Sertoli mempunyai fungsi penting yang erat kaitannya dengan kelangsungan hidup sel-sel spermatogenik, antara lain:

- 1) Menunjang, melindungi, dan mengatur nutrisi spermatozoa yang berkembang.
- 2) Melindungi spermatisit dan spermatid dari respon autoimun melalui *blood-testis barrier* (sawar darah-testis).

- 3) Mengontrol spermatogenesis melalui FSH dan testosteron, juga memproduksi hormon lain yakni *inhibin*, yang bekerja dengan mekanisme umpan balik negatif untuk mengatur sekresi FSH.
- 4) Mengeliminasi *residual bodies* dari spermatid yang mengalami spermiogenesis dengan cara fagositosis.
- 5) Memfasilitasi proses spermiasi melalui *actin-mediated contraction*.
- 6) Mensekresi cairan kaya protein dan ion ke dalam lumen tubuler.
- 7) Memproduksi *Androgen Binding Protein* (ABP) atau protein pengikat-androgen.
- 8) Memproduksi hormon anti-Mullerian, merupakan suatu glikoprotein yang bekerja selama perkembangan embrional.
- 9) Sel Sertoli juga mempunyai peranan dalam meregulasi lingkungan internal tubulus seminiferus dengan adanya *inter-Sertoli cell junctions*.^{20,21,34,38,41,42}

Sel-sel spermatogenik tersebar dalam 4 sampai 8 lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus. Letak sel-sel kelamin dalam tubulus seringkali dihubungkan dengan tingkat perkembangannya. Makin dewasa tingkat perkembangan sel kelamin, makin dekat letaknya ke arah lumen. Sebaliknya sel-sel spermatogenik yang tingkatan perkembangannya belum maju, misalnya spermatogonia, letaknya dekat dengan membran basalis.^{20,21}

2.1.3.2. Sel Leydig

Celah di antara tubulus seminiferus dalam testis diisi kumpulan jaringan ikat, saraf, pembuluh darah dan limfe. Jaringan ikat terdiri atas berbagai jenis sel, termasuk fibroblas, sel jaringan ikat prakembang, sel mast, dan makrofag. Selama pubertas muncul sel tambahan; berbentuk bulat atau poligonal, dan memiliki inti di pusat dan sitoplasma eosinofilik dengan banyak tetesan lipid halus. Sel tersebut adalah sel interstitial, atau sel Leydig yang memiliki ciri sel pengsekresi steroid.^{20,21}

Sel Leydig (Gambar 2.5) muncul pertama kali pada testis di hari ke-15 dari perkembangan embrionik tikus. Sel Leydig fetal ini mensekresikan androgen dengan konsentrasi tinggi yang diperlukan untuk perkembangan duktus Wolfian dan perkembangan seksual jantan. Selama periode prapubertas, sel Leydig

mengalami pertumbuhan yang pesat dan muncul dari sel-sel prekursor mesenkim.⁴⁴ Pada hari ke-28 pada tikus, sel Leydig mulai mengalami perubahan morfologi menjadi sel Leydig dewasa. Sel-sel Leydig selama masa perkembangan pre dan postnatal berbeda dari segi morfologi dan fungsi. Pada masa dewasa fungsi utama sel Leydig adalah memproduksi androgen yang penting untuk proses spermatogenesis dan mempertahankan fungsi sekunder seksual⁴³.



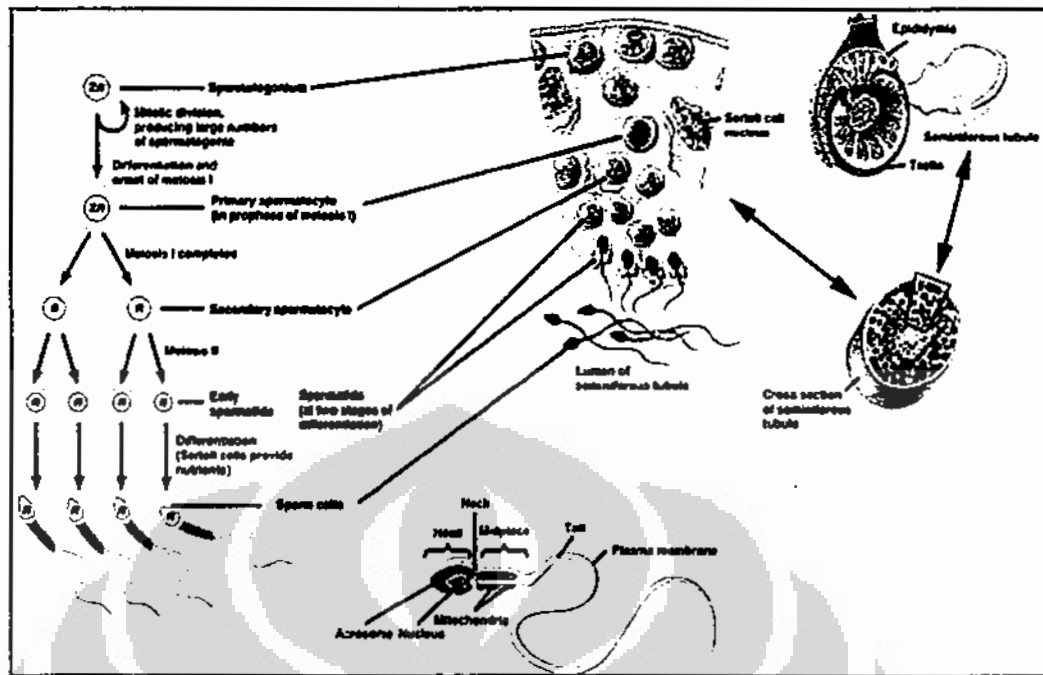
Gambar 2.5. Gambaran histologi sel-sel Leydig.⁴²

Keterangan:

1) Sel Leydig, 2) Protein kristal Rinke

2.2. Spermatogenesis

Istilah spermatogenesis meliputi seluruh kejadian proliferaatif dan perubahan sitologis dari sel germinal awal, spermatogonia menjadi spermatozoa yang matang. Proses spermatogenesis dibagi menjadi tiga fase. Pada fase pertama, spermatositogenesis (mitosis), selama fase ini spermatogonia membelah, menghasilkan sel generasi baru yang nantinya akan menghasilkan spermatosit. Fase kedua dikarakterisasikan dengan meiosis sel spermatogenik yang menghasilkan sel gamet haploid, selama fase ini spermatosit mengalami dua kali pembelahan secara berurutan sampai menghasilkan spermatid. Fase akhir adalah spermiogenesis, pada fase ini spermatid akan berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa.^{20,21} Keseluruhan proses spermatogenesis dapat dilihat dengan jelas pada Gambar 2.6 berikut ini:



Gambar 2.6. Proses spermatogenesis.⁴⁴

2.2.1. Spermatositogenesis

Proses spermatositogenesis dimulai dengan spermatogonia A yang akan berdiferensiasi menjadi spermatogonia B. Spermatogonia A adalah sel induk untuk garis keturunan spermatogenik. Spermatogonia A merupakan sel yang berbentuk kubah menempel pada lamina basalis epitel seminiferus. Sel ini mempunyai nukleus berbentuk ovoid yang mengandung sedikit heterokromatin dan dua nukleoli yang biasanya terletak berdekatan dengan membran nuklear. Spermatogonia A dapat dikategorikan menjadi spermatogonia tipe *A pale* (Ap) dan *A dark* (Ad). Spermatogonia B adalah sel progenitor yang berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Spermatogonia B dapat dibedakan dengan nukleusnya yang lebih bundar dengan gumpalan heterokromatin marginal yang lebih kasar dan nukleolus yang terletak di tengah^{20,21,34,38,44,45}

2.2.2. Meiosis

Setelah proses spermatositogenesis, maka sel spermatogonia A dan B akan memasuki tahap pembelahan meiosis pertama profase. Spermatosit B akan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer merupakan sel yang bundar dan lebih besar dibanding spermatogonia. Pada saat ini, spermatosit

primer memiliki 46 kromosom (44+XY/XX). Pada tahap profase ini, sel melewati empat tahap, yaitu: leptoten, zigoten, pakiten, diploten dan mencapai tahap diakinesis yang menghasilkan pemisahan dari kromosom. Pada stadium leptoten, sel-sel berbentuk benang tipis panjang. Selama stadium zigoten berturut-turut jumlah kromosom homolog datang bersama, membentuk jumlah haploid pasangan sinaptik. Pada stadium pakiten, sepasang kromosom mengkerut longitudinal, menjadi lebih panjang dan mencolok. Pada fase diploten, terjadi pindah silang pada kromosom homolog. Akhirnya pada stadium diakinesis terjadi pindah silang gen-gen pada kromosom akibat rekombinasi meiosis.^{20,21}

Selanjutnya kromosom melakukan pembelahan pada tahap metafase, kemudian membran nuklear menghilang dan tetrad berkumpul pada kutub ekuatorial, saat ini sel memasuki tahap anafase. Pada anafase, anggota setiap pasangan homolog dari kromosom terpisah dan bergerak ke ujung kutub yang berlawananan. Pada tahap telofase jumlah kromosom berkurang menjadi 23. Dari akhir pembelahan meiosis pertama ini timbul sel yang lebih kecil disebut spermatosit sekunder dengan 23 kromosom (22XY/XX). Pengurangan jumlah dari 46 menjadi 23. Selanjutnya pembelahan spermatosit sekunder menghasilkan spermatid, sel yang mengandung 23 kromosom.^{20,21,34,44} Spermatid dapat dikenali melalui ukurannya yang kecil, inti dengan daerah-daerah kromatin padat.

2.2.3. Spermiogenesis

Istilah spermiogenesis menunjukkan urutan perubahan postmeiotik dimana spermatid ditransformasi menjadi spermatozoa. Transformasi spermatid yang bundar menjadi spermatozoa merupakan peristiwa kompleks yang penting pada akhir proses spermatogenesis. Proses spermiogenesis (Gambar 2.7) mencakup proses pembentukan akrosom, pemadatan dan pemanjangan inti, pembentukan flagelum dan kehilangan sebagian besar sitoplasmanya. Hasil akhirnya adalah spermatozoa matang, yang kemudian dilepaskan ke dalam lumen tubulus seminiferus.^{20,21} Spermiogenesis dapat dibagi menjadi tiga fase utama, yaitu:

A. Fase Golgi

Spermatid yang semula cenderung bulat mulai berkembang membentuk kutub. Pada satu sisi dibentuk kepala, di sisi lain akan membentuk bagian tengah

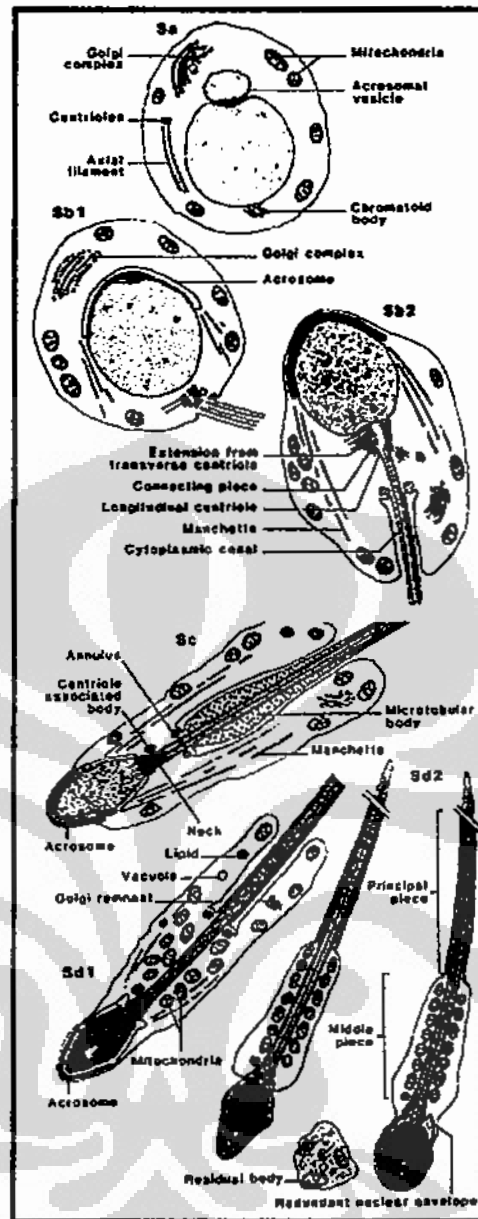
yang menebal, dimana terdapat mitokondria dan membentuk aksonema. Sitoplasma spermatid mengandung kompleks Golgi yang mencolok dekat inti, mitokondria, sepasang sentriol, ribosom bebas, dan tubulus retikulum endoplasma halus. Tanda pertama diferensiasinya menjadi spermatozoa adalah adanya granula proakrosom kecil.²¹ Granula proakrosom kecil berkumpul dengan kompleks Golgi dan kemudian menyatu membentuk satu granula akrosom yang terdapat di dalam vesikel akrosom. Pembentukan aksonema berflagela dimulai, sentriol bermigrasi kembali ke arah inti, sambil memilin komponen aksonema waktu bergeser.²⁰ Aksonema terdiri atas sembilan mikrotubulus ganda yang mengelilingi dua sentral mikrotubulus tunggal.³⁸

B. Fase akrosomal

Vesikel dan granula akrosom menyebar untuk menutupi belahan anterior dari inti yang memadat dan kini dikenal sebagai akrosom. Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik, seperti hialuronidase, neuraminidase, fosfatase asam, dan sebuah protease yang memiliki aktivitas mirip dengan tripsin. Enzim-enzim ini dikenal melepaskan sel dari korona radiata dan mencernakan zona pelusida ovum. Proses ini dikenal sebagai reaksi akrosom, salah satu langkah awal dalam pembuahan.^{20,45} Sementara akrosom terbentuk pada kutub anterior, sentriol bergerak ke permukaan sel pada kutub posterior spermatid.²¹ Salah satu dari sentriol tumbuh secara bersamaan, membentuk flagelum. Gerakan flagelum adalah hasil interaksi antar mikrotubul, *Adenosine Tri Phospat* (ATP), dan protein motor dinein. Mitokondria berkumpul di sekitar bagian proksimal flagelum, membentuk bagian yang menebal dan dikenal sebagai bagian tengah.^{20,34,38}

C. Fase pematangan

Residu sitoplasma yang mengandung mitokondria, lipid dan partikel ribosom dibuang dan difagositosis oleh sel Sertoli melalui mekanisme lisosomal. Selanjutnya spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus seminiferus melalui suatu proses yang disebut spermiasi.^{37,38,45}



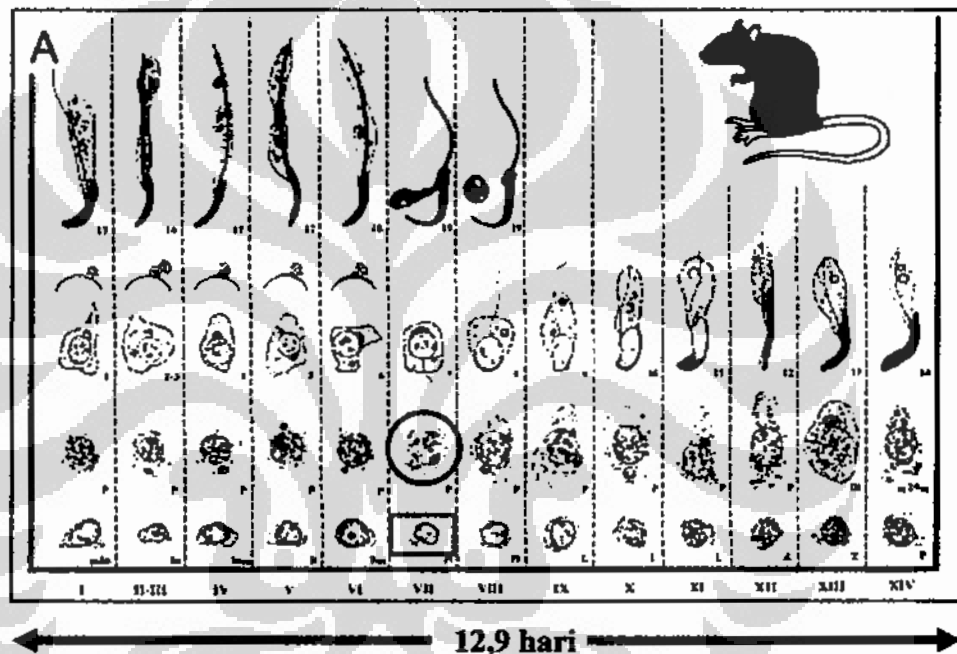
Gambar 2.7. Proses spermiogenesis (pada manusia).³⁸

2.3. Siklus Epitel Seminiferus

Epitel seminiferus pada mamalia dewasa terdiri atas sel Sertoli dan sel-sel germinal. Adanya berbagai tingkat perkembangan sel-sel germinal pada epitel seminiferus tersebut, terutama disebabkan waktu proliferasi dan diferensiasi yang tidak sama dari sel-sel induk spermatogonia. Pada tikus dewasa, perkembangan dari setiap generasi spermatogonium, spermatisit, dan spermatid sangat erat hubungannya dengan perkembangan dari generasi-generasi sel germinal lainnya pada area tubulus yang sama. Jadi, kumpulan sel yang terdapat pada area epitel

Universitas Indonesia

tersebut tidak tersusun secara acak, melainkan diatur menjadi asosiasi sel dengan susunan yang selalu tetap dan teratur. Pada tikus terdapat 14 macam asosiasi sel atau 14 stadia epitel seminiferus (Gambar 2.8). Perubahan (perkembangan) asosiasi sel yang berlangsung terus menerus pada satu area epitel seminiferus, antara dua peristiwa yang terdapat dalam satu asosiasi sel yang sama, disebut siklus epitel seminiferus. Pada tikus, satu siklus epitel seminiferus berlangsung selama 12,9 hari dan untuk melengkapi proses spermatogenesis membutuhkan empat siklus, sehingga proses spermatogenesis yang lengkap pada tikus memerlukan waktu 51,6.⁴⁶

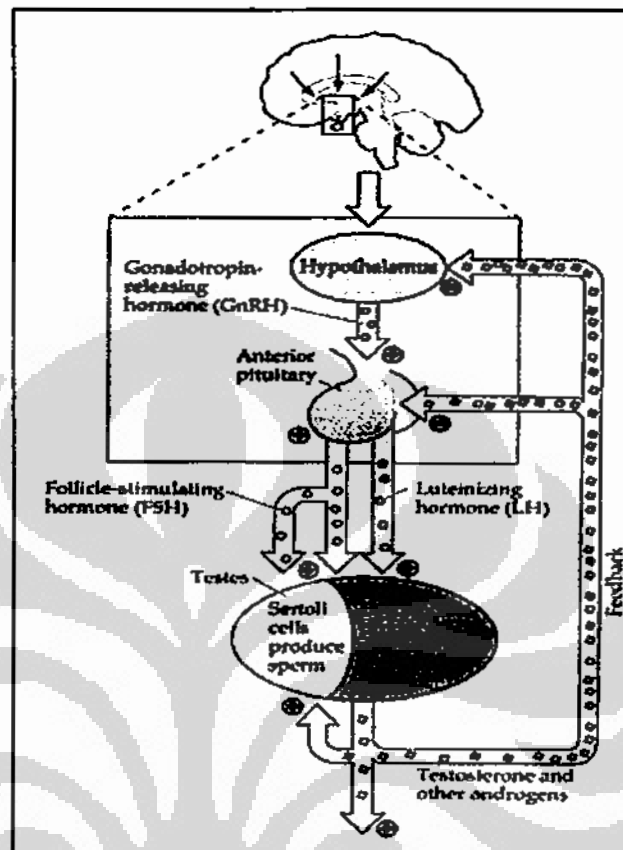


Gambar 2.8. Tipe-tipe asosiasi sel germinal pada berbagai tingkat perkembangan dalam tubulus seminiferus tikus.⁴⁶

2.4. Pengendalian Spermatogenesis oleh Hormon

Proses spermatogenesis terutama dikontrol oleh dua hormon gonadotropik yaitu FSH dan LH, yang disekresikan oleh hipofisis anterior (Gambar 2.9). Sekresi hormon ini dirangsang oleh sebuah hormon *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH). Kedua hormon ini bekerja pada komponen-komponen testis yang berbeda. LH bekerja pada sel Leydig untuk mengatur sekresi testosteron. FSH bekerja pada tubulus seminiferus, terutama di sel Sertoli untuk mensintesis

ABP. ABP berfungsi mengikat testosteron dan membawanya dari luar tubulus seminiferus ke reseptor yang terdapat pada sel germinal.^{41,47,48,49,50,51}



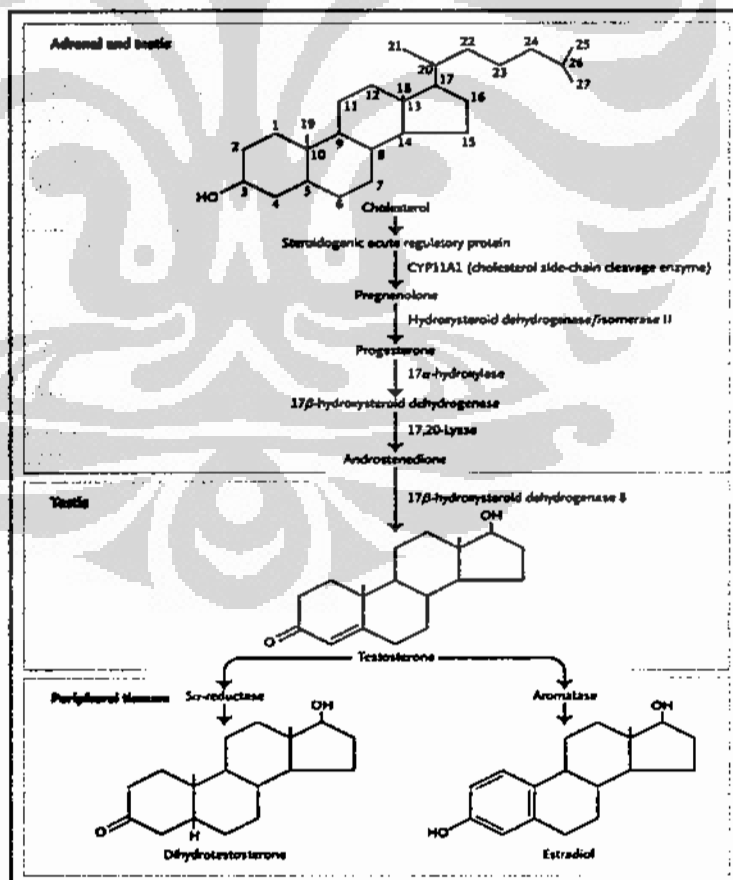
Gambar 2.9. Pengendalian hormon pada testis.⁵¹

LH berinteraksi dengan reseptor permukaan sel pada membran plasma dari sel Leydig. Ikatan ligan menstimulasi pembentukan *Cyclic Adenosine Monophosphate* (cAMP), yang berikatan dengan subunit dari protein kinase. Hal ini menyebabkan disosiasi subunit dan aktivasi subunit katalitik dari enzim. Protein kinase sel Leydig yang teraktivasi bekerja melalui beberapa tahap untuk menstimulasi sintesis enzim pada proses sintesis testosteron.⁵⁰

FSH berperan di awal spermatogenesis, yaitu pada proses proliferasi spermatogonium dan meiosis, tetapi hanya testosteron yang dapat berperan pada proses diferensiasi spermatid.⁴⁸ Penelitian pada tikus mengindikasikan bahwa FSH dan testosteron bersama-sama berperan dalam mempertahankan viabilitas sel germinal dan pelepasan sperma.⁴⁹ FSH bekerja pada tubulus seminiferus dan berikatan dengan reseptor membran sel Sertoli. cAMP berperan sebagai *second*

messenger, aktivasi dari *adenylate cyclase* dapat menstimulasi *cAMP-dependent* protein kinase dan *Ribonucleic Acid* (RNA), sehingga menyebabkan sintesis ABP dan aromatase enzim yang mengkonversi testosteron menjadi estradiol.⁵¹

Androgen mengatur sekresi gonadotropin dan mempertahankan spermatogenesis, berperan pada pembentukan fenotip pria (jantan) selama proses diferensiasi seksual, meningkatkan pematangan seksual pada saat pubertas, dan mengendalikan dorongan dan potensi seksual.⁴⁹ Testosteron adalah androgen utama yang disekresi oleh testis, yang diproduksi di dalam sel Leydig. Kolesterol merupakan komponen utama pembentukan testosteron. Konversi kolesterol menjadi testosteron melibatkan sejumlah enzim, terutama kelompok cytochrome P450. Testosteron dapat dikonversi menjadi dihidrotestosteron (DHT) oleh enzim 5α reduktase. Testosteron dan DHT berikatan dengan protein reseptor androgen yang berafinitas tinggi.^{38,50,52} Proses konversi kolesterol menjadi testosteron dapat dilihat pada Gambar 2.10 berikut:

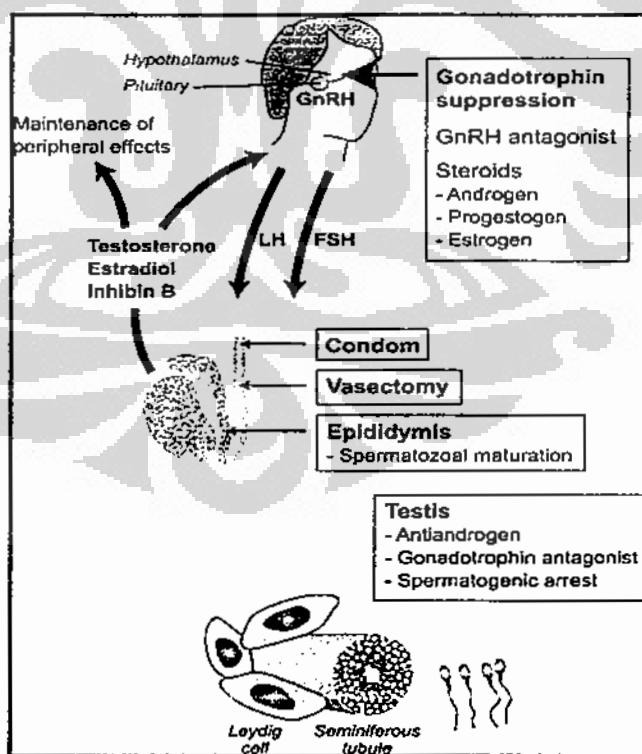


Gambar 2.10. Konversi kolesterol menjadi Testosteron.⁵²

Produksi testosteron pada manusia adalah 5-7 mg per hari,^{38,50} sedangkan pada tikus konsentrasi testosteron kira-kira 50-60 ng/ml ($1,7 \times 10^{-7} M$).⁴⁸ Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi testosteron pada tubulus seminiferus cukup untuk mempertahankan spermatogenesis pada tikus dewasa.⁴⁸ Testosteron berperan mempertahankan proses spermatogenesis. Selama meiosis, testosteron menghambat apoptosis dan mempertahankan populasi sel-sel spermatosit.³⁸

2.5. Kontrasepsi Hormonal Pria

Metode kontrasepsi hormonal pada pria (Gambar 2.11 dan 2.12) bertujuan untuk mengurangi produksi spermatozoa secara reversibel, yaitu melalui hambatan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) sehingga kadar testosteron intra-testikuler menjadi rendah. Pemberian testosteron dari luar ditambah dengan produksi di dalam tubuh menyebabkan testosteron dalam darah tinggi. Hal ini akan menyebabkan mekanisme umpan balik negatif terhadap hipofisis sehingga produksi FSH dan LH menurun. Penurunan kadar FSH dan LH akan menghambat spermatogenesis.^{5,9,17,53}



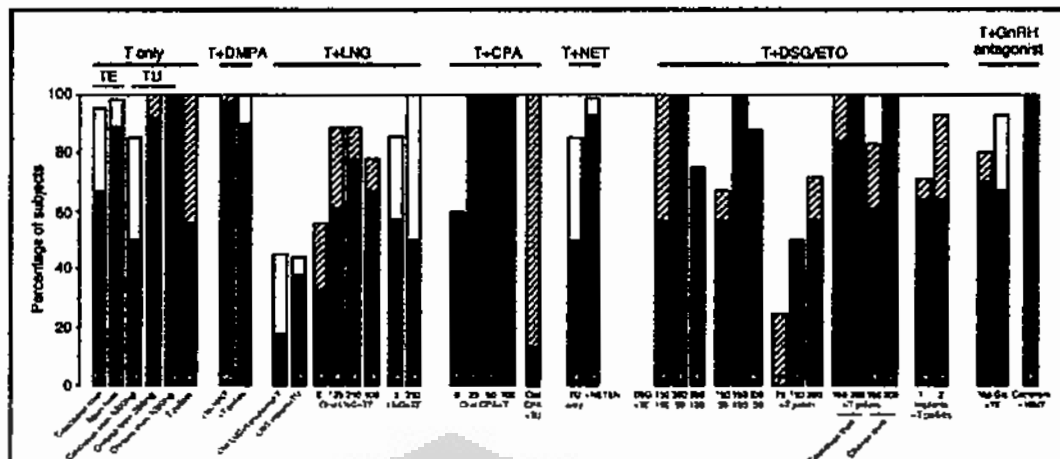
Gambar 2.11. Target potensial kontrasepsi pada pria.⁵³

Berbagai jenis preparat testosteron injeksi terutama yang bersifat *long-acting* (daya kerja panjang) dan juga formula transdermal telah diteliti.⁵⁵ Hasil uji klinik testosteron ester jenis 19 NT-HPP membuktikan bahwa injeksi intramuskuler dosis tunggal menyebabkan hambatan sekresi LH dan FSH 1 minggu setelah perlakuan. Di samping itu pemberian 19 NT-HPP juga dapat menurunkan jumlah dan kualitas spermatozoa. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa injeksi testosteron propionat (TP) dapat meningkatkan kadar testosteron darah dua kali lebih tinggi dari normal, penurunan LH plasma dan penurunan testosteron intra-testikuler sekitar 95%. Testosteron ester yang paling berpotensi untuk kontrasepsi adalah testosteron busiklat (TB), yang mempunyai durasi 3-4 bulan.⁵⁵

TU merupakan penemuan terbaru yang paling menjanjikan dan telah dikembangkan di Eropa dan Cina. TU dapat bertahan selama 6-8 minggu.^{19,54,55,56} TU yang diberikan pada pria Cina dengan interval 1 bulan dosis 500 atau 1000 mg, masing-masing mengakibatkan azoospermia pada 11 dari 12 dan 12 dari 12 pria.¹⁹ Penelitian keampuhan kontrasepsi pada fase II menunjukkan hasil yang baik pada populasi Cina. Dari 308 pria yang menerima dosis awal TU 1000 mg diikuti dengan dosis lanjutan TU 500 mg per bulannya, hanya 9 yang tidak mengalami azoospermia atau oligospermia berat pada fase supresi.⁵⁶

2.5.2. Regimen Kombinasi Androgen-Progestin

Kombinasi androgen dan progestin (Gambar 2.13) telah banyak diteliti oleh para peneliti di dunia. Progestin adalah penghambat kuat sekresi gonadotropin hipofisis yang digunakan secara luas untuk kontrasepsi wanita dan perlakuan hormonal pada kelainan seperti endometriosis, myoma uterus dan mastalgia.^{16,45} Penggunaan progestin tunggal dapat menekan gonadotropin, menurunkan jumlah testosteron, menghambat spermatogenesis dan pada akhirnya menurunkan produksi sperma sehingga menyebabkan kondisi azoospermia. Akan tetapi penggunaan progestin tunggal dapat menyebabkan defisiensi androgen sehingga dibutuhkan penambahan androgen dari luar.^{53,56,57,58,59,60}



Gambar 2.13. Perbandingan kemampuan penekanan spermatogenesis pada beberapa penelitian regimen testosteron tunggal dan regimen kombinasi testosteron-progestin.⁵⁵

Keterangan: Data menggambarkan presentasi subjek yang mencapai azoospermia (*kolom hitam*) dan oligozoospermia (*kolom putih/berarsir*). *Kolom putih* menggambarkan konsentrasi sperma kurang dari $3 \times 10^6/\text{ml}$, dan *kolom berarsir* menggambarkan konsentrasi sperma kurang dari $1 \times 10^6/\text{ml}$.

Penelitian WHO melalui *Task Force* yang membandingkan kombinasi antara dua androgen: TE atau 19 NT-HPP dengan DMPA telah dilakukan di Indonesia. Sebagian relawan mendapat suntikan TE dan sebagian lain 19 NT-HPP dosis 200 mg/minggu selama 7 minggu, yang kemudian diikuti dengan suntikan 3 minggu sekali sampai minggu ke-24. Kedua kelompok tersebut setelah itu disuntik dengan DMPA 250 mg pada minggu ke-0, 6, 12 dan 18. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada penyuntikan TE dan DMPA, 95,6% (43 dari 45 relawan) menjadi azoospermia, sedangkan penyuntikan 19 NT-HPP dan DMPA, 97,8% (44 dari 45 relawan) menjadi azoospermia.¹⁷

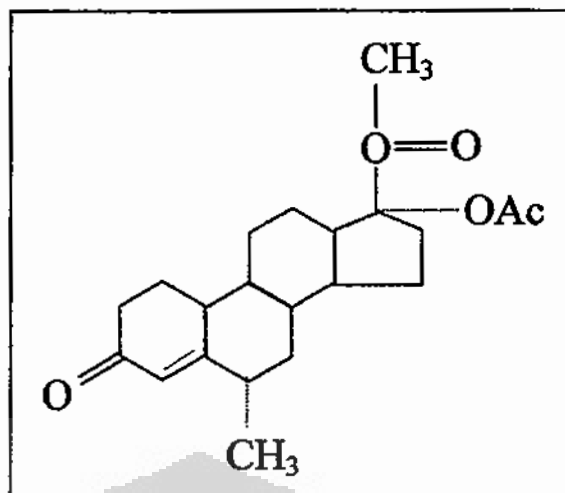
Pada tahun 2001, kontrasepsi hormonal TU dan DMPA telah diteliti di Indonesia dengan mengikutsertakan 20 pria. Setelah diacak kemudian 10 pria disuntik dengan 500 mg TU dengan interval 6 minggu (Kelompok I) dan 10 pria lain disuntik dengan 500 TU interval 6 minggu dan 250 mg DMPA dengan interval 12 minggu (Kelompok II). Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok I terjadi penurunan sperma 69,48% dan pencapaian azoospermia 10%, sedangkan pada kelompok II terjadi penurunan sperma sebesar 99,45% dan pencapaian azoospermia sekitar 80% dan 20% lainnya mengalami oligozoospermia dengan konsentrasi spermatozoa kurang dari 0,1 juta/ml.¹⁸

Penelitian Ilyas¹⁶ membuktikan bahwa terjadi penurunan konsentrasi spermatozoa dan peningkatan frekuensi azoospermia melalui peristiwa apoptosis selama penyuntikan TU dan DMPA jangka panjang pada tikus percobaan. Lestari²⁶ melaporkan bahwa terjadi peningkatan apoptosis pada berbagai tahap perkembangan sel-sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit, dan spermatid) selama penyuntikan TU dan DMPA. Selanjutnya Pandjaitan²⁴ membuktikan bahwa terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus dan berat testis tikus percobaan selama penyuntikan dengan TU dan DMPA.

2.6. Depot Medroksiprogesteron Asetat (DMPA)

Progesterin merupakan modifikasi dari testosteron yang tidak mempunyai atom C-19.⁶⁰ Progesterin yang cukup dikenal dengan baik untuk kontrasepsi adalah medroksiprogesteron asetat (MPA).¹⁰ Medroksiprogesteron asetat adalah senyawa 21-karbon (hidroktisteron) yang berhubungan secara erat baik secara farmakologi maupun secara kimia terhadap progesteron.^{61,62} Efek samping dari MPA yang telah dilaporkan adalah peningkatan berat badan, penurunan konsentrasi *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG), penurunan konsentrasi kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL), penurunan konsentrasi testosteron, gynecomastia, dan hambatan spermatogenesis.^{10,13}

MPA (Gambar 2.14) pertama kali dikembangkan di akhir tahun 1950. MPA telah banyak digunakan untuk berbagai kondisi dan kontrasepsi pada wanita.^{14,15,57} MPA telah digunakan untuk pengobatan hipertrofi prostat, hiperseksualitas dan kontrasepsi pria. MPA telah digunakan pada pria sehat untuk menekan spermatogenesis.⁵⁷ Penelitian awal MPA untuk kontrasepsi pria dilakukan pada tahun 1970 oleh *International Committee for Contraceptive Research of the Population Council* (ICCRPC), 50% pria mengalami azoospermia dengan kombinasi DMPA dan testosteron.^{53,62}



Gambar 2.14. Struktur kimia MPA.⁶²

Kombinasi MPA dan testosteron yang diberikan pada 307 pria selama 12 minggu menunjukkan hasil 205 (67%) subjek mencapai azoospermia. Penelitian yang dilakukan di Cina^{19,56} dan di Indonesia^{17,18} menunjukkan kemampuan MPA untuk kontrasepsi hormonal pria. Seperti regimen hormon lain pada testis, derajat azoospermia yang dicapai pada populasi Asia lebih tinggi daripada populasi Kaukasia. 122 (87%) dari 140 subjek Asia mencapai azoospermia, sedangkan hanya 75 (57%) dari 131 subjek Kaukasia yang mencapai azoospermia. Hipotesis awal menyatakan bahwa terdapat faktor genetik seperti sensitivitas kelenjar hipofisis atau testis terhadap efek penekanan steroid diantara kedua kelompok. Hipotesis lain menyatakan bahwa faktor makanan dapat mempengaruhi metabolisme dalam tubuh.^{22,25}

2.6.1. Farmakokinetik DMPA

Progesteron dalam larutan minyak yang diberikan secara parenteral akan segera diabsorpsi dengan cepat, sehingga efek terapeutik optimalnya sukar didapat. Telah dibuktikan bahwa satu dosis yang terbagi dalam beberapa kali pemberian sehari lebih efektif daripada pemberian satu dosis tunggal sekaligus. Pemberian per oral juga akan diabsorpsi dengan cepat dan mengalami sirkulasi enterohepatik. Inaktivasinya terjadi di hepar, dan dalam sirkulasi enterohepatik hormon ini juga akan mengalami perubahan yang cukup cepat sehingga pemberian oral kurang efektif dibandingkan pemberian parenteral. Derivat progestin

mengalami nasib yang agak berbeda dengan progesteron endogen atau alami. Proses degradasinya berlangsung lebih lambat, sehingga cukup diberikan dalam dosis tunggal.⁶⁰ MPA dapat diberikan secara intramuskuler maupun per oral.^{61,62} MPA mempunyai aktivitas sebagai anti-estrogenik dan androgenik.⁶¹ Di dalam plasma MPA berikatan dengan albumin.⁶²

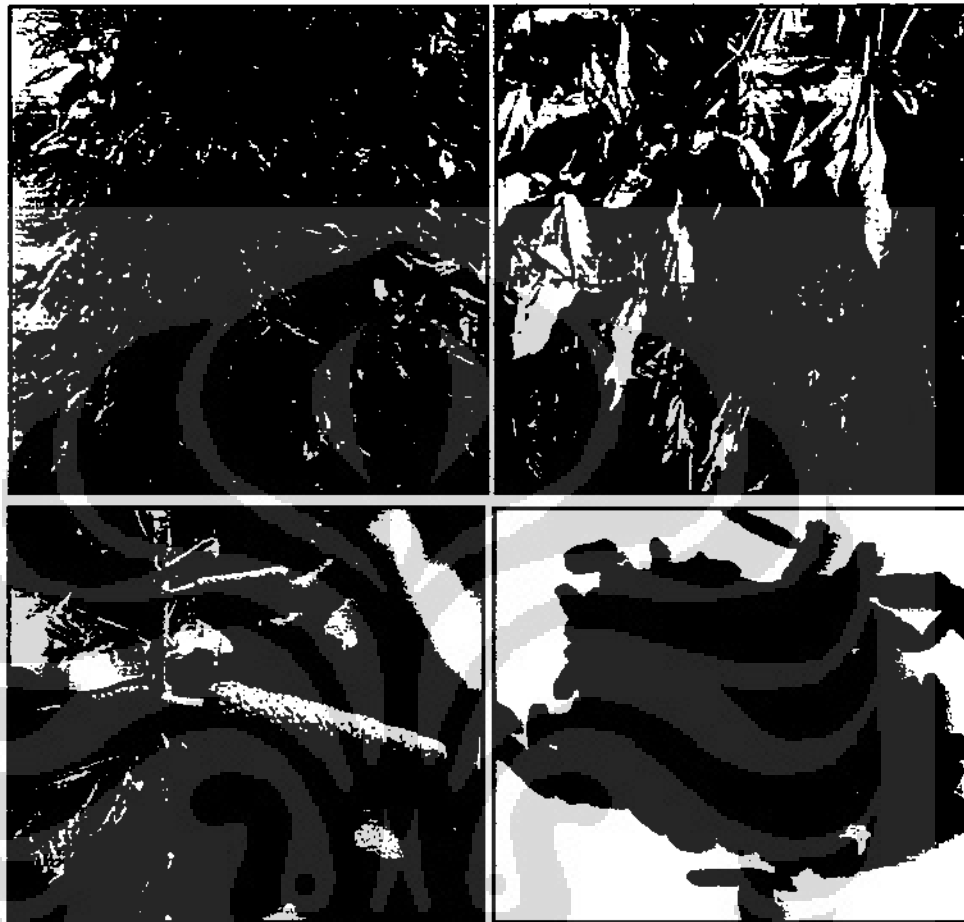
2.6.2. Efek Fisiologi DMPA

Progestin memasuki sel dan terikat pada reseptor progesteron yang tersebar antara inti dan sitoplasma. Kompleks ligan-reseptor terikat pada elemen respons untuk mengaktivasi transkripsi gen. Kompleks progesteron-reseptor membentuk suatu dimer sebelum terikat pada *Deoxyribonucleic Acid* (DNA).⁶¹ Progesteron mempunyai sedikit efek pada metabolisme protein. Progesteron merangsang aktivitas protein lipase dan tampaknya membantu deposisi lemak. Progesteron dan analognya MPA dilaporkan meningkatkan *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan menurunkan serum HDL serta efek terhadap metabolisme karbohidrat lebih nyata. Progesteron meningkatkan kadar insulin basal dan respon insulin terhadap glukosa.⁶² Progesteron dapat berkompetisi dengan aldosteron pada tubulus ginjal yang menyebabkan reabsorpsi Na⁺. Hal ini menyebabkan peningkatan sekresi aldosteron oleh korteks adrenal. Progesteron menurunkan kadar plasma pada banyak asam amino dan menyebabkan peningkatan ekskresi nitrogen melalui urin.^{61,62}

2.7. Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)

Cabe jawa atau lada panjang (*Javanese long pepper*) mempunyai nama ilmiah *Piper retrofractum* Vahl atau *Piper officinarum* D.C., *Chavica officinarum* Miq, lebih dikenal dengan cabe jamu di Jawa Timur (Gambar 2.15). Cabe jawa termasuk tanaman obat daerah tropis dan merupakan tumbuhan asli Indonesia yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi. Jenis tumbuhan ini dapat tumbuh di kawasan Indo-China, Thailand sampai bagian selatan Asia Tenggara. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat dari tanaman ini adalah daun, akar, dan buah. Namun, bagian yang dipanen dan banyak dipakai untuk tanaman

obat adalah buahnya. Sebagai tanaman budidaya cabe jawa banyak terdapat di pulau Jawa dan Sumatera.^{63,64,65,66,67,68,69,70,71}



Gambar 2.15. Tanaman Cabe jawa.⁶³

2.7.1. Klasifikasi Tanaman Cabe Jawa.⁶³

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Magnoliopyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Botanical name	: <i>Piper retrofractum</i> Vahl

2.7.2. Morfologi Tanaman Cabe Jawa

Cabe jawa merupakan tumbuhan menahun, batang percabangan liar, tumbuh, memanjat, melilit dengan akar lekatnya, panjangnya dapat mencapai 10

Universitas Indonesia

meter. Percabangan dimulai dari pangkalnya yang keras dan menyerupai kayu. Daun tunggal, bertangkai, bentuknya bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat, ujung runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin, permukaan bawah berbintik-bintik, panjang 8,5-30 centi meter (cm), lebar 3-13 cm, warna hijau. Bunga berkelamin tunggal, tersusun dalam bulir, bentuk bulat panjang sampai silindris, bagian ujung agak mengecil, permukaan tidak rata, bertonjolan teratur, panjang 2-7 cm, garis tengah 4-8 mili meter (mm), bertangkai panjang, masih muda berwarna hijau, keras dan pedas, kemudian warna berturut-turut menjadi kuning gading akhirnya menjadi merah, lunak dan manis. Biji bulat, pipih, keras, berwarna cokelat kehitaman.⁶³

2.7.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Cabe Jawa.⁶⁷

2.7.3.1. Ketinggian Tempat

Tanaman ini dapat tumbuh pada ketinggian tempat mulai dari dekat pantai sampai 600 meter (m) di atas permukaan laut (dpl). Pada ketinggian kurang dari 500 m dpl, dengan suhu 23°C-30°C sangat sesuai untuk famili Piperaceae.

2.7.3.2. Jenis Tanah

Tanaman ini dapat tumbuh dan menghasilkan dengan lebih baik di semua jenis lahan kering, pada semua jenis tanah di Pulau Jawa antara lain: lantisol podsolik merah kuning, regosol, andosol, asal perbandingan fraksi liat: pasir: debu berimbang, dan drainase tanah baik. Tanaman ini dapat dikembangkan pada daerah datar sampai kaki bukit. Tanah yang subur kaya bahan organik dan mineral dengan lapisan tanah yang dalam (minimal 60 cm) amat dikehendaki.

2.7.3.3. Iklim

Faktor iklim yang penting dalam pengembangan cabe jawa adalah curah hujan, bulan basah dan kering serta hari hujan. Untuk tanaman cabe jawa belum dilakukan studi kesesuaian lingkungan. Tetapi mengingat tanaman ini berada dalam satu keluarga dengan lada (*Piper nigrum*), maka syarat tumbuh lingkungannya dapat mengacu pada lada yang sudah banyak diteliti. Iklim dengan curah hujan sekitar 2400 mm per tahun dan merata sepanjang tahun dengan suhu

Universitas Indonesia

23°C-30°C adalah yang dikehendaki cabe jawa. Adanya musim kemarau akan berhubungan baik dengan perbungaan. Tanaman ini membutuhkan sinar matahari penuh selama pertumbuhannya.

2.7.3.4. Kandungan Kimia dan Efek Farmakologi Cabe Jawa

Secara empiris buah cabe jawa yang sudah tua digunakan untuk mengobati perut kembung, mulas, muntah-muntah, memperbaiki pencernaan, merangsang nafsu makan, berbagai macam demam, meluruh keringat, encok, infeksi pada hati, tekanan darah rendah, urat syaraf lemah, sukar bersalin, dan lemah syahwat. Akar digunakan untuk obat sakit gigi, luka dan kejang, sedangkan daun untuk obat kumur.⁶⁵

Buah cabe jawa mengandung alkaloid utama piperin, piperatin, minyak atsiri, n-iso-butyl-deka-trans-2-trans-4 dienamida, eikosadienamida, eikosatrien amida, guinensina, oktadekadienamida, pipersida, β -sitosterol, dihidropiperlonguminina, pipernonalina, piperundekalidina, damar, polifenol, resin (kavisin). Di samping itu ditemukan pula kandungan protein, karbohidrat, gliserida, tanin, dan kariofelina.^{64,65}

Hasil penelitian buah cabe jawa pada tikus putih menurut kriteria Dorfman dan Hersberger menunjukkan adanya efek androgenik dan anabolik.⁶⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Sa'roni *et al.*, menunjukkan bahwa infus buah cabe jawa dosis 2,1 mg/10 g berat badan tikus menunjukkan adanya efek androgenik dan anabolik.²⁸ Dari hasil penelitian toksisitas akut pada mencit yang diberikan infus dosis 2,1mg/10 g berat badan dapat disimpulkan bahwa infus buah cabe jawa termasuk golongan *relatively harmless*. Dengan demikian, pemakaian buah cabe jawa sebagai obat dalam bentuk seduhan dapat dikatakan cukup aman. Mungkin minyak atsiri yang dikandung mempunyai efek dapat menghilangkan kelelahan, menambah semangat dan tenaga serta dapat memacu memperbanyak pengeluaran enzim pencernaan sehingga terlihat adanya efek androgenik dan anabolik.⁶⁴

Pada tahun 2002 Isnawati *et al.*, melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak buah cabe jawa yang diuji dengan metode Ames tidak memperlihatkan adanya efek mutagenik sehingga aman untuk dikonsumsi.²⁹

Universitas Indonesia

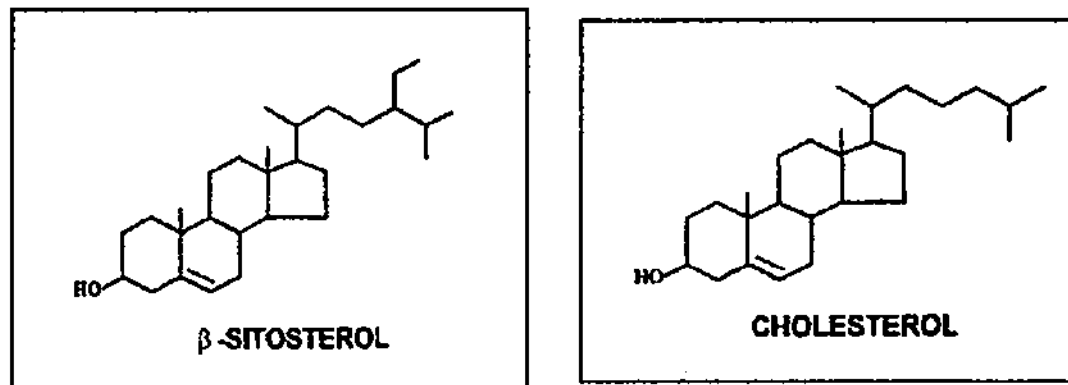
Selanjutnya penelitian Wahjoedi *et al.*, menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah cabe jawa terhadap efek androgeniknya pada anak ayam jantan pada dosis 3,75 mg/100 g berat badan mempunyai respon tidak berbeda nyata dengan bahan standar TU dosis 500 mg/100 g berat badan.³⁰

Pada tahun 2006 dilakukan penelitian uji klinik ekstrak cabe jawa untuk mengetahui efek androgeniknya pada 9 pria hipogonad yang dilakukan oleh Moeloek *et al.* Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ternyata ekstrak cabe jawa dapat meningkatkan kadar testosteron darah pada 7 dari 9 pria relawan (78%), tidak menurunkan kadar hormon FSH dan LH, dapat meningkatkan frekuensi koitus. Pada pemantauan *Prostate Specific Antigen* (PSA) dan darah menunjukkan pemakaian ekstrak cabe jawa cukup aman dengan dosis 100 mg/hari pada 9 pria hipogonad.³¹

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa buah cabe jawa dapat meningkatkan kadar testosteron darah.^{27,28,30} Testosteron dan hormon steroid lain disintesis dari prekursor kolesterol. Sintesis testosteron diawali dengan terjadinya pembentukan pregnenolon dari kolesterol (Gambar 2.10)⁵² Konversi kolesterol menjadi pregnenolon merupakan urutan dua kali reaksi hidrosilasi yang diikuti dengan reaksi pemutusan ikatan karbon pada rantai samping.^{27,32} Senyawa fitosterol (bentuk steroid dalam tumbuhan) yang berstruktur mirip kolesterol dapat diubah menjadi pregnenolon.²⁷ Salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam cabe jawa adalah β -sitosterol (termasuk senyawa steroid).⁶⁵ Penambahan β -sitosterol ke dalam sistem mitokondria testis babi dapat menghasilkan pregnenolon dengan laju relatif 98% terhadap pembentukan pregnenolon dari kolesterol pada sistem yang sama. Kesamaan struktur antara β -sitosterol dengan kolesterol (Gambar 2.16) memungkinkan dikonversinya menjadi hormon steroid.^{32,33}

Menurut Nuraini senyawa saponin yang terkandung dalam buah cabe jawa merupakan senyawa dengan struktur dasar sterol (bagian aglikon) yang berikatan dengan bagian glikosida (gugus gula). Sterol dalam bentuk glikosida yaitu saponin (β sitosterol- β -D-glikosida) di dalam lambung yang bersifat asam mengalami pemutusan bagian gula, sehingga dapat memberikan efek seperti sterol bebas.²⁷

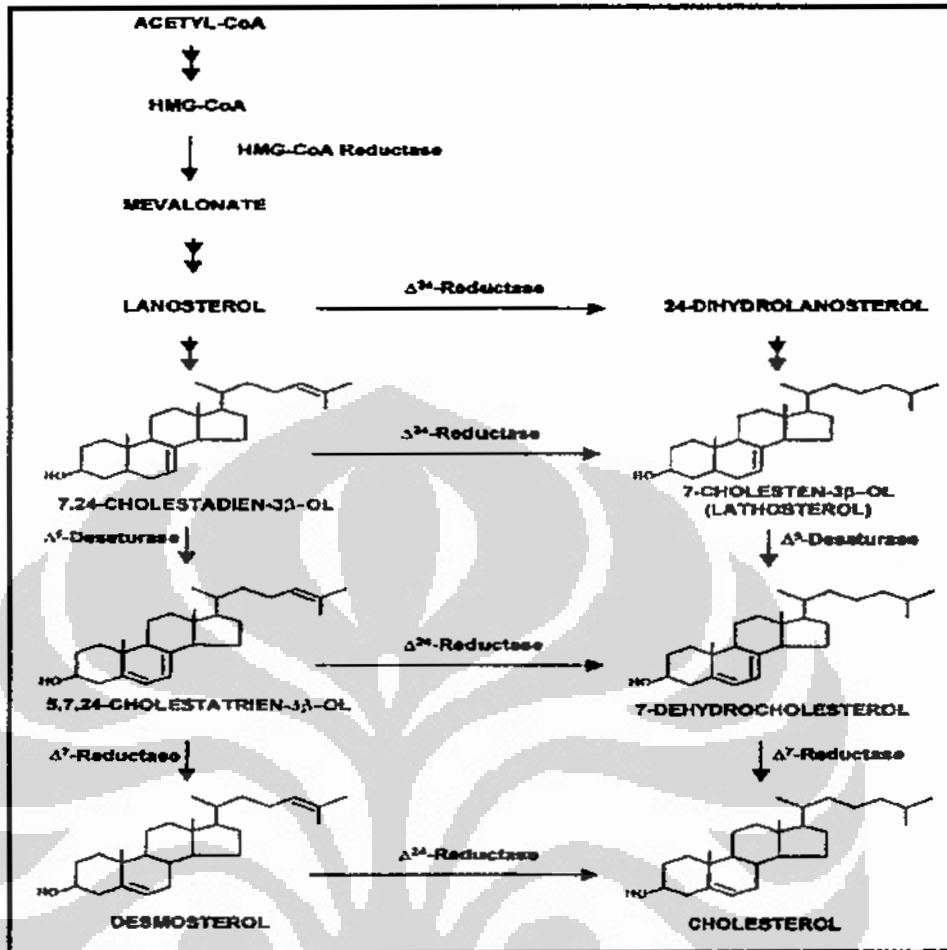
Universitas Indonesia



Gambar 2.16. Struktur β -sitosterol dan kolesterol³³

Fitosterol adalah senyawa pada tumbuhan yang mirip dengan kolesterol pada mamalia. Keduanya memiliki kesamaan struktur, tetapi berbeda pada sisi rantai dimana terdapat modifikasi pada fitosterol, seperti terdapat ikatan ganda pada C-22 dan/atau gugus alkil (metil atau etil) pada C-24. Sumber utama makanan yang mengandung sterol adalah kacang-kacangan, biji-bijian, minyak tumbuhan yang belum matang, dan lain-lain. β -sitosterol adalah salah satu contoh fitosterol terbesar. Pada kondisi normal, usus menyerap fitosterol sangat terbatas (< 5% yang terserap). Di dalam darah fitosterol cepat hilang, sehingga konsentrasinya di dalam darah hampir kurang dari 1 mg/desiliter (dl). Suatu mekanisme yang melibatkan *ATP-binding cassette protein G* (ABCG), protein ABCG5 dan ABCG8 terbukti dapat menyebabkan penurunan absorpsi fitosterol melalui *barier* usus dan sekresi yang cepat pada empedu.³³

Fitosterol ditransportasikan dalam plasma dan berikatan dengan lipoprotein seperti halnya kolesterol, mereka diesterifikasi dengan asam lemak oleh lecithin: *cholesterol acyltransferase* ('LCAT'). Hati mensekresi fitosterol ke dalam empedu secara efisien, tetapi pada jaringan-jaringan lain mereka terakumulasi, terutama kelenjar adrenal, ovarium dan testis. Lebih lanjut, jaringan-jaringan ini akan mengkonversi fitosterol menjadi hormon steroid. Biosintesis kolesterol dari asetil-CoenzimA (asetil-CoA) merupakan jalur bertahap yang melibatkan 19 reaksi enzim. Konversi lanosterol (sterol pertama yang terbentuk) menjadi kolesterol memerlukan beberapa tahapan. Saturasi ikatan ganda pada C-24 dikatalisis oleh enzim sterol Δ^{24} -reduktase.³³ Reaksi konversi fitosterol menjadi kolesterol dapat dilihat pada Gambar 2.17 berikut:



Gambar 2.17. Reaksi konversi fitosterol menjadi kolesterol³³

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Bahan Penelitian

3.1.1. Hewan Percobaan

Subjek penelitian adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus* L) galur *Sprague-Dawley* yang sehat dan fertil, berumur 40-60 hari dengan berat badan ± 250 gram. Tikus diperoleh dari Laboratorium Balai Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI (BPOM Depkes RI). Selama penelitian berlangsung kesehatan tikus dijaga agar tidak sakit. Tikus diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Kandang dijaga kebersihannya dan diatur 12 jam terang dan 12 jam gelap, sehingga tikus tersebut layak digunakan untuk penelitian. Di samping itu diperhatikan penanganan yang sesuai untuk hewan coba untuk memenuhi persyaratan kode etik yang berlaku (Lampiran 1: Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan). Di antaranya penanganan *gentle be gentle*, pemberian makanan yang cukup gizi dan sehat serta memperhatikan kebersihan kandangnya. Tikus percobaan akan dikelompokkan ke dalam 6 kelompok perlakuan, antara lain: kelompok kontrol perlakuan (KP=tikus disuntik DMPA dan diberi plasebo), perlakuan I (PI=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 0,94 mg), perlakuan II (PII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 1,88 mg), perlakuan III (PIII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 2,82 mg), perlakuan IV (tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 3,76 mg) dan kelompok kontrol (K). Penelitian dilakukan bulan Januari-Oktober 2008 di Laboratorium Hewan Biologi FKUI. Penetapan jumlah tikus percobaan pada tiap kelompok perlakuan ditetapkan berdasarkan pada rumus Federer sebagai berikut:⁷²

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$n \geq 20/5$

$n \geq 4$

(Ket: t = total perlakuan, n = total ulangan)

Jadi ulangan yang dibenarkan menurut statistik adalah 4 ekor tikus jantan untuk setiap kelompok perlakuan. Untuk mengantisipasi adanya kematian tikus selama perlakuan maka ditambah 2 ekor tikus, sehingga menjadi 6 ekor tikus per kelompok.

3.1.2. Ekstrak Cabe jawa

Ekstrak cabe jawa diperoleh dari BPOM RI dalam bentuk gelatin/kapsul. Setiap kapsul berisi 5,5 mg ekstrak etanol buah cabe jawa. Penetapan dosis ekstrak cabe jawa diperoleh dari penelitian pre-klinik ekstrak buah cabe jawa oleh Moelock *et al.*,³¹ ternyata dosis 1,88 mg/100 g berat badan tikus adalah dosis yang paling baik mempunyai efek androgenik maupun meningkatkan kadar hormon testosteron. Dari dosis 1,88 mg tersebut kemudian dikembangkan lagi menjadi beberapa dosis antara lain; 0,94 mg, 2,82 mg, dan 3,76 mg.

3.1.2.1. Pembuatan Ekstrak⁷³

Sebanyak 15 kg cabe jawa diletakkan di dalam maserator *stainless steel*. Ditambah etanol 95% dengan perbandingan 1:2, diaduk dengan pengaduk elektrik selama 15 menit. Kemudian diperas dengan tekanan tertentu dan filtratnya ditampung. Dengan cara yang sama, ampas diperlakukan seperti semula, diulang 2 kali sehingga diperoleh filtrat jernih. Semua filtrat yang didapatkan dicampurkan, kemudian diuapkan dengan menggunakan evaporator sampai etanolnya habis. Penguapan dilanjutkan dalam panci *stainless steel* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

3.1.2.2. Pembuatan larutan Na-CMC 1% Ditimbang 7 g Na-CMC dan dilarutkan dalam 140 mL akuades. Na-CMC dibiarkan mengambang di atas akuades sekitar 15 menit sambil sesekali diaduk. Setelah terbentuk masa homogen, ditambahkan air hingga diperoleh volume 700 mL sambil terus diaduk. Sehingga diperoleh larutan 1% CMC sebanyak 700 mL.

3.1.2.3 Pembuatan suspensi obat

Bahan uji berupa ekstrak kering cabe jawa yang terdapat dalam kapsul. Setiap kapsul mengandung 5,5 mg ekstrak cabe jawa. Jika rata-rata berat badan tikus percobaan adalah 250 g, jadi volume pencekakan rata-rata perhari adalah 2 mL. Maka cabe jawa yang diperlukan untuk dilarutkan dalam 150 mL 1% CMC adalah sebagai berikut:

Dosis $0,94 \text{ mg} \times 5,5 \text{ mg} = 5,17 \text{ mg}$ isi kapsul

Dosis 0,94 mg adalah untuk 100 g berat badan tikus, sedangkan untuk rata-rata 250 g berat badan, dosis yang diberikan ke tikus adalah $5,17 \text{ mg} \times 2,5 = 12,925 \text{ mg}$.

Berat total cabe jawa yang diperlukan untuk dilarutkan dalam larutan 1% CMC

150 mL adalah $\frac{150}{2} \times 12,925 \text{ mg} = 969,375 \text{ mg} = 0,96 \text{ g}$

Berarti diperlukan 0,96 g ekstrak cabe jawa dalam larutan 1% CMC 150 mL untuk dosis 0,94 mg, sedangkan untuk dosis 1,88 mg dihitung dengan rumus yang sama maka diperlukan 1,93 g ekstrak cabe jawa dalam larutan 1% CMC 150 mL. Untuk dosis 2,82 mg diperlukan 2,90 g ekstrak cabe jawa dalam larutan 1% CMC 150 mL, dan untuk dosis 3,76 mg diperlukan 3,87 g ekstrak cabe jawa dalam larutan 1% CMC 150 mL.

3.1.3. Bahan Kimia

Bahan kimia yang dipakai dalam penelitian ini antara lain: DMPA (depo geston) diperoleh dari Rumah Sakit Harapan Kita Jakarta. Penetapan dosis DMPA diperoleh dari penelitian Yurnadi *et al.*,⁷³ telah diketahui bahwa dosis 1,25 mg efektif dalam menghambat spermatogenesis pada tikus. Selain itu bahan kimia

lain yang digunakan adalah akuabides, aether, larutan Na-CMC, larutan Bouin, larutan NaCl fisiologis, eosin Y, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), benzil benzoat, benzol, parafin, albumin Mayer, xylol, larutan Haematoksin, balsem kanada.





































3.2. Alat Penelitian

Alat-alat penelitian yang dipakai dalam penelitian ini antara lain: gelas ukur, gelas kimia, lumpang dan alu, therumo syringe, sonde, satu set alat bedah (papan bedah, gunting, pinset, jarum, dan lain-lain), timbangan digital Citizen, mikrotom putar Spencer Model 820, botol-botol *shot duran* berukuran 100 ml, 250 ml, 500 ml, dan 1000 ml, bak pewarnaan (*staining jar*), kaca objek, kaca penutup, silet, mikroskop elektrik binokuler, alat hitung (*counter*) hope no.8-004, mikrometer objektif dan mikrometer okuler.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan *equal size sample*, 6 perlakuan terdiri atas kelompok kontrol (K), kelompok kontrol perlakuan (KP=tikus disuntik DMPA dan diberi plasebo), perlakuan I (PI=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 0,94 mg), perlakuan II (PII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 1,88 mg), perlakuan III (PIII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 2,82 mg), perlakuan IV (tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 3,76 mg).

Tabel 3.1. Rancangan penelitian

No	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1						
2						
3						
4						
5						
6						

3.4. Perlakuan Hewan Percobaan

Tikus percobaan diaklimatisasi di kandang selama 15 hari, diberi makan dan minum standar. Tikus disuntik dengan DMPA sesuai dengan dosis yang telah ditetapkan, yaitu 1,25 mg. Penyuntikan dilakukan pada paha kanan atau kiri secara bergantian. Penyuntikan dilakukan sebanyak dua kali, penyuntikan pertama dilakukan pada minggu ke-0 dan penyuntikan kedua dilakukan pada minggu ke-12, karena waktu efektif DMPA adalah 12 minggu. Tujuan dilakukan penyuntikan sebanyak dua kali adalah agar efektif dalam menekan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH).

Selanjutnya tikus dicekok ekstrak cabe jawa pada minggu ke-7 sampai minggu ke-18. Alasan pencekokan dimulai pada minggu ke-7 adalah agar DMPA dapat bekerja terlebih dahulu menekan spermatogenesis. Kelompok KP dicekok dengan plasebo, Kelompok PI dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 0,94 mg, kelompok PII dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 1,88 mg, kelompok PIII dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 2,82 mg, kelompok P IV dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 3,76 mg. Pencekokan ekstrak cabe jawa dilakukan setiap pagi hari pada pukul 08.00 Waktu Indonesia Barat (WIB). Pencekokan dilakukan dengan bantuan spuit yang sudah dimodifikasi ujungnya (sonde lambung).

Setelah minggu ke-18, tikus dibius dengan eter dan dibedah untuk pengambilan data. Diambil testis kanan dan kiri, ditimbang, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan preparat testis untuk pengambilan data.

3.5. Pembuatan Preparat Testis

Adapun prosedur pembuatan preparat testis adalah sebagai berikut:⁷⁴

3.5.1. Fiksasi (*Fixation*)

Fiksasi bertujuan untuk mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi sewaktu hidup dan mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan pembuatan irisan tipis. Larutan fiksatif yang digunakan adalah larutan Bouin dengan komposisi sebagai berikut: larutan asam pikrat jenuh, formalin 10%, asam asetat glasial. Jaringan testis direndam dalam fiksatif Bouin selama 24 jam. Dua jam setelah fiksasi, testis dipotong melintang menjadi dua bagian dengan pisau silet.

Universitas Indonesia

3.5.2. Dehidrasi (*Dehydration*)

Dehidrasi bertujuan untuk menghilangkan air dari jaringan. Dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan testis di dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu alkohol 70%, 80%, 95%, dan 100% I dan II masing-masing selama 30 menit.

3.5.3. Pembeningan (*Clearing*)

Pembeningan adalah suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Pembeningan, dilakukan dengan menggunakan benzil benzoat selama 1 hari dan dilanjutkan dengan benzil alkohol (benzol) I dan II masing-masing selama 15 menit.

3.5.4. Pembenaman (*Embedding*)

Pembenaman adalah proses untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing agent*) dari jaringan dan diganti dengan parafin. Pembenaman testis ke dalam parafin dilakukan dengan menggunakan parafin cair suhu 60° selama lebih kurang 3 jam.

3.5.5. Pencetakan Blok Parafin (*Blocking*)

Dilakukan penanaman jaringan testis ke dalam kotak-kotak kertas yang berisi parafin cair dengan posisi tegak dan dibiarkan sampai mengeras. Kemudian di simpan di dalam lemari es.

3.5.6. Pemotongan (*Sectioning*)

Pemotongan adalah proses pemotongan blok parafin yang berisi testis dengan menggunakan mikrotom. Blok parafin yang berisi testis kemudian dipotong menggunakan mikrotom putar dengan ketebalan 5 mikron dengan arah melintang.

3.5.7. Penempelan Pita Parafin (*Mounting*)

Potongan melintang blok parafin yang berisi testis ditempelkan pada kaca objek yang telah diberi albumin Mayer. Kaca objek kemudian diletakkan di atas plat yang panas.

3.5.8. Pewarnaan (*Staining*)

Pewarnaan adalah pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali atau diamati dengan mikroskop. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan Haematoxylin Eosin (HE). Pewarnaan dimulai dengan deparafinasi menggunakan Xylol 2 kali ganti, masing-masing 5 menit. Kemudian dilanjutkan dengan alkohol 100% I dan II (masing-masing 5 menit), alkohol 95% (5 menit), alkohol 80% (5 menit), alkohol 70% (5 menit), akuades (1 menit), larutan Haematoxylin (4-5 menit), air kran mengalir (1-2 menit), alkohol 70% (2 menit), larutan eosin Y (30 detik), alkohol 95% (2 menit), alkohol 100% I dan II (masing-masing 5 menit), xilol I, II, III (2 menit). Kemudian ditetesi dengan Kanada balsam (5 menit), lalu ditutup dengan kaca penutup.

3.6. Parameter Penelitian

Adapun parameter yang diteliti yaitu:

- 3.6.1. Berat testis, ditimbang testis kanan dan testis kiri tikus dengan menggunakan timbangan digital Citizen.
- 3.6.2. Diameter tubulus seminiferus, diukur dengan mikrometer objektif dan mikrometer okuler di bawah mikroskop elektrik dengan pembesaran 10x10.
- 3.6.3. Sel-sel spermatogenik: spermatogonia A, spermatosit I preleptoten, spermatosit I pakiten dan spermatid. Pengamatan sel spermatogenik dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 40x10. Perhitungan sel-sel spermatogenik dilakukan pada tubulus seminiferus yang berada pada tahap VII dan VIII dari siklus epitel seminiferus yang terpotong bulat per 1 lapang pandang. Alasan pemilihan tahap ini karena tahap ini berlangsung lama, relatif banyak ditemukan pada potongan

Universitas Indonesia

melintang testis, dan jenis sel spermatogenik yang ditemukan lebih lengkap dibandingkan dengan tahap lainnya. Untuk memperoleh jumlah sel-sel spermatogenik yang sebenarnya data yang diperoleh kemudian dikoreksi dengan rumus Abercrombie⁷⁵ yaitu:

$$P = A \frac{M}{L + M}$$

Keterangan: P = Rata-rata jumlah inti persayatan (*true count*), A = Jumlah perhitungan kasar inti/persayatan (*crude count*), M = Ketebalan sayatan (mikron), L = Rata-rata diameter inti (mikron)

3.6.4. Sel Leydig, diamati dan dihitung per 1 lapang pandang di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x10.

3.7. Analisis Data

Data kuantitatif yang didapatkan diuji dengan menggunakan program statistik komputer *Statistical Product and Service (SPSS) release 15*. Urutan uji diawali dengan:^{76,77}

3.8.1. Uji normalitas Saphiro dan Wilk dan uji homogenitas varians Bartlett.

3.8.2. Jika data berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan *one way Analysis of Variances (ANOVA)*. Apabila diperoleh nilai $p < 0.05$, maka dilakukan analisis *post hoc* uji Bonferroni (untuk melihat perbedaan rata-rata antara dua kelompok). Untuk data yang berdistribusi normal dan/atau tidak bervarians homogen atau sebaliknya dilakukan transformasi data. Setelah dilakukan transformasi data, ternyata data tetap tidak normal atau homogen, maka dilakukan uji non-parametrikal Kruskal-Wallis. Apabila diperoleh nilai $p < 0.05$ maka digunakan analisis *pot hoc* uji Mann-Whitney.

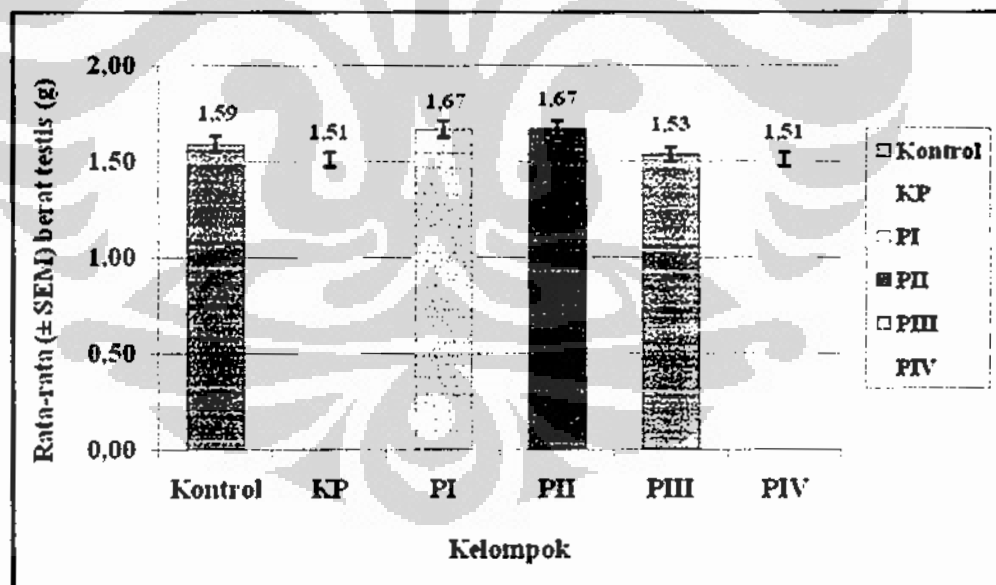
BAB 4

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data hasil penelitian yang dapat ditampilkan sebagai berikut:

4.1. Berat Testis

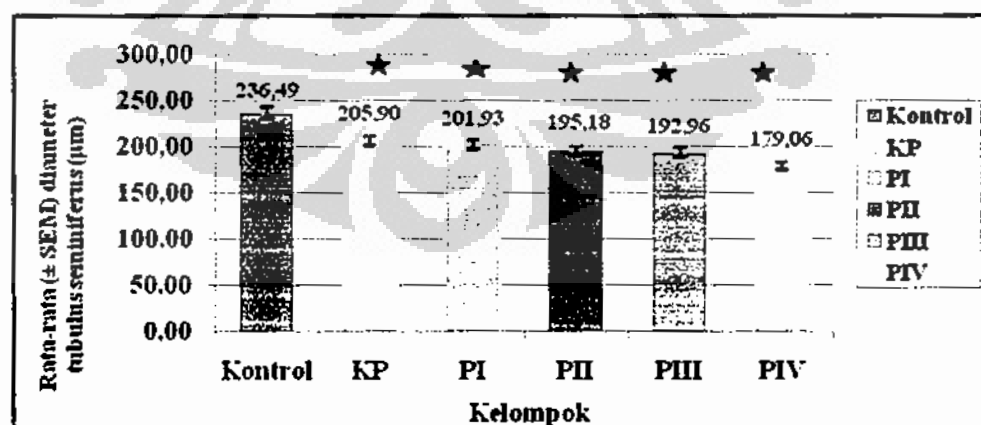
Pada Gambar 4.1 berikut ini memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata berat testis pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi untuk mengusahakan agar distribusi data menjadi normal. Hasil transformasi juga menunjukkan bahwa sebaran data tetap tidak berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji non parametrik Kruskal-Wallis. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,324$. Oleh karena $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan berat testis antar kelompok. Artinya, tidak terjadi penurunan berat testis akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.1. Rata-rata berat testis tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencekokan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

4.2. Diameter Tubulus Seminiferus

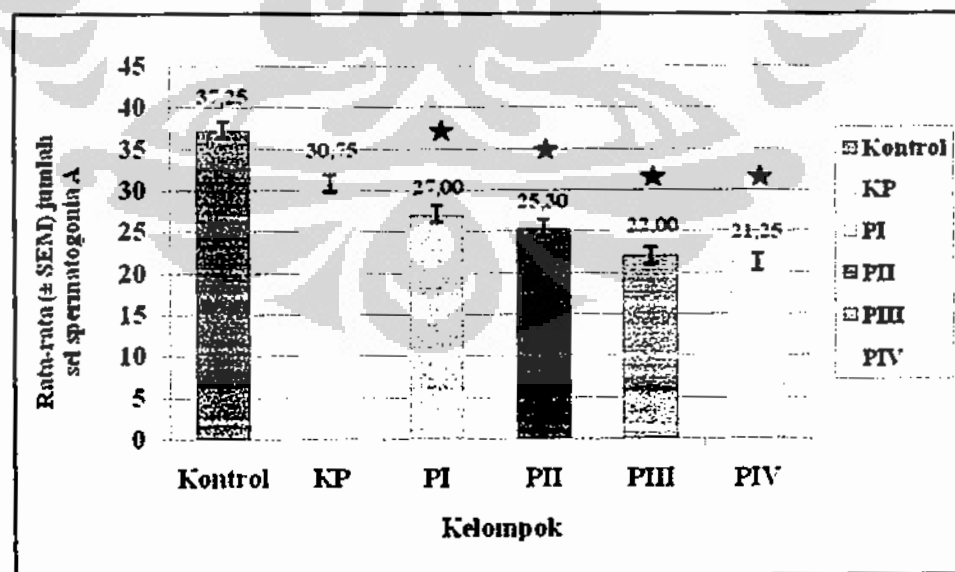
Gambar 4.2 memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata diameter tubulus seminiferus. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data berdistribusi normal dan hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data bervarians homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *one way* ANOVA. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan diameter tubulus seminiferus secara signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan, maka dilakukan uji *post-hoc*. Uji *post-hoc* Bonferroni menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan diameter tubulus seminiferus antara kelompok kontrol dengan kelompok KP, PI, PII, PIII dan PIV. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dan PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dan PIV. Kelompok PII berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok PIII berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok PIV berbeda signifikan dengan kelompok kontrol, KP dan PI. Dosis yang paling signifikan menurunkan diameter tubulus seminiferus adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg). Artinya, terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.2. Rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencekakan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

4.3. Populasi Sel Spermatogonia A

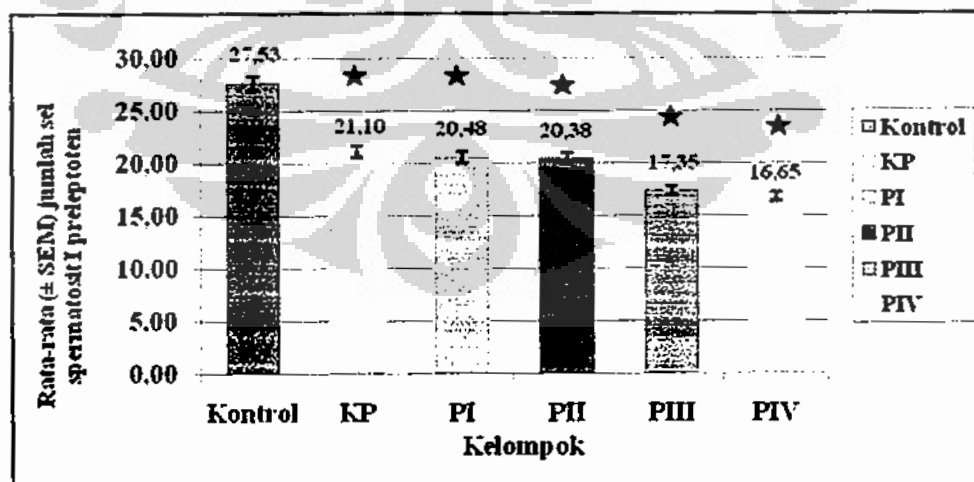
Pada Gambar 4.3 berikut ini memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata populasi sel spermatogonia A pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi untuk mengusahakan agar distribusi data menjadi normal. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data tetap tidak berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji Kruskal-Wallis. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada populasi sel spermatogonia A antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan, maka dilakukan uji *post-hoc* Mann-Whitney. Dari uji Mann-Whitney diketahui bahwa kelompok kontrol berbeda signifikan dengan kelompok PI, PII, PIII dan PIV, sedangkan kelompok KP tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok PII, PIII dan PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Dosis yang paling signifikan menurunkan populasi sel spermatogonia A adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg). Terjadi penurunan populasi sel spermatogonia A akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.3. Rata-rata populasi spermatogonia A tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencekokan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

4.4. Populasi Sel Spermatisit I Preleptoten

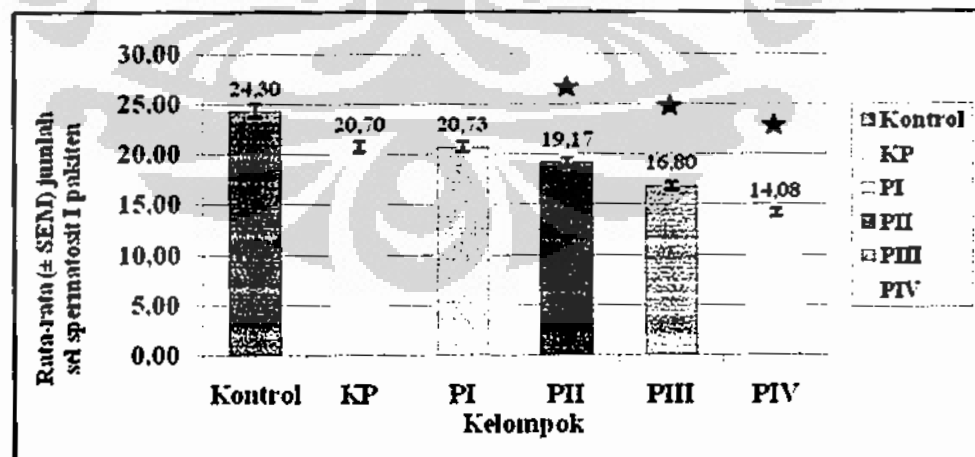
Gambar 4.4 memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata populasi sel spermatisit I preleptoten pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data berdistribusi normal dan hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data bervarians homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *one way* ANOVA. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada populasi spermatisit I preleptoten antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan, dilakukan uji *post hoc* Bonferroni. Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa kelompok kontrol berbeda signifikan dengan kelompok KP, PI, PII, PIII dan PIV. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dan PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dan PIV. Kelompok PIV berbeda signifikan kelompok kontrol, KP dan PI. Dosis yang paling signifikan menurunkan populasi sel spermatisit I preleptoten adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg). Terjadi penurunan populasi sel spermatisit I preleptoten akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.4. Rata-rata populasi spermatisit I preleptoten tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencekokan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

4.5. Populasi Sel Spermatisit I Pakiten

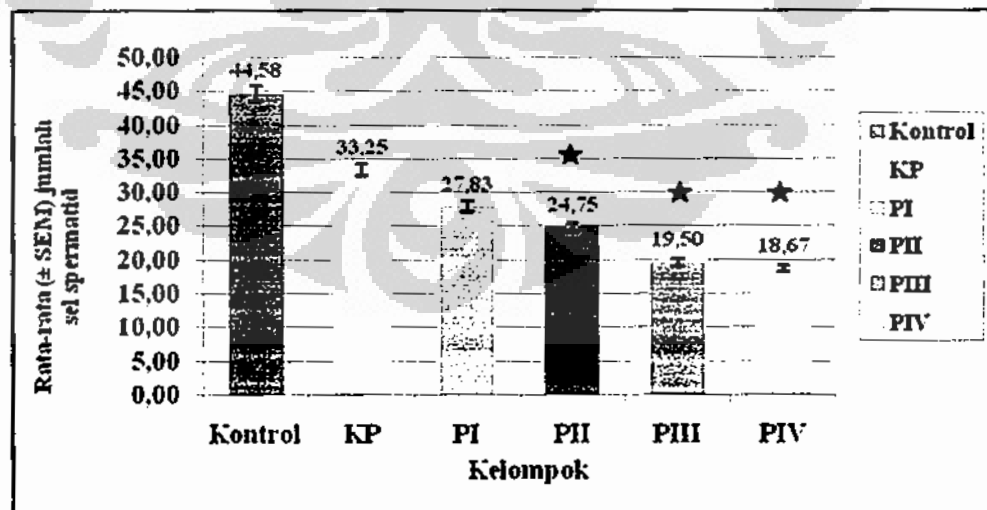
Gambar 4.5 memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata populasi sel spermatisit I pakiten pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data berdistribusi normal ($p > 0,05$), namun varians data tidak homogen ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi. Hasil transformasi menunjukkan bahwa data tetap tidak homogen ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji non parametrik Kruskal-Wallis dan diperoleh nilai $p = 0,000$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada populasi spermatisit I pakiten antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan secara signifikan maka dilakukan uji *post hoc* Mann-Whitney. Dari hasil uji Mann-Whitney diketahui bahwa kelompok kontrol berbeda signifikan dengan kelompok PII, PIII dan PIV, sedangkan antara kelompok KP dan PI tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok PIII dan PIV. Kelompok PII berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Dosis yang paling signifikan menurunkan populasi sel spermatisit I pakiten adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg). Terjadi penurunan populasi sel spermatisit I pakiten akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.5. Rata-rata populasi spermatisit I pakiten tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencekokan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

4.6. Populasi Sel Spermatid

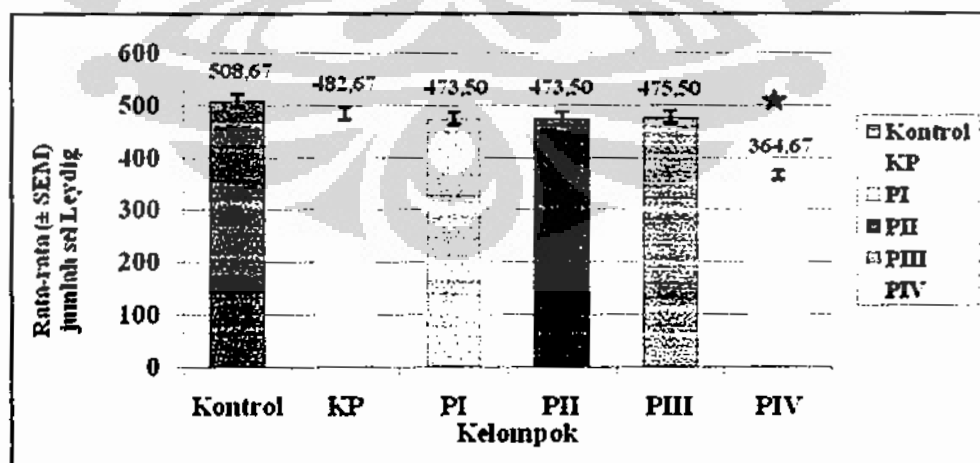
Gambar 4.6 memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata populasi sel spermatid pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), sehingga perlu dilakukan transformasi data. Kemudian data ditransformasi. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data tetap tidak berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji Kruskal-Wallis. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada populasi sel spermatid antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan, maka dilakukan uji *post-hoc* Mann-Whitney. Dari hasil uji Mann-Whitney diketahui bahwa kelompok kontrol berbeda signifikan dengan kelompok PII, PIII dan PIV, sedangkan antara kelompok KP dan PI tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok PII, PIII dan PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok PIII dan PIV. Kelompok PII berbeda signifikan dengan kelompok PIII. Dosis paling signifikan menurunkan populasi sel spermatid adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg). Terjadi penurunan populasi sel spermatid akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.6. Rata-rata populasi spermatid tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencekakan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

4.7. Sel Leydig

Gambar 4.7 memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata populasi sel Leydig pada tiap kelompok perlakuan. Uji normalitas menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data berdistribusi normal. Uji homogenitas menunjukkan bahwa data bervariasi homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *one way* ANOVA. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada populasi sel Leydig antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan, dilakukan uji *post hoc* Bonferroni. Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa kelompok kontrol berbeda secara signifikan dengan kelompok PIV. Sementara kelompok KP, PI, PII, dan PIII tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PII berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PIII berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PIV berbeda signifikan dengan semua kelompok. Dosis paling signifikan menurunkan populasi sel spermatosit I preleptoten adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg). Terjadi penurunan populasi sel Leydig akibat pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa.



Gambar 4.7. Rata-rata populasi sel Leydig tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencokkan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cab jawa 3,76 mg).

BAB 5

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil dan analisis data (Gambar 4.1) dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak mempengaruhi berat testis tikus percobaan. Tidak terjadinya peningkatan atau penurunan berat testis tikus percobaan menunjukkan bahwa kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa yang diberikan belum dapat menghambat perkembangan sel-sel spermatogenik yang ada di dalam testis, sehingga berat testis tikus percobaan tidak mengalami peningkatan atau penurunan secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol.

Menurut Amatayakul *dalam* Yurnadi *et al.*,⁷⁸ menurunnya berat testis erat hubungannya dengan menurunnya diameter tubulus seminiferus dan produksi sel-sel spermatogenik. Menurut Marson *et al.*, *dalam* Kusmana²² fungsi gonad berkorelasi positif dengan volume gonad. Hal ini telah diteliti oleh Bercovitch & Rodriguez *dalam* Kusmana²² yang melaporkan bahwa berat testis monyet rhesus jantan berkorelasi positif dengan aktivitas seksualnya. Artinya peningkatan fungsi gonad akan menyebabkan peningkatan berat testis. Penelitian Kusmana²² menunjukkan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA menyebabkan penurunan volume testis beruk jantan (*Macaca nemestrina* L). Jika dibandingkan dengan penelitian Sutyarso²³ terhadap monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis* L), ternyata pola penurunan volume testis pada beruk dan monyet ekor panjang selama penyuntikan TE dan DMPA adalah sama.

Seperti telah diketahui bahwa komponen yang menyusun testis antara lain adalah tubulus seminiferus, jaringan ikat, sel Leydig, pembuluh darah dan limfe.^{20,21} Komponen yang paling dominan adalah tubulus seminiferus. Fungsi dari tubulus tersebut adalah menghasilkan spermatozoa melalui proses spermatogenesis. Hal ini mengakibatkan epitel tubulus menjadi tebal yang diikuti dengan melebarnya lumen tubulus. Aktivitas spermatogenesis ini pada akhirnya akan menyebabkan pelebaran diameter tubulus seminiferus dan peningkatan jumlah sel Leydig yang pada akhirnya meningkatkan berat testis.²²

Pandjaitan²⁴ melaporkan bahwa pemberian TU dan DMPA menyebabkan penurunan terhadap berat testis secara signifikan dibanding kontrol. Penurunan berat testis kemungkinan disebabkan karena banyaknya sel germinal yang mengalami apoptosis sebagai akibat dari pemberian TU dan DMPA. Apoptosis sel germinal disebabkan oleh adanya pengurangan testosteron intratestikuler yang mengakibatkan terjadinya mekanisme umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis. Keberadaan sel germinal termasuk spermatozoa dalam tubulus seminiferus mempunyai kontribusi penting yang dapat mempengaruhi berat dari testis. Yan *et al.*,⁷⁹ membuktikan bahwa berkurangnya jumlah spermatozoa berhubungan erat dengan berat testis. Pada penelitian Scot *et al.*,⁸⁰ memperlihatkan bahwa kandungan testosteron intratestikuler berbanding lurus dengan berat testis tikus.

Jika dibandingkan dengan hasil-hasil penelitian di atas, pemberian kombinasi DMPA dan cabe jawa tidak mampu menyebabkan penurunan berat testis tikus percobaan, artinya DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak mampu menghambat proses spermatogenesis yang terjadi dalam testis. Bila mengacu pada **hipotesis pertama**, maka hasil penelitian ini ditolak karena tidak terjadi penurunan berat testis pada tikus percobaan.

Berndston dan Thompson⁸¹ melaporkan bahwa sebenarnya ada banyak faktor yang mempengaruhi berat testis. Peningkatan usia berbanding lurus dengan berat testis tikus galur *Sprague Dawley*. Peningkatan berat badan juga berkorelasi positif dengan peningkatan berat testis. Artinya semakin tua usia tikus, berat testisnya akan meningkat dan semakin besar bobot badan maka berat testis akan semakin meningkat. Berat testis tikus percobaan pada penelitian ini tidak berbeda signifikan dengan kontrol, hal ini mungkin disebabkan karena kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa belum mampu menghambat spermatogenesis dengan optimal. Usia dan berat badan tikus percobaan pada awal penelitian berada pada kisaran yang sama. Asmida⁸² melaporkan bahwa berat badan tikus percobaan yang diberi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Oleh sebab itu dapat dikatakan bahwa berat testis tikus percobaan tidak berbeda signifikan dengan kontrol, salah satunya disebabkan

karena berat badan tikus percobaan yang diberi DMPA dan ekstrak cabe jawa pada berbagai dosis percobaan juga tidak berbeda signifikan dengan kontrol.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter tubulus seminiferus pada semua kelompok tikus percobaan yang mendapat pemberian kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa (Gambar 4.2). Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok KP, PI, PII, PIII dan PIV mengalami penurunan diameter tubulus seminiferus secara signifikan. Diameter tubulus seminiferus yang paling kecil adalah pada kelompok PIV yang mendapat pemberian DMPA dan cabe jawa dengan dosis 3,76 mg.

Soeharsono⁸³ melaporkan bahwa suntikan MPA dengan dosis 8 mg/ekor dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa dan penyusutan garis tengah tubulus seminiferus tikus putih. Penelitian Kusmana²² menunjukkan bahwa pemberian TE dan DMPA menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus dan nilai skor spermatogenesis. Hal tersebut terjadi karena adanya kerusakan struktur histologis testis secara keseluruhan. Kerusakan tersebut dapat digolongkan pada sel germinal hipoplasia ringan sampai sel germinal hipoplasia berat. Menurut Nistal dan Paniagua dalam Kusmana²², hialinisasi umumnya disebabkan adanya gangguan mekanisme hormon pada poros hipotalamus-hipofisis-testis.

Pada penelitian Pandjaitan²⁴ pemberian TU dan DMPA dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus secara signifikan jika dibandingkan kelompok kontrol. Pemberian TU dan DMPA secara terus-menerus menyebabkan penurunan kandungan FSH melalui mekanisme umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis. Secara normal, keberadaan FSH sangat penting untuk penambahan diameter tubulus seminiferus dan peningkatan proses spermatogenesis. Penelitian Ramaswamy *et al.*,⁸⁴ membuktikan bahwa penambahan FSH pada kera berhubungan dengan pengendalian spermatogenesis dan dapat meningkatkan volume testis kira-kira 70%, peningkatan diameter tubulus seminiferus, dan peningkatan jumlah sel germinal. Penelitian Lue *et al.*,⁸⁵ membuktikan bahwa penurunan FSH menyebabkan berkurangnya sel Sertoli secara nyata dan mempunyai korelasi positif dengan berat testis, diameter tubulus seminiferus, dan jumlah sel spermatogenik. Frick, *et al.*, dalam Pandjaitan²⁴ melaporkan bahwa berkurangnya hormon gonadotropin di dalam serum dapat

menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus, hialinisasi atau fibrosis dari membran tubulus, hipoplasia sel-sel germinal, dan sel-sel Leydig menghilang.

Penurunan diameter tubulus seminiferus pada berbagai kelompok tikus percobaan yang diberikan perlakuan DMPA dan ekstrak cabe jawa mungkin disebabkan oleh mekanisme yang sama. DMPA adalah derivat progestin yang sudah dikenal cukup lama untuk kontrasepsi hormonal.¹⁰ Efek samping dari DMPA salah satunya adalah menyebabkan hambatan spermatogenesis.^{10,13} DMPA yang dikombinasikan dengan testosteron dapat menyebabkan hambatan pada spermatogenesis sehingga menurunkan produksi sperma.^{16,18,54,55} Di dalam plasma DMPA berikatan dengan albumin. Konsentrasi DMPA dalam serum secara umum dipertahankan kira-kira selama 3 bulan, namun secara berangsur-angsur menurun.⁵⁵ DMPA memasuki sel dan terikat pada reseptor yang tersebar antara inti dan sitoplasma. Kompleks ligan-reseptor membentuk suatu dimer sebelum terikat pada DNA.^{60,61}

Mekanisme DMPA dapat menghambat spermatogenesis bersifat multifaktorial. DMPA dapat menurunkan konsentrasi SHBG, menurunkan konsentrasi gonadotropin dalam serum dan konsentrasi testosteron. DMPA juga menghambat sel Leydig dalam proses steroidogenesis.^{10,13} Progestin menurunkan konsentrasi androgen di dalam testis dengan cara mengurangi biosintesis androgen, mengubah metabolisme androgen dan/atau bekerja langsung pada reseptor androgen/*androgen receptor* (AR) dengan cara berkompetisi dalam berikatan dengan reseptor androgen tersebut.¹³

Penurunan konsentrasi testosteron dapat menyebabkan gangguan pada libido dan potensi seksual. Seperti diketahui bahwa testosteron berperan dalam mempertahankan libido dan potensi seksual.^{47,48,62} Penurunan testosteron intratestikuler yang disebabkan oleh pengaruh DMPA dapat digantikan oleh testosteron eksogen, dalam hal ini adalah ekstrak cabe jawa. Senyawa β -sitosterol yang terkandung di dalam cabe jawa adalah sterol/steroid yang berasal dari tumbuhan. Senyawa ini berstruktur mirip kolesterol dan dapat diubah menjadi pregnenolon. Kemiripan struktur tersebut memungkinkan dikonversinya β -sitosterol menjadi testosteron. Dengan demikian, kadar testosteron tetap memenuhi kadar minimal untuk normalnya fungsi reproduksi. Senyawa saponin

yang terkandung dalam buah cabe jawa juga merupakan senyawa dengan struktur dasar sterol pada bagian aglikon yang berikatan dengan bagian glikosida (gugus gula).^{27,32} β -sitosterol dalam plasma berikatan dengan lipoprotein seperti halnya kolesterol. Pada testis β -sitosterol akan terakumulasi dan akan dikonversi menjadi hormon steroid.³³

Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa kemungkinan menyebabkan hambatan proses spermatogenesis melalui mekanisme umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis. Di dalam tubulus seminiferus, testosteron berfungsi mengontrol spermatogenesis. Hormon lain yang berperan dalam spermatogenesis adalah FSH dan LH. FSH bekerja pada sel germinal untuk memulai proliferasi dan diferensiasi atau melalui sel Sertoli. Sel Sertoli berfungsi memberikan nutrisi bagi sel germinal, sedangkan LH bekerja pada sel Leydig.^{41,47,48,49} Kombinasi DMPA dan cabe jawa menyebabkan hambatan sekresi gonadotropin sehingga kadar testosteron intra testikuler menjadi rendah. Kemungkinan hal ini menyebabkan terjadinya mekanisme umpan balik negatif terhadap hipofisis sehingga produksi FSH dan LH menurun kemudian terjadi penurunan jumlah sel Sertoli dan proses steroidogenesis oleh sel Leydig, kemudian akhirnya menghambat proses spermatogenesis. Akibatnya terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus.

Bila mengacu pada **hipotesis kedua** maka hasil penelitian ini **diterima**, karena terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus pada tikus percobaan akibat pemberian kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi sel-sel spermatogenik mengalami penurunan secara signifikan jika dibanding kelompok kontrol (Gambar 4.3, 4.4, 4.5). Secara umum terlihat bahwa populasi sel-sel spermatogenik tikus percobaan yang mendapat perlakuan DMPA dan ekstrak cabe jawa menurun dan puncaknya terdapat pada kelompok PIV yang mendapat perlakuan dosis cabe jawa 3,76 mg.

McLahlan *et al.*,²⁵ melaporkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel-sel spermatogenik yang mendapat perlakuan testosteron dan DMPA. Setelah 12 minggu perlakuan, terjadi reduksi pada semua tipe sel spermatogenik mulai dari spermatogonia A sampai spermatid yang menunjukkan jumlah yang signifikan

dibanding kontrol. Kusmana²² telah membuktikan bahwa pemberian TE dan DMPA pada beruk jantan menyebabkan hambatan spermatogenesis. Pengamatan skor spermatogenesis dengan metode Johnson menunjukkan bahwa terjadi hambatan spermatogenesis beruk jantan yang diberi perlakuan TE dan DMPA jika dibanding kontrol. Selanjutnya penelitian Lestari²⁶ menunjukkan terjadi peningkatan apoptosis pada berbagai tahapan sel spermatogenik (spermatogonia, spermatosit, dan spermatid) selama penyuntikan TU dan DMPA.

Penurunan populasi sel-sel spermatogenik pada hewan percobaan yang diberikan kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa mungkin dikarenakan terjadi hambatan pada proses spermatogenesis. DMPA dan ekstrak cabe jawa bekerja sama dalam menurunkan konsentrasi testosteron intratestikuler melalui mekanisme umpan balik negatif pada poros hipotalamus-hipofisis-testis. Seperti diketahui bahwa testosteron diperlukan dalam mengontrol spermatogenesis. Penurunan jumlah testosteron mengakibatkan hambatan pada proses spermatogenesis, sehingga mengganggu perkembangan sel-sel spermatogenik.^{49,50} Penurunan FSH dapat mengganggu sel Sertoli untuk menghasilkan ABP yang sangat penting untuk mengikat testosteron. Seperti yang dikatakan Lui *et al.*,⁸⁶ bahwa sel Sertoli mengandung reseptor FSH dan aktivitasnya menghasilkan dukungan dan makanan bagi sel spermatogenik selama spermatogenesis.

Selama spermatogenesis, aktivitas sel-sel spermatogenik sangat tinggi, yaitu terjadi perubahan baik morfologi dan biokimia. Untuk mendukung aktivitas tersebut, sel-sel spermatogenik sangat tergantung pada sumber energi yang berasal dari sel Sertoli. Penelitian Lue *et al.*,⁸⁵ membuktikan bahwa penurunan FSH menyebabkan berkurangnya sel Sertoli secara nyata. Glukosa jelas merupakan substrat yang penting untuk kelangsungan hidup sel-sel spermatogenik. Penurunan populasi sel Sertoli menyebabkan terhambatnya transport glukosa ke dalam testis sehingga menyebabkan penurunan populasi sel-sel spermatogenik dan terjadi vakuolisasi tubulus seminiferus. Hambatan transport glukosa ke dalam sel-sel spermatogenik dapat menyebabkan hambatan biosintesis protein oleh sel-sel spermatosit dan spermatid. Spermatosit pakiten dan spermatid menggunakan energi bukan langsung dalam bentuk glukosa, melainkan dalam bentuk laktat dan piruvat, yang disuplai oleh sel Sertoli. Dengan kata lain, pengendalian untuk

kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel-sel spermatogenik oleh hormon juga dikontrol melalui sel Sertoli. Produksi laktat dan piruvat oleh sel Sertoli, dipengaruhi oleh FSH, yaitu melalui peningkatan kadar dan aktivitas cAMP dalam sel.²³

Kandungan LH yang rendah juga dapat menekan produksi testosteron oleh sel Leydig. Kandungan testosteron yang rendah akan menekan proliferasi sel spermatogenik. Sel Leydig mengekspresikan reseptor LH yang kemudian menghasilkan testosteron sebagai respon dari LH yang dihasilkan hipofisis.⁸⁷ Meistrich dan Shetty⁸⁸ melaporkan bahwa supresi gonadotropin dan testosteron menyebabkan gangguan pada diferensiasi dan perkembangan sel-sel spermatogenik. Penurunan jumlah FSH dapat menghambat diferensiasi spermatogonia, padahal kondisi spermatogenesis yang normal berhubungan langsung dengan diferensiasi dan kelangsungan hidup spermatosit dan spermatid.

Penurunan populasi sel-sel spermatogenik pada pemberian DMPA dan ekstrak cabe jawa kemungkinan juga disebabkan karena adanya mekanisme apoptosis. Apoptosis adalah kematian sel secara terprogram yang merupakan suatu respon sel yang normal terhadap perkembangan dan homeostasis. Proses apoptosis melibatkan beberapa perubahan morfologi dan biokimia seperti penurunan volume sel, penggelembungan membran sel, kondensasi dan marginasi kromatin dan pembentukan badan apoptosis. Selain itu juga terjadi fragmentasi DNA.^{89,90,91,92}

Apoptosis sel spermatogenik secara spontan dapat meningkat karena adanya berbagai gangguan, termasuk pelukaan terhadap testis, penurunan kadar hormon, radiasi, zat toksik dan terpapar oleh panas.^{93,94} Lestari²⁶ melaporkan bahwa apoptosis sel spermatogenik dapat terjadi melalui jalur mekanisme parakrin oleh sel Sertoli yang mengatur jumlah sel spermatogenik dalam testis. Meskipun mekanisme molekuler pengaruh hormonal terhadap apoptosis sel spermatogenik masih belum jelas, tetapi sudah ada indikasi bahwa ada hubungan penurunan hormon (testosteron) terhadap peningkatan aktivitas Fas-FasLigan yang memicu terjadinya apoptosis sel spermatogenik⁹⁵

Ilyas¹⁶ menyatakan bahwa testosteron sangat penting untuk proses spermatogenesis atau proliferasi sel spermatogenik, sedangkan FSH berperan

dalam pembentukan *tight junction* di *blood barrier testis* dan untuk proliferasi normal sel Sertoli. FSH menstimulasi transkripsi gen pada sel Sertoli dari faktor-faktor parakrin, seperti *growth factor* atau sitokin, yang kembali menginduksi kemampuan hidup sel spermatogenik dan proliferasi spermatogonia serta spermatosit preleptoten. Rendahnya testosteron dan FSH secara bersama-sama mempengaruhi adhesi sel spermatogenik dengan sel Sertoli sehingga akhirnya menyebabkan apoptosis sel spermatogenik. Testosteron juga berdampak pada mitosis spermatogonia normal dan keberhasilan penyelesaian meiosisnya.⁹⁰ FSH berperan pada stimulasi mitosis pada spermatogonia tipe B dan berperan pada spermatosit preleptoten untuk mencegah apoptosis spermatosit pakiten dan spermatid di sekitarnya. Penurunan testosteron dan FSH berdampak pada peningkatan apoptosis sel spermatogenik.⁹⁶

Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa mungkin dapat mengakibatkan penurunan populasi sel spermatogenik meskipun masih banyak sel spermatogenik yang ditemukan dalam tubulus seminiferus. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa belum dapat menghambat spermatogenesis secara efektif. Hal ini dapat dilihat dengan masih tingginya jumlah spermatid dalam tubulus. Spermatid akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa melalui proses spermiogenesis.^{20,21} Masih banyaknya spermatid di dalam tubulus juga akan mempengaruhi konsentrasi spermatozoa. Penelitian Asmida⁸⁴ menunjukkan bahwa terjadi penurunan konsentrasi spermatozoa pada tikus yang diberi kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa, namun belum mencapai kondisi azoospermia/oligozoospermia.

Bila mengacu pada hipotesis ketiga maka hasil penelitian ini diterima, karena terjadi penurunan populasi sel-sel spermatogenik pada tikus percobaan akibat pemberian kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan populasi sel Leydig dibanding dengan kontrol (Gambar 4.7). Seperti diketahui sel Leydig berperan dalam proses steroidogenesis menghasilkan testosteron yang diperlukan untuk spermatogenesis.^{20,21,50} Biosintesis testosteron oleh sel Leydig disebabkan oleh aksi *cascade protein carier* dan enzim steroidogenesis. Mutasi gen pada sel Leydig dapat mengakibatkan defisiensi steroidogenesis. Penurunan populasi sel

Leydig dapat menyebabkan hambatan spermatogenesis.⁹⁷ Penelitian Ericson dan Dutt *dalam* Sutyarso²³ pada hewan domba yang disuntik dengan derivat progesteron asetat, dilaporkan tidak hanya menyebabkan terhentinya spermatogenesis melainkan juga terjadinya atrofi sel-sel Leydig. Frick, *et al.*, *dalam* Pandjaitan²⁴ melaporkan bahwa berkurangnya hormon gonadotropin di dalam serum dapat menyebabkan penurunan populasi sel-sel Leydig.

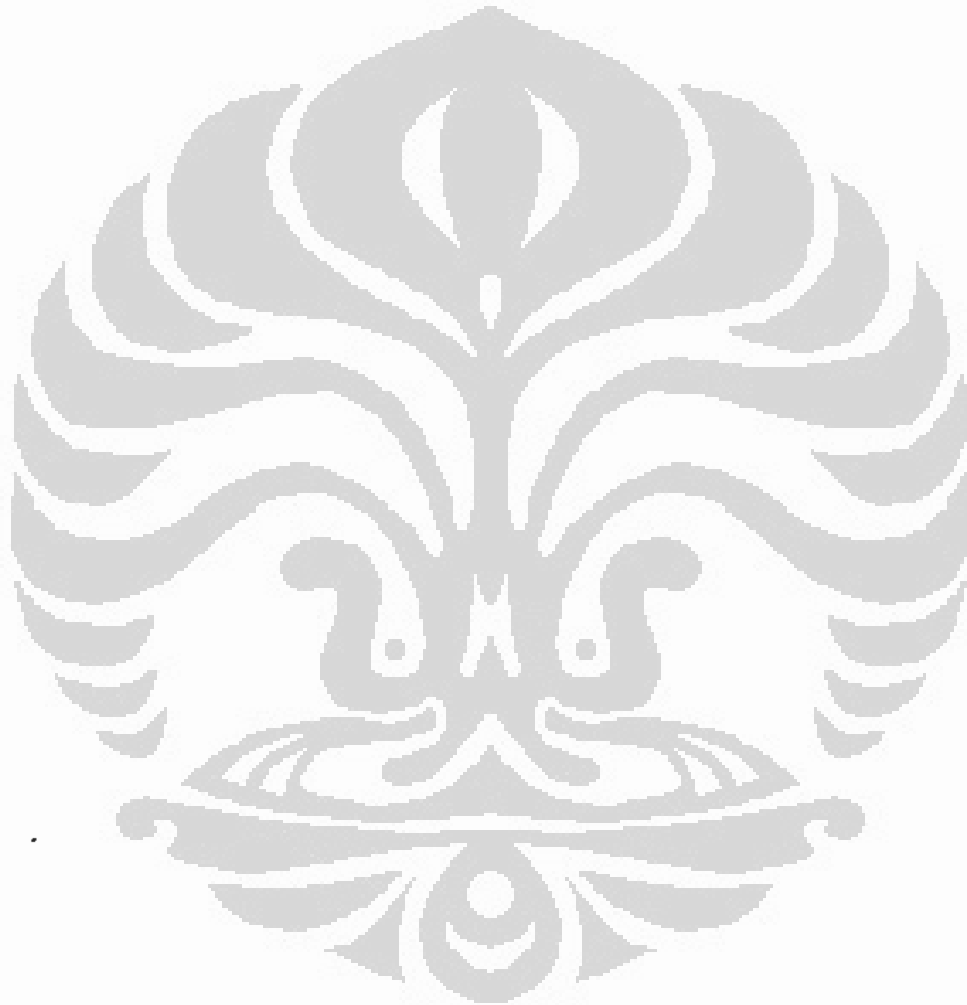
Penurunan populasi sel Leydig kemungkinan disebabkan karena mekanisme apoptosis yang terjadi di dalam sel. Morris *et al.*,⁹⁸ melaporkan bahwa apoptosis sel Leydig disebabkan karena adanya gangguan dari lingkungan luar sel. Penurunan konsentrasi gonadotropin (LH) nampaknya berkorelasi positif dengan penurunan populasi sel Leydig. Sampai saat ini belum ada data yang menjelaskan hubungan antara pengaruh pemberian hormon dengan penurunan populasi sel Leydig.

Dari hasil perhitungan data populasi sel sel Leydig, terdapat perbedaan secara signifikan antara kelompok PIV dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan dosis 3,76 mg ekstrak cabe jawa adalah dosis yang paling baik dalam penghambatan produksi sel Leydig dalam tubulus seminiferus. Seperti dilaporkan pada penelitian sebelumnya^{27,29} bahwa cabe jawa mempunyai efek androgenik. Kandungan β -sitosterol yang ada pada cabe jawa akan dikonversi menjadi testosteron untuk menggantikan testosteron yang hilang akibat pemberian DMPA.²⁸ Namun, kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak dapat menghambat perkembangan sel Leydig secara optimal, karena tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok KP, PI, PII dan PIII dengan kelompok kontrol.

Bila mengacu pada **hipotesis keempat** maka hasil penelitian ini **diterima**, karena terjadi penurunan populasi sel Leydig pada tikus percobaan akibat pemberian kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa.

Jika dihubungkan hasil penelitian ini secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menghambat proses spermatogenesis secara efektif, namun masih belum optimal dalam penghambatan spermatogenesis. Populasi sel-sel spermatogenik memang mengalami penurunan, namun masih dapat ditemukan perkembangan sel-sel spermatogenik pada

berbagai tahapan. Diameter tubulus seminiferus juga mengalami penurunan, namun populasi sel Leydig tidak mengalami penurunan secara tajam. Hal ini menyebabkan berat testis tidak berbeda secara signifikan antara kelompok tikus yang diberi kombinasi DMPA dan cabe jawa dengan kelompok kontrol.



BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian “pengaruh kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis, diameter tubulus seminiferus, populasi sel-sel spermatogenik dan populasi sel Leydig tikus”, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- 6.1.1. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak menurunkan berat testis secara signifikan
- 6.1.2. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus secara signifikan
- 6.1.3. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menurunkan populasi sel-sel spermatogenik (sel spermatogonia A, sel spermatosit I preleptoten, sel spermatosit I pakiten, dan sel spermatid) secara signifikan
- 6.1.4. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menurunkan populasi sel Leydig secara signifikan

6.2. Saran

- 6.2.1. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dengan dosis yang lebih tinggi dan waktu yang lebih lama supaya dapat menekan spermatogenesis dengan optimal.
- 6.2.2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur konsentrasi dan viabilitas spermatozoa serta kadar hormon testosteron, FSH dan LH sebelum, selama dan sesudah pemberian kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Koordinator Bidang Kesejahteraan Rakyat. Penduduk Indonesia 273 juta pada 2005. <http://menkokesra.go.id/content/view/1975/39/>. Diakses tanggal 12 Juni 2008.
2. Hair WM, Wu FC. Male contraception: prospect for the new millenium. *Asian Journal of Andrology* 2000;2: 3-12.
3. Kementerian Koordinator Bidang Kesejahteraan Rakyat. BKKBN dorong penemuan alat kontrasepsi baru. <http://menkokesra.go.id/content/view/1975/39/>. Diakses tanggal 26 September 2007.
4. Vidyawati V, Moeloek N. Keampuhan kontrasepsi testosteron yang menyebabkan azoospermia dan oligozoospermia pada pria subur. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Jakarta 2000;50:385-388.
5. Sutyarso, Moeloek N. Prospek kontrasepsi hormonal pada pria dengan menggunakan testosteron. *Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia* 1995;4:241-245.
6. Moeloek N, Sutyarso. Kombinasi progestogen dengan androgen untuk kontrasepsi hormonal pada pria. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Jakarta 1995;11:737-740.
7. Mc Laclahn, Robert I . Male hormonal contraception: a safe, acceptable and reversible choice. *The Medical Journal of Australia* 2000;172:254-255.
8. Handelsman DJ. A hormonal male contraceptive: from wish to reality. *The Medical Journal of Australia* 2002;176:204-205.
9. Perheentupa A, Huhtaniemi I. Male contraception-quo vadis? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:131-137.
10. Meriggiola CM, Bremner WJ. Progestin-androgen combination regimens for male contraception. Minireview. *Journal of Andrology* 1997;18(3):240-243.
11. Turner L, Conway AJ, Jimenez M, Liu PY, Forbes E, *et al*. Contraceptive efficacy of a Depot Progestin and Androgen combination in men. *The Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism* 2003;88(10):4659-4667.
12. Turner L, Tilbrook AJ, Clarke IJ, Scott CJ. Progesterone and testosterone in combination act in the hypothalamus of castrated rams to regulate the secretion of LH. *Journal of Endocrinology* 2001;169:291-298.

13. Handelsman DJ, Conway AJ, Howe CJ, Turner Leo, Mackey, MA. Establishing the minimum effective dose and additive effects of depot progestin in suppression of human spermatogenesis by a testosterone depot. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996;81:4113-4121.
14. Boroditsky R, Guilbert E. Injectable Medroxyprogesterone Acetate for contraception. *Journal SOGC* 2000;94:305-307.
15. Black A. Canadian contraception consensus-Update on Depot Medroxyprogesterone Acetate (DMPA). *Journal SOGC* 2006;174:305-309.
16. Ilyas S. Azoospermia dan pemulihannya melalui regulasi apoptosis sel spermatogenik tikus (*Rattus sp*) pada penyuntikan kombinasi testosteron undekanoat (TU) dan depot medroxyprogesteron asetat (DMPA). Disertasi Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2007;14-130. (Diterbitkan untuk kalangan sendiri).
17. Asmarinah, Moeloek N. Testosteron sebagai alternatif pengembangan metode kontrasepsi pria. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Jakarta 1997;47(3):119-124.
18. Moeloek N, Pujiyanto DA, Agustin R, Arsyad KM, Waluyo P, *et al.*, Achieving azoospermia by injections of testosterone undecanoate alone or combined with depot medroxyprogesterone acetate in Indonesian men (Jakarta center study). *Proceedings of the VIIth International Congress of Andrology*. Montreal, Canada. Medimond Publishing Company 2001;545-550.
19. Zhang GY, Gu YQ, Wang XH, Cui YG, Bremner WJ. A clinical trial of injectable testosterone undecanoate as a potential male contraception in normal Chinese man. *The journal of clinical endocrinology&metabolism* 1999;3642-3647.
20. Junquiera CL. *Histologi Dasar*. (Jan Tambayong, Penerjemah). EGC. Jakarta 1999:418-419.
21. Fawcett DW. *Histologi*. (Jan Tambayong, Penerjemah). EGC. Jakarta 2002:687.
22. Kusmana D. Pengaruh penyuntikan kombinasi hormon testosteron enantat (TE) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) terhadap spermatogenesis beruk jantan yang diberi pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda. Disertasi Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2001;12-149. (Diterbitkan untuk kalangan sendiri).
23. Sutyarso. Pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak, dan karbohidrat berbeda terhadap timbulnya azoospermia pada monyet jantan

(*Macaca fascicularis*) yang disuntik kombinasi testosteron enantat (TE) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA). Disertasi Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 1997; 12-192. (Diterbitkan untuk kalangan sendiri).

24. Pandjaitan LR. Analisis apoptosis sel germinal, diameter tubulus seminiferus, dan berat testis serta korelasinya pada tikus responsif dan non responsif azoospermia yang disuntik testosteron undekanoat (TU) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) jangka panjang. Tesis Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2008;6-41. (Diterbitkan untuk kalangan sendiri).
25. McLachlan, O'Donnell L, Stanton PG, Balourdos G, Frydenberg, *et al.*. Effects of testosterone plus medroxyprogesterone acetate on semen quality, reproductive hormones, and germ cell populations in normal young men. *The journal of endocrinology&metabolism* 2002;87(2):546-556.
26. Lestari SW. Analisis apoptosis sel spermatogenik testis tikus (*Rattus sp*) selama dan setelah penyuntikan kombinasi testosteron undekanoat (TU) dan depot medroksiprogesteron (DMPA). Tesis Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2008;8-64. (Diterbitkan untuk kalangan sendiri).
27. Nuraini A. Mengenal etnobotani beberapa tanaman yang berkhasiat sebagai apodisiaka. *InfoPOM*, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia 2003;IV(10):1-4.
28. Sa'roni, Pudjiastuti A. Penelitian efek androgenik dan anabolik buah cabe jawa. *Cermin Dunia Kedokteran* 1989;59:22-24.
29. Isnawati A, Endreswari S, Pudjiastuti, Murhandini. Efek mutagen ekstrak etanol buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl). *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 2002;1(2):63-67.
30. Wahjoedi B, Pudjiastuti, Adjirni, Nuratmi B, Astuti Y. Efek androgenik ekstrak etanol cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) pada anak ayam. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 2004;3(2):201-204.
31. Moeloek N, Yurnadi, Lestari SW, Wahjoedi B, Hanani E. Uji klinik ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) sebagai fitofarmaka androgenik pada pria hipoonad. Laporan penelitian, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI. Jakarta 2006;1-14.
32. Winarni D. Efek ekstrak akar ginseng jawa dan korea terhadap libido mencit jantan pada prakondisi testosteron rendah. *Berkala Penelitian Hayati* 2007;12:153-159.

33. Fernández C, Suárez Y, Ferruelo AJ, Gómez-Coronado D, Lasunción MA. Inhibition of cholesterol biosynthesis by b22-unsaturated phytosterol via competitive inhibition of sterol $\Delta 24$ -reductase in mammalian cells. *Biochemistry Journal* 2002;366:1009-1119.
34. Barbiéri RL. Yen and Jaffe's Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology, and clinical management. Elsevier Saunders. Philadelphia 2004:367.
35. Jarvis S, Elliott DJ, Morgan D, Winston R, Readhead C. Molecular markers for the assessment of postnatal male germ cell development in the mouse. *European Society of Human Reproduction and Embryology* 2005;20(1):108-116.
36. Chumal, KS, Inoue K, Ogonuki N, Miki H, *et al.*. Spermatogenesis from epiblast and primordial germ cells following transplantation into postnatal mouse testis. *Research article of Development* 2005;132:117-122.
37. Park SY, Jameson LJ. Minireview: Transcriptional Regulation of Gonadal Development and Differentiation. *Endocrinology* 2005;146(3):1035-1042.
38. Kretser DM. General structure of the male reproductive system. Chapter 1: Endocrinology of the male reproductive system. 18 Januari 2007. <http://Your endocrine Source. Endotext.com>. Diakses tanggal 22 Juni 2008.
39. Anatomy urogenital system of rat. http://www.k.state.edu/organisme/rat_dissection.htm. Diakses pada tanggal 17 Oktober 2008.
40. Testes. Male reproductive system. <http://www.tarleton.edu/anatomy/testes.jpg>. Diakses pada tanggal 22 Juni 2008.
41. Sheerwood L. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. (Brahmn U. Pendit, Penerjemah). EGC. Jakarta 2001:690-708.
42. Modul gametogenesis (Spermatogenesis of male rat). 2007. <http://www.it.slawu.edu/devbiol/atlas.html>. Diakses tanggal 22 Juni 2008.
43. O'Donnell L, Roberston KM, Jones ME, Simpson ER. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrine review*. Departemen of Biochemistry, Monash University 2001;22(3):289-318.
44. Spermatogenesis. 2008. <http://porpax.bio.miami.edu/~cmallery/150/devel/spermatogenesis.jpg>. Diakses tanggal 22 Juni 2008.
45. Hess RA. Spermatogenesis, overview. *Encyclopedia of reproduction*. Volume IV. University of Illinois at Urbana 1999.

46. Franca LR, Takehiko O, Mary R, Ralph L, Brinster, *et al.*. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the Rat. *Biology of Reproduction* 1998;59:1371-1377.
47. Holdcraft RW, Braun R. Hormonal regulation of spermatogenesis. *International Journal of Andrology* 2004;27:335-342.
48. Zirkin, Barry R. Spermatogenesis: its regulation by testosterone and FSH. *Cell and Developmental Biology* 1998; 417-421.
49. Mc Lachlan, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, De Kretser, *et al.*. Hormonal regulation of spermatogenesis in primates and man: insight for development of the male hormonal contraceptive. *Journal of Andrology* 2002;23(2):149-159.
50. Patton PE, Battaglia, David E. *Office andrology*. Humana Press Inc. New Jersey 2005;11-18.
51. Hormonal regulation in testis. Februari 2006. <http://www.berkeley.edu/news/media/releases/2006/02/images/repro.gif>. Diakses tanggal 10 Maret 2008.
52. Federman DD. The biology of human sex differences. *The New England Journal of Medicine* 2006;354(14):1507-1514.
53. Anderson RA, Baird DT. Male contraception. *Endocrine review*. Medical Research Council Human Reproductive Sciences Unit (R.A.A) and Contraceptive Development Network (D.T.B) Centre for Reproductive Biology, University of Edinburg, Edinburgh 2002; 23(6):735-762.57.
54. Mathieson KL, McLachlan. Male hormonal contraception: concept, proven, product in sight?. *Human Reproductive Update* 2006;12(4):463-482.
55. Turner L, Conway AJ, Jimenez M, Liu PY, Forbes E, *et al.*. Contraceptive efficacy of a depot progestin and androgen combination in men. *The journal of clinical endocrinology&metabolism* 2003;88(10):4659-4667.
56. Gu YQ, Tong JS, Ma DZ, Wang XH, Yuan DT, *et al.*. Male hormonal contraception: effects of injections of testosterone undecanoate and depot medroxyprogesterone acetate at eight-week intervals in Chinese men. *The Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism* 2004;89(5):2254-2262.
57. Meriggiola CM, Farley MMT, Mbizvo MT. A review of androgen-progestin review regimens for male contraception. *Journal of andrology* 2003;24(4): 466-483.

58. Kamischke A, Venherm DP, von Eckardstein, Nieschlag E. Intramuscular testosterone undecanoate and norethisterone enanthate in a clinical trial for male contraception. *The journal of endocrinology&metabolism* 2000;86(1):300-309.
59. Herbst KL, Anawalt BD, Amory JK, Matsumoto A, Bremner WJ. The male contraceptive of testosterone and levonorgesterel significantly increases lean mass in healthy young men in 4 weeks, but attenuates a decrease in fat mass induced by testosterone alone. *The Journal of clinical endocrinology&metabolism* 2003;88(3):1167-1173.
60. Syarif A, Setiawati A, Muchtar A, Arif A, Bahry B, *et al.* Farmakologi dan terapi. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. UI Press. Jakarta 1995;446-455.
61. Katzung BG. Farmakologi dasar dan klinik. (Tim Farmakologi FK. Unsri, Penerjemah). EGC. Jakarta 1997: 641- 651.
62. Loose DS, Stancel GM. Pharmacological basis of therapeutics. Chapter 58: Estrogens and progestins. McGraw-Hill Medical Publishing Divisions 1997; 1597-1633.
63. Cabe jawa. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat,2006. Diakses 31 Desember 2007.
64. Sa'roni, Winarno W, Adjrini B, Nuratni. Beberapa penelitian mengenai efek farmakologi cabe jawa pada hewan percobaan. *The Journal of Indonesian Medical Plants* 1992;1(3):1-4.
65. Hargono D. Beberapa informasi tentang retrofracti fructus. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)4-7.
66. Sudiarto. Budidaya cabe jamu di kabupaten Lamongan Jawa Timur. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)8-10.
67. Januwati, Efendi DS. Potensi tanaman cabe jawa di pekarangan dalam menunjang pengembangan tanaman obat. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)11-13.
68. Harti S, Alisyahbana M. Analisis mikroskopis dan kromatografi lapis tipis dari cabe jawa dan pegagan. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)17-18.
69. Djumidi, Hutapea J. Pembuatan ekstrak cabe jawa dengan beberapa cairan penyari dan penetapan ekstrak secara kromatografi lapis tipis. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)19-20.

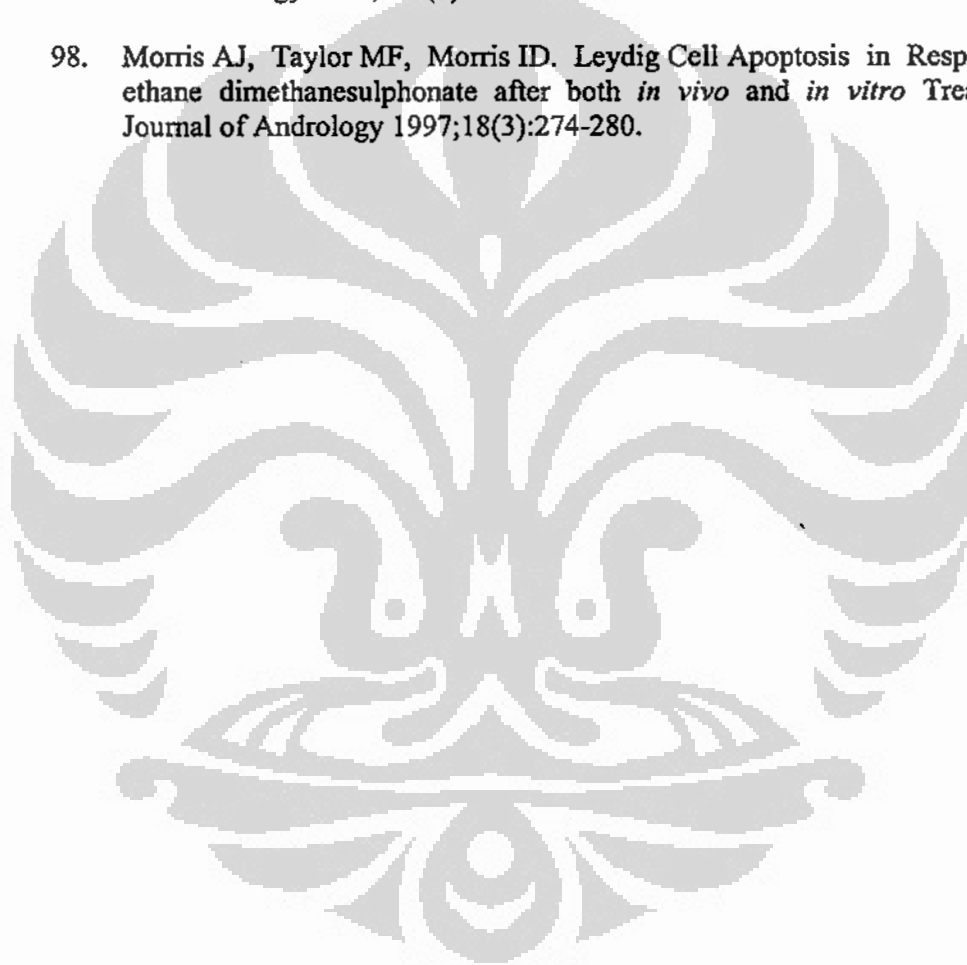
70. Sait S, Lubis EH, Pudjaastuti. Potensi minyak atsiri cabe jawa sebagai sumber obat. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)21-22.
71. Emyzar. Pemanfaatan komoditas cabe jawa dalam usaha meningkatkan pendayagunaan tobga. *The Journal of Medical Plants* 1992;1(3)23-25.
72. Federer WY. *Experimental design. Theory and application.* Mc. Millan, New York 1963;1-50.
73. Yurnadi, Asmida Y, Suryandari DA, Wahjoedi B, Moeloek N. Penekanan dosis minimal depot medroksiprogesteron asetat serta pengaruhnya terhadap viabilitas spermatozoa dan kadar hormon testosteron tikus. *Majalah Kedokteran Indonesia* 2008;58:192-199.
74. Gray P. *Handbook of Basic Microtechnique.* Mc Graw Company. New York 1952:150-154.
75. Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Departement of Zoology, The University, Birmingham* 1946;239-246.
76. Steel RGD, Torrie JH. *Prinsip dan prosedur statistika (suatu pendekatan biometrik).* PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta 1993;559-649.
77. Dahlan MS. *Statistika untuk kedokteran dan kesehatan.* PT Arkans. Jakarta 2004;85-121.
78. Yurnadi, Sari P, Suryandari DA. Pengaruh kombinasi Muira puama, damiana, dan Siberian ginseng (MDS) terhadap berat badan, testis, tubulus seminiferus, dan sel Leydig tikus strain Sprague-Dawley. *Majalah Kedokteran Indonesia* 2006;56(5):357-363.
79. Yan W, Huang, Anna-Stina L, Pelliniemi L, Salminen E, *et al.*. Overexpression of *Bcl-w* in the testis disrupts spermatogenesis; Revelation of a role of *Bcl-w* in male germ cell cycle control. *Molecular Endocrinology* 2003;17(9):1868-1879.
80. Scott HM, Hutchison GR, Mahood IK, Hallmar N, Welsh M, *et al.*. Role of androgens in fetal testis development and dysgenesis. *Endocrinology* 2007;92(8):3292-3304.
81. Berndston WE, Thompson LT. Changing relationship between testis size, Sertoli cell number and spermatogenesis in *Sprague Dawley* rat. *Journal of Andrology* 1990;11:429-435.
82. Asmida Y. Pengaruh kombinasi dosis minimal depot medroksiprogesteron asetat dan ekstrak cabe jawa terhadap konsentrasi spermatozoa serta peningkatan kadar hormon testosteron tikus. Tesis Program Magister Ilmu

Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2008;8-64.
(Diterbitkan untuk kalangan sendiri).

83. Soeharsono. Histologik testis tikus putih yang diberi suntikan medroksiprogesteron asetat. Research Center of Demography and Development Airlangga University 1999;413-414.
84. Ramaswamy S, Marshall GR, McNeilly AS, Plant TM. Dynamics of the follicle-stimulating hormone (FSH)-inhibin B feedback loop and its role in regulating spermatogenesis in the adult male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as revealed by unilateral orchidectomy. *Endocrinology* 2000;141:18-27.
85. Lue Y, Sinha HAP, Wang C, Leung A, Swerdloff RS. Functional role of inducible nitric oxide synthase in the induction of male germ cell apoptosis, regulation of sperm number, and determination of testis size: evidence from null mutant mice. *Endocrinology* 2003;144(7):3092-3100.
86. Lui WY, Lee WM, Cheng CY. Sertoli cell tight junction dynamics: their regulation during spermatogenesis. *Biology of Reproduction* 2003;68:1087-1097.
87. Lei ZM, Mishra, Ponnuru XL, Yang ZW, Rao CH. Testicular phenotype in luteinizing hormone receptor knockout animals and the effect of testosterone replacement therapy. *Biology of Reproduction* 2005;71:1605-1613.
88. Meistrich ML, Shetty G. Inhibition of spermatogonial differentiation by testosterone. *Journal of Andrology* 2003;24(2):135-148.
89. Kierszenbaum AL. Apoptosis during spermatogenesis: The thrill of being alive. *Molecular Reproduction and Development* 2001;58:1-3.
90. Aejaaz SS, Vohra H, Gupta A, Ganguly NK. Apoptosis: Molecular machinery. *Curent Science* 2001;80:349-360
91. Print CG, Loveland KL. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. *BioEssays* 2000;22:423-430.
92. Hikim S, Wang C, Lue Y, Johnson L, Wang, XH, *et al.*. Spontaneous germ cell apoptosis in humans: Evidence for ethnic differences in the susceptibility of germ cells to programmed cell death. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998;1(3):152-156.
93. Rasoulpour RJ, Boekelheide. NF-kB is activated in the rat testis following exposure to mono-(2-ethylhexyl) phthalate. *Biology of Reproduction* 2005;72:479-486.

Universitas Indonesia

94. Guo J, Tao SX, Chen M, Shi YQ, Zhang ZQ, *et al.*. Heat treatment induces live receptor homolog-1 expression in monkey and rat sertoli cells. *Endocrinology* 2007;148(3):1255-1265.
95. Hikim S, Swerdlof RS. Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis. *Journal of Reproduction and Fertility* 1999;4:38-47.
96. Huleihel M, Lunenfeld E. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors. *Asian journal of Andrology* 2004;6:259-268.
97. Zhang FP, Pakarainen T, Zhu F, Poutanen M, Huhtaniemi I. Molecular Characterization of Postnatal Development of Testicular Steroidogenesis in Luteinizing Hormone Receptor Knockout Mice. *Endocrinology* 2004;145(3):1453-1563.
98. Morris AJ, Taylor MF, Morris ID. Leydig Cell Apoptosis in Response to ethane dimethanesulphonate after both *in vivo* and *in vitro* Treatment. *Journal of Andrology* 1997;18(3):274-280.



Lampiran 1. Surat Lolos Kaji Etik Percobaan dengan Hewan



R. Percetakan Negara No. 29
Jakarta 10540
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012
Telp. (021) 4261888

DEPARTEMEN KESEHATAN R.I. BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN



Faks. (021) 4249933
E-mail : sehat@litbang.dephes.go.id
Website : <http://www.litbang.dephes.go.id>

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE)

Nomor: LB.03.02/KB/1169/2008

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul:

"Pengaruh Kombinasi Dosis Minimal DMPA dan Ekstrak Cabe Jawa terhadap Fertilitas dan Kadar Hormon Testosteron Titus Jantan Galur Sprague-Dawley"
(Revisi protokol tanggal 17 April 2008)

yang menggunakan / memanfaatkan hewan percobaan sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana / Peneliti Utama:

Drs. Yumadi, M.Kes

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 23 April 2008

Ketua
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Badan Litbang Kesehatan,



Prof. Dr. M. Sudomo

Lampiran 2. Data Berat Testis (gram)

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	1,60	1,30	1,65	1,80	1,55	1,30
2	1,50	1,40	1,50	1,50	1,60	1,15
3	1,70	1,20	1,65	1,75	1,65	1,70
4	1,50	1,70	1,75	1,65	1,65	1,60
5	1,60	1,70	1,70	1,60	1,35	1,65
6	1,65	1,75	1,75	1,70	1,40	1,65
Σ	9,55	9,05	10,00	10,00	9,20	9,05
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	1,59	1,51	1,67	1,67	1,53	1,51
SD	0,08	0,24	0,09	0,11	0,13	0,23
SEM	0,01	0,04	0,02	0,02	0,02	0,04



Lampiran 2. Uji Statistik Data Berat Testis

Uji Normalitas Data Berat Testis

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
berat testis	.208	36	.000	.895	36	.003

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Normalitas Transformasi Berat Testis

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans berat testis	.192	36	.002	.920	36	.012

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Kruskal-Wallis Data Berat Testis

Test Statistics^{a,b}

	trans berat testis
Chi-Square	5.818
df	5
Asymp. Sig.	.324

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Kesimpulan: $p > 0,324$ artinya tidak terdapat perbedaan signifikan berat testis antar kelompok.

Lampiran 3. Data Diameter Tubulus Seminiferus (μm)

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	240,41	200,80	213,00	200,50	205,41	187,16
2	236,08	198,80	212,66	202,41	194,75	169,16
3	256,16	205,91	199,57	184,50	200,00	195,16
4	249,83	206,50	205,33	197,83	185,16	175,66
5	206,66	217,83	198,83	187,00	174,00	174,16
6	229,75	205,58	182,16	198,83	198,41	173,00
Σ	1418,89	1235,42	1211,55	1171,07	1157,73	1074,30
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	236,49	205,90	201,93	195,18	192,96	179,06
SD	17,41	6,62	11,45	7,51	11,47	9,95
SEM	0,07	0,03	0,06	0,04	0,06	0,06

Lampiran 4. Uji Statistik Data Diameter Tubulus Seminiferus

Uji Normalitas Data Diameter Tubulus Seminiferus

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter tubulus	.188	36	.002	.924	36	.017

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Normalitas Transformasi Diameter Tubulus Seminiferus

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_diameter_tubulus	.167	36	.012	.945	36	.074

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya data berdistribusi normal.

Uji Homogenitas Data Diameter Tubulus Seminiferus

Test of Homogeneity of Variances

trans_diameter_tubulus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.787	5	30	.567

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya varians data homogen.

Uji ANOVA Data Diameter Tubulus Seminiferus

ANOVA

trans_diameter_tubulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.048	5	.010	16.648	.000
Within Groups	.017	30	.001		
Total	.065	35			

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan diameter tubulus seminiferus secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Uji Bonferroni Data Diameter Tubulus Seminiferus

Multiple Comparisons

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	KP	.05954*	.01388	.003	.0153	.1038
	PI	.06819*	.01388	.000	.0239	.1125
	PII	.08219*	.01388	.000	.0379	.1265
	PIII	.08794*	.01388	.000	.0437	.1322
	PIV	.12038*	.01388	.000	.0761	.1647
KP	Kontrol	-.05954*	.01388	.003	-.1038	-.0153
	PI	.00865	.01388	1.000	-.0356	.0529
	PII	.02265	.01388	1.000	-.0216	.0669
	PIII	.02840	.01388	.745	-.0159	.0727
	PIV	.06084*	.01388	.002	.0166	.1051
PI	Kontrol	-.06819*	.01388	.000	-.1125	-.0239
	KP	-.00865	.01388	1.000	-.0529	.0356
	PII	.01400	.01388	1.000	-.0303	.0583
	PIII	.01975	.01388	1.000	-.0245	.0640
	PIV	.05219*	.01388	.011	.0079	.0965
PII	Kontrol	-.08219*	.01388	.000	-.1265	-.0379
	KP	-.02265	.01388	1.000	-.0669	.0216
	PI	-.01400	.01388	1.000	-.0583	.0303
	PIII	.00575	.01388	1.000	-.0385	.0500
	PIV	.03819	.01388	.150	-.0061	.0825
PIII	Kontrol	-.08794*	.01388	.000	-.1322	-.0437
	KP	-.02840	.01388	.745	-.0727	.0159
	PI	-.01975	.01388	1.000	-.0640	.0245
	PII	-.00575	.01388	1.000	-.0500	.0385
	PIV	.03244	.01388	.395	-.0118	.0767
PIV	Kontrol	-.12038*	.01388	.000	-.1647	-.0761
	KP	-.06084*	.01388	.002	-.1051	-.0166
	PI	-.05219*	.01388	.011	-.0965	-.0079
	PII	-.03819	.01388	.150	-.0825	.0061
	PIII	-.03244	.01388	.395	-.0767	.0118

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Kesimpulan: kelompok KP, PI, PII, PIII dan PIV berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol.

Lampiran 5. Data Populasi Spermatogonia A (setelah dikoreksi dengan rumus Abercrombie)

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	39,00	30,50	30,00	27,50	27,00	22,00
2	30,00	30,00	27,50	26,50	24,00	24,00
3	38,00	29,00	29,00	29,00	20,00	22,50
4	38,00	29,50	25,50	23,50	19,00	20,00
5	40,00	31,50	26,00	23,30	20,50	18,50
6	38,50	34,00	24,00	22,00	21,50	20,50
Σ	223,50	184,50	162,00	151,80	132,00	127,50
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	37,25	30,75	27,00	25,30	22,00	21,25
SD	3,63	1,81	2,26	2,76	2,98	1,97
SEM	0,60	0,30	0,38	0,46	0,50	0,33

Lampiran 6. Uji Statistik Data Populasi Spermatogonia A

Uji Normalitas Data Populasi Spermatogonia A

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
spg A	.119	36	.200*	.931	36	.026

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Normalitas Transformasi Populasi Spermatogonia A

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_spg_A	.143	36	.059	.885	36	.001

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Kruskal-Wallis Data Populasi Spermatogonia A

Test Statistics^{a,b}

	spg A
Chi-Square	28.547
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan pada populasi spermatogonia A secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Uji Mann-Whitney Data Populasi Spermatogonia A

Kelompok		Signifikansi	Keterangan
K	KP	0,020	Tidak signifikan
	PI	0,005*	Signifikan
	PII	0,004*	Signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
KP	PI	0,016	Tidak signifikan
	PII	0,005*	Signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
PI	PII	0,261	Tidak signifikan
	PIII	0,020	Tidak signifikan
	PIV	0,005*	Signifikan
PII	PIII	0,078	Tidak signifikan
	PIV	0,030	Tidak signifikan
PIII	PIV	0,809	Tidak signifikan

Kesimpulan: kelompok PI, PII, PIII dan PIV berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol.

Lampiran 7. Data Populasi Spermatisit I Preleptoten (setelah dikoreksi dengan rumus Abercrombie)

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	25,40	24,20	20,80	20,80	20,80	20,80
2	28,70	23,70	22,50	21,20	17,50	17,50
3	29,50	20,80	21,70	23,70	15,80	16,20
4	35,40	20,00	19,60	20,80	15,40	15,80
5	21,20	18,70	20,00	18,30	17,90	15,00
6	25,00	19,20	18,30	17,50	16,70	14,60
Σ	165,20	126,60	122,90	122,30	104,10	99,90
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	27,53	21,10	20,48	20,38	17,35	16,65
SD	4,86	2,33	1,51	2,22	1,94	2,27
SEM	0,81	0,39	0,25	0,37	0,32	0,38

Lampiran 8. Uji Statistik Data Populasi Spermatoosit I Preleptoten

Uji Normalitas Data Populasi Spermatoosit I Preleptoten

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
spt I preleptoten	.166	36	.013	.902	36	.004

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Transformasi Data Populasi Spermatoosit I Preleptoten

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_spt_I_preleptoten	.104	36	.200 [*]	.977	36	.632

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya data berdistribusi normal.

Uji Homogenitas Data Populasi Spermatoosit I Preleptoten

Test of Homogeneity of Variances

trans_spt_I_preleptoten

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.545	5	30	.741

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya varians data homogen.

Uji ANOVA Data Populasi Spermatoosit I Preleptoten

ANOVA

trans_spt_I_preleptoten

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.011	5	.002	12.691	.000
Within Groups	.005	30	.000		
Total	.016	35			

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan pada populasi spermatoosit I preleptoten secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Uji Bonferroni Data Populasi Spermatisit I Preleptoten

Multiple Comparisons

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	KP	-.02610*	.00759	.026	-.0503	-.0019
	PI	-.02892*	.00759	.010	-.0531	-.0047
	PII	-.02991*	.00759	.007	-.0541	-.0057
	PIII	-.04855*	.00759	.000	-.0727	-.0244
	PIV	-.05397*	.00759	.000	-.0782	-.0298
KP	Kontrol	.02610*	.00759	.026	.0019	.0503
	PI	-.00283	.00759	1.000	-.0270	.0214
	PII	-.00382	.00759	1.000	-.0280	.0204
	PIII	-.02246	.00759	.089	-.0466	.0017
	PIV	-.02787*	.00759	.014	-.0521	-.0037
PI	Kontrol	.02892*	.00759	.010	.0047	.0531
	KP	.00283	.00759	1.000	-.0214	.0270
	PII	-.00099	.00759	1.000	-.0252	.0232
	PIII	-.01963	.00759	.221	-.0438	.0046
	PIV	-.02504*	.00759	.037	-.0492	-.0009
PII	Kontrol	.02991*	.00759	.007	.0057	.0541
	KP	.00382	.00759	1.000	-.0204	.0280
	PI	.00099	.00759	1.000	-.0232	.0252
	PIII	-.01864	.00759	.300	-.0428	.0055
	PIV	-.02405	.00759	.052	-.0482	.0001
PIII	Kontrol	.04855*	.00759	.000	.0244	.0727
	KP	.02246	.00759	.089	-.0017	.0466
	PI	.01963	.00759	.221	-.0046	.0438
	PII	.01864	.00759	.300	-.0055	.0428
	PIV	-.00541	.00759	1.000	-.0296	.0188
PIV	Kontrol	.05397*	.00759	.000	.0298	.0782
	KP	.02787*	.00759	.014	.0037	.0521
	PI	.02504*	.00759	.037	.0009	.0492
	PII	.02405	.00759	.052	-.0001	.0482
	PIII	.00541	.00759	1.000	-.0188	.0296

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Kesimpulan: kelompok KP, PI, PII, PIII dan PIV berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol.

Lampiran 9. Data Populasi Spermatisit I Pakiten (setelah dikoreksi dengan rumus Abercrombie)

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	26,70	22,50	21,20	20,00	16,20	15,80
2	23,70	24,20	20,80	20,40	16,70	13,70
3	21,20	21,70	20,00	19,20	17,50	15,40
4	25,00	20,00	20,40	20,80	15,00	14,60
5	25,00	18,30	20,80	17,90	18,30	12,10
6	24,20	17,50	21,20	16,70	17,10	12,90
Σ	145,80	124,20	124,40	115,00	100,80	84,50
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	24,30	20,70	20,73	19,17	16,80	14,08
SD	1,83	2,57	0,47	1,59	1,13	1,44
SEM	0,30	0,43	0,08	0,26	0,19	0,24

Lampiran 10. Uji Statistik Data Populasi Spermatoosit I Pakiten

Uji Normalitas Data Populasi Spermatoosit I Pakiten

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
spt I pakiten	.105	36	.200 [*]	.983	36	.852

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan: $p > 0,05$ data berdistribusi normal

Uji Homogenitas Data Populasi Spermatoosit I Pakiten

Test of Homogeneity of Variances

spt I pakiten

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.770	5	30	.036

Kesimpulan: $p < 0,05$ varians data tidak homogen.

Uji Homogenitas Transformasi Data Populasi Spermatoosit I Pakiten

Test of Homogeneity of Variances

trans_spt_I_pakiten

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.335	5	30	.016

Kesimpulan: $p < 0,05$ varians data tidak homogen.

Uji Kruskal-Wallis Data Populasi Spermatoosit I Pakiten

Test Statistics^{a,b}

	trans_spt_I_pakiten
Chi-Square	28.774
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan signifikan pada populasi spermatoosit I pakiten secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Uji Mann-Whitney Data Populasi Spermatisit I Pakiten

Kelompok		Signifikansi	Keterangan
K	KP	0,030	Tidak signifikan
	PI	0,006	Tidak signifikan
	PII	0,004*	Signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
KP	PI	0,936	Tidak signifikan
	PII	0,297	Tidak signifikan
	PIII	0,010	Tidak signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
PI	PII	0,035	Tidak signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
PII	PIII	0,030	Tidak signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
PIII	PIV	0,010	Tidak signifikan

Kesimpulan: kelompok PII, PIII dan PIV berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol.

Lampiran 11. Data Populasi Spermatid (setelah dikoreksi dengan rumus Abercrombie)

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	51,50	35,00	28,50	25,50	20,00	21,00
2	54,00	40,50	30,00	23,50	19,00	24,00
3	43,50	37,50	30,50	24,00	20,50	18,50
4	51,00	30,00	24,00	26,50	19,00	15,50
5	37,50	27,50	29,00	25,00	19,50	15,50
6	30,00	29,00	25,00	24,00	19,00	17,50
Σ	267,50	199,50	167,00	148,50	117,00	112,00
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	44,58	33,25	27,83	24,75	19,50	18,67
SD	9,40	5,20	2,70	1,13	0,63	3,33
SEM	1,57	0,87	0,45	0,19	0,11	0,55

Lampiran 12. Uji Statistik Data Populasi Spermatid

Uji Normalitas Data Populasi Spermatid

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
spermatid	.183	36	.004	.884	36	.001

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Transformasi Data Populasi Spermatid

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_spermatid	.096	36	.200 [*]	.973	36	.502

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya data berdistribusi normal.

Uji Homogenitas Data Populasi Spermatid

Test of Homogeneity of Variances

trans_spermatid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.387	5	30	.004

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya varians data tidak homogen.

Uji Kruskal-Wallis Data Populasi Spermatid

Test Statistics^{a,b}

	trans_spermatid
Chi-Square	30.465
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan populasi spermatid secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Uji Mann-Whitney Data Populasi Spermatid

Kelompok		Signifikansi	Keterangan
K	KP	0,037	Tidak signifikan
	PI	0,008	Tidak signifikan
	PII	0,004*	Signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
KP	PI	0,108	Tidak signifikan
	PII	0,004*	Signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,004*	Signifikan
PI	PII	0,063	Tidak signifikan
	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,005*	Signifikan
PII	PIII	0,004*	Signifikan
	PIV	0,010	Tidak signifikan
PIII	PIV	0,332	Tidak signifikan

Kesimpulan: kelompok PII, PIII dan PIV berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol.

Lampiran 13. Data populasi Sel Leydig

No.	Kelompok					
	Kontrol	KP	PI	PII	PIII	PIV
1	551	484	407	407	500	398
2	498	470	480	480	526	420
3	490	501	521	521	420	350
4	520	505	515	515	521	302
5	492	466	448	448	450	317
6	501	470	470	470	436	401
Σ	3052,00	2896,00	2841,00	2841,00	2853,00	2188,00
N	6	6	6	6	6	6
Rerata	508,67	482,67	473,50	473,50	475,50	364,67
SD	23,32	16,94	42,67	42,67	45,85	48,80
SEM	3,89	2,82	7,11	7,11	7,64	8,13

Lampiran 14. Uji Statistik Data Populasi Sel Leydig

Uji Normalitas Data Populasi Sel Leydig

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
sel Leydig	.159	36	.022	.906	36	.005

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya data tidak berdistribusi normal.

Uji Transformasi Populasi Sel Leydig

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_sel_leydig	.136	36	.092	.940	36	.051

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya data berdistribusi normal.

Uji Homogenitas Data Populasi Sel Leydig

Test of Homogeneity of Variances

trans_sel_leydig

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.902	5	30	.124

Kesimpulan: $p > 0,05$ artinya varians data homogen.

Uji ANOVA Data Populasi Sel Leydig

ANOVA

trans_sel_leydig	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.423E10	5	1.085E10	9.078	.000
Within Groups	3.585E10	30	1.195E9		
Total	9.008E10	35			

Kesimpulan: $p < 0,05$ artinya terdapat perbedaan pada populasi sel Leydig secara signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Uji Bonferroni Data Populasi Sel Leydig

Multiple Comparisons

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	KP	25988.66667	19957.13808	1.000	-37650.7727	89628.1060
	PI	33475.16667	19957.13808	1.000	-30164.2727	97114.6060
	PII	33475.16667	19957.13808	1.000	-30164.2727	97114.6060
	PIII	31342.83333	19957.13808	1.000	-32296.6060	94982.2727
	PIV	124228.66667*	19957.13808	.000	60589.2273	187868.1060
KP	Kontrol	-25988.66667	19957.13808	1.000	-89628.1060	37650.7727
	PI	7486.50000	19957.13808	1.000	-56152.9394	71125.9394
	PII	7486.50000	19957.13808	1.000	-56152.9394	71125.9394
	PIII	5354.16667	19957.13808	1.000	-58285.2727	68993.6060
	PIV	98240.00000*	19957.13808	.000	34600.5606	161879.4394
PI	Kontrol	-33475.16667	19957.13808	1.000	-97114.6060	30164.2727
	KP	-7486.50000	19957.13808	1.000	-71125.9394	56152.9394
	PII	.00000	19957.13808	1.000	-63639.4394	63639.4394
	PIII	-2132.33333	19957.13808	1.000	-65771.7727	61507.1060
	PIV	90753.50000*	19957.13808	.001	27114.0606	154392.9394
PII	Kontrol	-33475.16667	19957.13808	1.000	-97114.6060	30164.2727
	KP	-7486.50000	19957.13808	1.000	-71125.9394	56152.9394
	PI	.00000	19957.13808	1.000	-63639.4394	63639.4394
	PIII	-2132.33333	19957.13808	1.000	-65771.7727	61507.1060
	PIV	90753.50000*	19957.13808	.001	27114.0606	154392.9394
PIII	Kontrol	-31342.83333	19957.13808	1.000	-94982.2727	32296.6060
	KP	-5354.16667	19957.13808	1.000	-68993.6060	58285.2727
	PI	2132.33333	19957.13808	1.000	-61507.1060	65771.7727
	PII	2132.33333	19957.13808	1.000	-61507.1060	65771.7727
	PIV	92885.83333*	19957.13808	.001	29246.3940	156525.2727
PIV	Kontrol	-124228.66667*	19957.13808	.000	-187868.1060	-60589.2273
	KP	-98240.00000*	19957.13808	.000	-161879.4394	-34600.5606
	PI	-90753.50000*	19957.13808	.001	-154392.9394	-27114.0606
	PII	-90753.50000*	19957.13808	.001	-154392.9394	-27114.0606
	PIII	-92885.83333*	19957.13808	.001	-156525.2727	-29246.3940

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Kesimpulan: Kelompok PIV berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol, tetapi kelompok KP, PI, PII dan PIII tidak berbeda secara signifikan terhadap kontrol.

Lampiran 12. Sediaan Histologis Hasil Penelitian

Gambar 1. Sediaan histologis kelompok kontrol



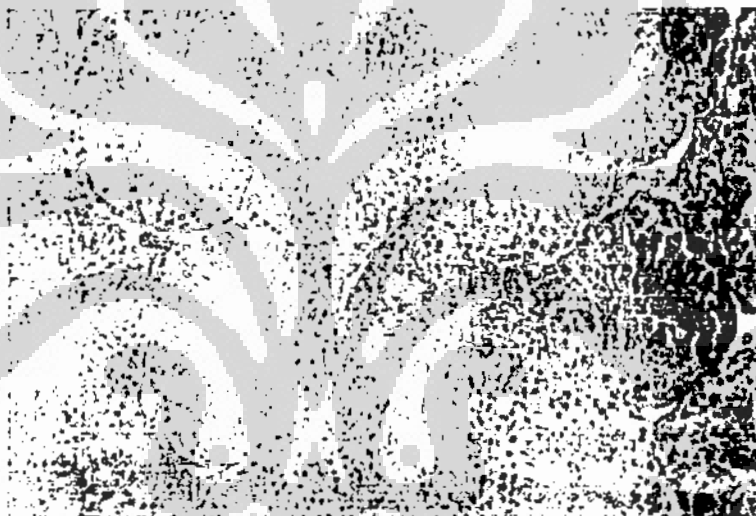
Gambar 2. Sediaan histologis kelompok KP (DMPA+plasebo)



Gambar 3. Sediaan histologis kelompok PI (DMPA+cabe jawa 0,94 mg)



Gambar 4. Sediaan histologis kelompok PII (DMPA+cabe jawa 1,88 mg)



Gambar 5. Sediaan histologis kelompok PII (DMPA+cabe jawa 2,82 mg)



Gambar 6. Sediaan histologis kelompok IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg)

RIWAYAT HIDUP



Nama : Dita Rany Anggraeni
Tempat dan Tanggal Lahir : Jakarta, 26 Juli 1984
Jenis Kelamin : Perempuan
Agama : Islam
Alamat : Jl. Kalibata Selatan II No.43 RT03/04 Pancoran Jaksel
 12740
Email : dita_forza@yahoo.com
Pendidikan
 1989 – 1995 : SDN Kalibata 01 Pg Jakarta
 1995 – 1998 : SMP Negeri 182 Jakarta
 1998 – 2001 : SMA Negeri 55 Jakarta
 2001 – 2006 : Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
 Alam, Universitas Negeri Jakarta
 2007 – sekarang : Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas
 Kedokteran, Universitas Indonesia
Sumber Dana Penelitian : Hibah Bersaing Direktorat Penelitian dan Pengabdian
 Masyarakat (DP2M) Direktorat Jenderal Pendidikan

The effects of combination of Depot Medroxyprogesterone Acetate and Javanese Long Pepper toward Testis Weight and the decreasing of Seminiferous Tubules Diameter and Leydig Cell of Rat.

Nukman Moeloek,* Yurnadi,* Dita Rany Anggraeni**

*Department of Medical Biology, Faculty of Medicine University of Indonesia

**Postgraduated Student of Biomedical, Faculty of Medicine University of Indonesia

Abstract: In 2025 the citizen numbers of Indonesia projection will be 273 million. To solve this problem the government of Indonesia holds Family Programme Planning for fertile couples. Administration of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) combined with testosterone has a good prospect to become hormonal male contraception because they can suppress gonadotrophin so that can inhibit spermatogenesis. In the nature there are many kinds of herbal medicine contains of androgene, one of them is javanese long pepper (*Piper retrofractum* Vahl). Traditionally, the fruit is used to cure impotency and has been prove can increase blood testosterone levels and frequency of coitus in hypogonad man. The aim of this study was to find out the effects of combination of depot medroxyprogesterone acetate (DMPA) and javanese long pepper toward testis weight, seminiferous tubules diameter, population of spermatogenic cells, and Leydig cell of rat. This research was using complete random design, equal size sample consist of six groups using male rat strain Sprague-Dawley as a model. Treatment groups consist of 6 groups (K, KP, PI, PII, PIII dan PIV) using Sprague-Dawley rat as a model. The result shows that there was no decreasing of testis weight between treatment groups and control group significantly after administration of DMPA and javanese long pepper extract. There was the decreasing of tubules seminiferous diameter significantly. There was the decreasing of Leydig cell population significantly. Conclusion: Administration of DMPA and javanese long pepper can suppress spermatogenesis. There was decreasing of seminiferous tubules diameter, spermatogenic cells population and Leydig cell population. However, there was no decreasing of testis weight.

Key words: DMPA, javanese long pepper, testis, seminiferous tubules, Leydig cell.

Pendahuluan

Pada tahun 2025 jumlah penduduk Indonesia diperkirakan akan mencapai 273 juta jiwa dengan pertumbuhan penduduk di bawah 1,5%. Untuk mengatasi hal tersebut, pemerintah Indonesia mencanangkan program Keluarga Berencana (KB) bagi pasangan suami isteri (pasutri) usia subur.¹ Kontrasepsi pria yang tersedia saat ini sangat sedikit bila dibandingkan dengan alat kontrasepsi wanita. Sampai pertengahan abad 20, metode kontrasepsi pria digunakan oleh 30% pasangan di dunia, diantaranya adalah kondom, vasektomi, koitus interruptus dan abstinensi seks.²

Depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) merupakan suatu progesteron sintetik yang jika diberikan secara intramuskuler (injeksi) akan memberikan efek kerja yang panjang (*long acting*), aman dan efektif. DMPA adalah penghambat kuat sekresi

gonadotropin hipofisis yang digunakan secara luas untuk kontrasepsi wanita.^{3,4,5} DMPA yang dikombinasikan dengan testosteron prospeknya baik untuk dikembangkan menjadi bahan kontrasepsi pria, karena waktu efektifnya diperlukan untuk menghambat sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH), sehingga menekan spermatogenesis dan juga kadar testosteron plasma. Penurunan testosteron ini dapat diatasi dengan adanya pemberian testosteron eksogen.^{6,7}

Pemberian kombinasi hormon testosteron dan progestin terbukti dapat menyebabkan penurunan volume atau berat testis. Di samping itu juga dapat menyebabkan penyusutan diameter tubulus seminiferus.^{8,9} Penelitian Ericson dan Dutt dalam Sutyarso⁹ pada domba yang disuntik dengan derivat progesteron asetat,

dilaporkan tidak hanya menyebabkan terhentinya spermatogenesis melainkan juga terjadinya atrofi sel-sel Leydig.

Tanaman cabe jawa secara tradisional buahnya digunakan untuk obat lemah syahwat, lambung lemah, peluruh keringat dan lain-lain. Kandungan kimia cabe jawa antara lain piperin, piperatin, beta-sitosterol, senyawa asam amino bebas, minyak atsiri, damar, saponin, polifenol, resin (kavisin), dan lain-lain.^{10,11}

Penelitian yang dilakukan oleh Sa'roni *et al.*,¹¹ menunjukkan bahwa infus buah cabe jawa dosis 2,1 mg/10 gram berat badan tikus menunjukkan adanya efek androgenik dan anabolik. Isnawati *et al.*,¹² melaporkan bahwa ekstrak buah cabe jawa yang diuji dengan metode Ames tidak memperlihatkan adanya efek mutagenik sehingga aman untuk dikonsumsi. Selanjutnya penelitian Wahjoedi *et al.*,¹³ menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah cabe jawa mempunyai efek androgenik terhadap anak ayam jantan pada dosis 3,75 mg/100 gram berat badan mempunyai respon tidak berbeda nyata dengan bahan standar TU dosis 500 mg/100 gram berat badan. Pada tahun 2006 dilakukan penelitian uji klinik ekstrak cabe jawa untuk mengetahui efek androgeniknya pada 9 pria hipogonad yang dilakukan oleh Moeloek *et al.*¹⁴ Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ternyata ekstrak cabe jawa dapat meningkatkan kadar testosteron darah pada 7 dari 9 pria hipogonad (78%), tidak menurunkan kadar hormon FSH dan LH, dapat meningkatkan frekuensi koitus dan tidak menimbulkan efek samping yang serius.

Dari beberapa penelitian di atas diketahui bahwa DMPA dapat mengakibatkan penurunan testosteron sehingga dapat menekan spermatogenesis, sedangkan ekstrak

cabe jawa mempunyai efek androgenik yang dapat meningkatkan kadar testosteron sehingga dapat mengganti testosteron yang hilang akibat pengaruh DMPA. Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap proses spermatogenesis dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba.

Bahan dan Alat Penelitian

Tikus jantan (*Rattus norvegicus* L) galur *Sprague-Dawley* yang sehat dan fertil, berumur 40-60 hari dengan berat badan ± 250 gram, ekstrak cabe jawa diperoleh dari BPOM RI dalam bentuk gelatin/kapsul, larutan Na-CMC 1%, DMPA, akuabides, aether, larutan Na-CMC, larutan Bouin, larutan NaCl fisiologis, eosin Y, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), benzil benzoat, benzol, parafin, albumin Mayer, xylol, larutan Haematoksin, balsem Kanada, gelas ukur, gelas kimia, lumpang dan alu, therumo syringe, sonde, satu set alat bedah (papan bedah, gunting, pinset, jarum, dan lain-lain), timbangan digital Citizen, mikrotom putar Spencer Model 820, botol-botol *schot duran* berukuran 100 ml, 250 ml, 500 ml, dan 1000 ml, bak pewarnaan (*staining jar*), kaca objek, kaca penutup, silet, mikroskop elektrik binokuler, alat hitung (*counter*) hope no.8-004, mikrometer objektif dan mikrometer okuler.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan *equal size sample*, 6 perlakuan terdiri atas kelompok kontrol (K), kelompok kontrol perlakuan (KP=tikus disuntik DMPA dan diberi plasebo), perlakuan I (PI=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 0,94 mg), perlakuan II (PII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 1,88 mg),

perlakuan III (PIII=tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 2,82 mg), perlakuan IV (tikus disuntik DMPA dan ekstrak cabe jawa dosis 3,76 mg).

Perlakuan Hewan Percobaan

Tikus percobaan diaklimatisasi di kandang selama 15 hari, diberi makan dan minum standar. Tikus disuntik dengan DMPA sesuai dengan dosis yang telah ditetapkan, yaitu 1,25 mg. Penyuntikan dilakukan pada paha kanan atau kiri secara bergantian. Penyuntikan dilakukan sebanyak dua kali, penyuntikan pertama dilakukan pada minggu ke-0 dan penyuntikan kedua dilakukan pada minggu ke-12, karena waktu efektif DMPA adalah 12 minggu. Tujuan dilakukan penyuntikan sebanyak dua kali adalah agar efektif dalam menekan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH).

Selanjutnya tikus dicekok ekstrak cabe jawa pada minggu ke-7 sampai minggu ke-18. Alasan pencekokan dimulai pada minggu ke-7 adalah agar DMPA dapat bekerja terlebih dahulu menekan spermatogenesis. Kelompok KP dicekok dengan plasebo, Kelompok PI dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 0,94 mg, kelompok PII dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 1,88 mg, kelompok PIII dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 2,82 mg, kelompok P IV dicekok dengan ekstrak cabe jawa dosis 3,76 mg. Pencekokan ekstrak cabe jawa dilakukan setiap pagi hari pada pukul 08.00 Waktu Indonesia Barat (WIB). Pencekokan dilakukan dengan bantuan spuit yang sudah dimodifikasi ujungnya (sonde lambung).

Setelah minggu ke-18, tikus dibius dengan eter dan dibedah untuk pengambilan data. Diambil testis kanan dan kiri, ditimbang, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan preparat testis untuk pengambilan data.

Pengambilan Data

1. Berat testis, ditimbang testis kanan dan testis kiri tikus dengan menggunakan timbangan digital Citizen.
2. Diameter tubulus seminiferus, diukur dengan mikrometer objektif dan mikrometer okuler di bawah mikroskop elektrik dengan pembesaran 10x10.
3. Sel Leydig, diamati dan dihitung per 1 lapang pandang di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x10.

Analisis Data

Data kuantitatif yang didapatkan diuji dengan menggunakan program statistik komputer *Statistical Product and Service (SPSS) release 15*. Urutan uji diawali dengan:^{15,16}

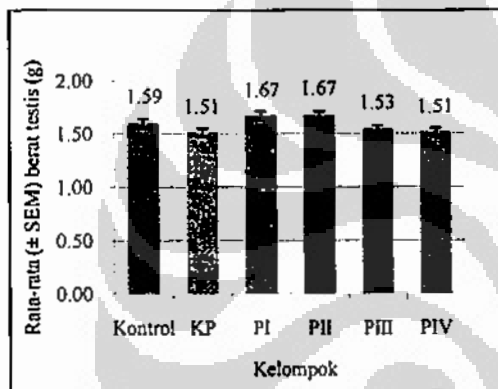
1. Uji normalitas Saphiro dan Wilk dan uji homogenitas varians Bartlett.
2. Jika data berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan *one way Analysis of Variances (ANOVA)*. Apabila diperoleh nilai $p < 0.05$, maka dilakukan analisis *post hoc* uji Bonferroni (untuk melihat perbedaan rata-rata antara dua kelompok). Untuk data yang berdistribusi normal dan/atau tidak bervarians homogen atau sebaliknya dilakukan transformasi data. Setelah dilakukan transformasi data, ternyata data tetap tidak normal atau homogen, maka dilakukan uji non-parametrikal Kruskal-Wallis. Apabila diperoleh nilai $p < 0.05$ maka digunakan analisis *pot hoc* uji Mann-Whitney.

Hasil

1. Berat Testis

Pada Gambar 1 berikut ini memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata berat testis pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran

data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi untuk mengusahakan agar distribusi data menjadi normal. Hasil transformasi juga menunjukkan bahwa sebaran data tetap tidak berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji non parametrik Kruskal-Wallis. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,324$. Oleh karena $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan berat testis antar kelompok dengan dosis yang berbeda.

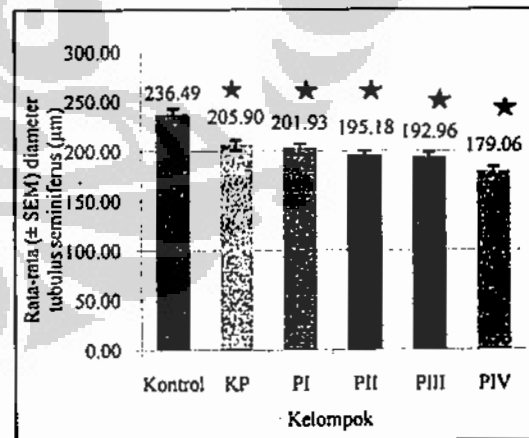


Gambar 1. Rata-rata berat testis tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencetakan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

2. Diameter Tubulus Seminiferus

Pada Gambar 2 berikut ini memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata diameter tubulus seminiferus pada tiap kelompok perlakuan. Hasil perhitungan uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi untuk mengusahakan agar distribusi data menjadi normal. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data berdistribusi normal dan hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data bervariasi homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *one way* ANOVA. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh

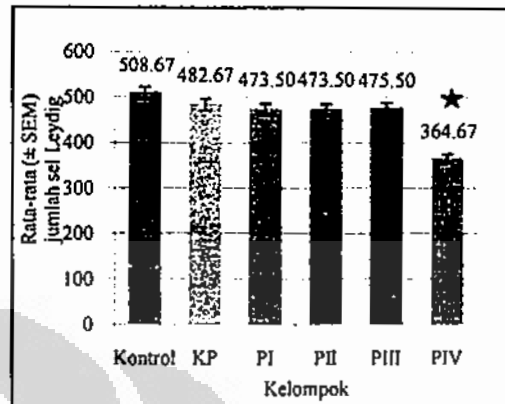
karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan diameter tubulus seminiferus secara signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan, maka dilakukan uji *post-hoc*. Uji *post-hoc* Bonferroni menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan diameter tubulus seminiferus antara kelompok kontrol dengan kelompok KP, PI, PII, PIII dan PIV. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dan PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dan PIV. Kelompok PII berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok PIII berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok PIV berbeda signifikan dengan kelompok kontrol, KP dan PI. Dosis yang paling signifikan menurunkan diameter tubulus seminiferus adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg).



Gambar 2. Rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencetakan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII = Perlakuan II (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII = Perlakuan III (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

3. Sel Leydig

Pada gambar 3 berikut ini memperlihatkan hasil perhitungan rata-rata populasi sel Leydig pada tiap kelompok perlakuan. Uji normalitas menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian data ditransformasi untuk mengusahakan agar distribusi data menjadi normal. Hasil transformasi menunjukkan sebaran data berdistribusi normal. Uji homogenitas menunjukkan bahwa data bervariasi homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *one way ANOVA*. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada populasi sel Leydig antara kelompok kontrol dan perlakuan. Untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan, dilakukan uji *post hoc* Bonferroni. Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa kelompok kontrol berbeda secara signifikan dengan kelompok PIV. Sementara kelompok KP, PI, PII, dan PIII tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok KP berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PI berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PII berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PIII berbeda signifikan dengan kelompok PIV. Kelompok PIV berbeda signifikan dengan semua kelompok. Dosis paling signifikan menurunkan populasi sel spermatosit I preleptoten adalah kelompok PIV (DMPA 1,25 mg dan cabe jawa 3,76 mg).



Gambar 3. Rata-rata populasi sel Leydig tikus percobaan setelah penyuntikan DMPA dan pencetakan berbagai dosis cabe jawa. K = Kontrol; KP = Kontrol Perlakuan (DMPA+plasebo); PI = Perlakuan I (DMPA+cabe jawa 0,94 mg); PII (DMPA+cabe jawa 1,88 mg); PIII (DMPA+cabe jawa 2,82 mg); PIV = Perlakuan IV (DMPA+cabe jawa 3,76 mg).

Diskusi

Berdasarkan hasil dan analisis data (Gambar 1) dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak mempengaruhi berat testis tikus percobaan. Tidak terjadinya peningkatan atau penurunan berat testis tikus percobaan menunjukkan bahwa kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa yang diberikan belum dapat menghambat perkembangan sel-sel spermatogenik yang ada di dalam testis, sehingga berat testis tikus percobaan tidak mengalami peningkatan atau penurunan secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol.

Menurut Amatayakul *dalam* Yurnadi *et al.*,¹⁷ menurunnya berat testis erat hubungannya dengan menurunnya diameter tubulus seminiferus dan produksi sel-sel spermatogenik. Menurut Marson *et al.*, *dalam* Kusmana⁸ fungsi gonad berkorelasi positif dengan volume gonad. Hal ini telah diteliti oleh Bercovitch & Rodriguez *dalam* Kusmana⁸ yang melaporkan bahwa berat testis monyet rhesus jantan

berkorelasi positif dengan aktivitas seksualnya. Artinya peningkatan fungsi gonad akan menyebabkan peningkatan berat testis. Penelitian Kusmana⁸ menunjukkan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA menyebabkan penurunan volume testis beruk jantan (*Macaca nemestrina* L). Jika dibandingkan dengan penelitian Sutyarso⁹ terhadap monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis* L), ternyata pola penurunan volume testis pada beruk dan monyet ekor panjang selama penyuntikan TE dan DMPA adalah sama.

Berndston dan Thompson¹⁸ melaporkan bahwa sebenarnya ada banyak faktor yang mempengaruhi berat testis. Peningkatan usia berbanding lurus dengan berat testis tikus galur *Sprague Dawley*. Peningkatan berat badan juga berkorelasi positif dengan peningkatan berat testis. Artinya semakin tua usia tikus, berat testisnya akan meningkat dan semakin besar bobot badan maka berat testis akan semakin meningkat. Berat testis tikus percobaan pada penelitian ini tidak berbeda signifikan dengan kontrol, hal ini mungkin disebabkan karena kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa belum mampu menghambat spermatogenesis dengan optimal. Usia dan berat badan tikus percobaan pada awal penelitian berada pada kisaran yang sama. Oleh sebab itu dapat dikatakan bahwa berat testis tikus percobaan tidak berbeda signifikan dengan kontrol, salah satunya mungkin disebabkan karena berat badan dan usia tikus percobaan yang diberi DMPA dan ekstrak cabe jawa pada berbagai dosis percobaan juga tidak berbeda signifikan dengan kontrol.

Soeharsono¹⁹ melaporkan bahwa suntikan MPA dengan dosis 8 mg/ekor dapat menurunkan jumlah sel spermatozoa dan penyusutan garis tengah tubulus seminiferus tikus putih. Penelitian Kusmana⁸ menunjukkan

bahwa pemberian TE dan DMPA menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus dan nilai skor spermatogenesis. Hal tersebut terjadi karena adanya kerusakan struktur histologis testis secara keseluruhan. Kerusakan tersebut dapat digolongkan pada sel germinal hipoplasia ringan sampai sel germinal hipoplasia berat. Menurut Nistal dan Paniagua dalam Kusmana⁸, hialinisasi umumnya disebabkan adanya gangguan mekanisme hormon pada poros hipotalamus-hipofisis-testis.

Penurunan diameter tubulus seminiferus pada berbagai kelompok tikus percobaan yang diberikan perlakuan DMPA dan ekstrak cabe jawa mungkin disebabkan oleh mekanisme yang sama. DMPA adalah derivat progestin yang sudah dikenal cukup lama untuk kontrasepsi hormonal.⁷ Efek samping dari DMPA salah satunya adalah menyebabkan hambatan spermatogenesis.⁷ DMPA yang dikombinasikan dengan testosteron dapat menyebabkan hambatan pada spermatogenesis sehingga menurunkan produksi sperma.^{20,21} Di dalam plasma DMPA berikatan dengan albumin. Konsentrasi DMPA dalam serum secara umum dipertahankan kira-kira selama 3 bulan, namun secara berangsur-angsur menurun.²² DMPA memasuki sel dan terikat pada reseptor yang tersebar antara inti dan sitoplasma. Kompleks ligan-reseptor membentuk suatu dimer sebelum terikat pada DNA.²³

Mekanisme DMPA dapat menghambat spermatogenesis bersifat multifaktorial. DMPA dapat menurunkan konsentrasi SHBG, menurunkan konsentrasi gonadotropin dalam serum dan konsentrasi testosteron. DMPA juga menghambat sel Leydig dalam proses steroidogenesis.³ Progestin menurunkan konsentrasi androgen di dalam testis dengan cara mengurangi biosintesis androgen, mengubah metabolisme

androgen dan/atau bekerja langsung pada reseptor androgen/*androgen receptor* (AR) dengan cara berkompetisi dalam berikatan dengan reseptor androgen tersebut.³

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan populasi sel Leydig dibanding dengan kontrol (Gambar 4.7). Seperti diketahui sel Leydig berperan dalam proses steroidogenesis menghasilkan testosteron yang diperlukan untuk spermatogenesis.²⁴ Biosintesis testosteron oleh sel Leydig disebabkan oleh aksi *cascade protein carrier* dan enzim steroidogenesis. Mutasi gen pada sel Leydig dapat mengakibatkan defisiensi steroidogenesis. Penurunan populasi sel Leydig dapat menyebabkan hambatan spermatogenesis.²⁵ Penelitian Ericson dan Dutt *dalam* Sutyarso⁹ pada hewan domba yang disuntik dengan derivat progesteron asetat, dilaporkan tidak hanya menyebabkan terhentinya spermatogenesis melainkan juga terjadinya atrofi sel-sel Leydig.

Penurunan populasi sel Leydig kemungkinan disebabkan karena mekanisme apoptosis yang terjadi di dalam sel. Morris *et al.*,²⁶ melaporkan bahwa apoptosis sel Leydig disebabkan karena adanya gangguan dari lingkungan luar sel. Penurunan konsentrasi gonadotropin (LH) nampaknya berkorelasi positif dengan penurunan populasi sel Leydig. Sampai saat ini belum ada data yang menjelaskan hubungan antara pengaruh pemberian hormon dengan penurunan populasi sel Leydig.

Dari hasil perhitungan data populasi sel sel Leydig, terdapat perbedaan secara signifikan antara kelompok PIV dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan dosis 3,76 mg ekstrak cabe jawa adalah dosis yang paling baik dalam penghambatan produksi sel Leydig dalam tubulus seminiferus. Seperti dilaporkan pada

penelitian sebelumnya^{10,11} bahwa cabe jawa mempunyai efek androgenik. Kandungan β -sitosterol yang ada pada cabe jawa akan dikonversi menjadi testosteron untuk menggantikan testosteron yang hilang akibat pemberian DMPA.¹⁰ Namun, kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak dapat menghambat perkembangan sel Leydig secara optimal, karena tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok KP, PI, PII dan PIII dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian “pengaruh kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa terhadap berat testis dan penurunan diameter tubulus seminiferus serta populasi sel Leydig tikus”, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa tidak menurunkan berat testis
2. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus
3. Kombinasi DMPA dan ekstrak cabe jawa dapat menurunkan populasi sel Leydig

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan kali ini para penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (DP2M) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dirjen Dikti) Departemen Pendidikan Nasional (Depdiknas) sebagai penyandang dana penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Koordinator Bidang Kesejahteraan Rakyat. Penduduk Indonesia 273 juta pada 2005. <http://menkokesra.go.id/content/view/1975/39/>. Diakses tanggal 12 Juni 2008.
2. Hair WM and Wu FC. Male contraception: prospect for the new

- millenium. *Asian Journal of Andrology* 2000;2: 3-12.
3. Handelsman DJ, Conway AJ, Howe CJ, Turner Leo, and Mackey, MA. Establishing the minimum effective dose and additive effects of depot progestin in suppression of human spermatogenesis by a testosterone depot. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996;81:4113-4121.
 4. Boroditsky R & Guilbert E. Injectable Medroxyprogesterone Acetate for contraception. *Journal SOGC* 2000;94:305-307.
 5. Black A. Canadian contraception consensus-Update on Depot Medroxyprogesterone Acetate (DMPA). *Journal SOGC* 2006;174:305-309.
 6. Moeloek N & Sutyarso. Kombinasi progestogen dengan androgen untuk kontrasepsi hormonal pada pria. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Jakarta 1995;11:737-740.
 7. Meriggiola CM and Bremner WJ. Progestin-androgen combination regimens for male contraception. *Minireview. Journal of Andrology* 1997;18(3):240-243.
 8. Kusmana D. Pengaruh penyuntikan kombinasi hormon testosteron enantat (TE) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) terhadap spermatogenesis beruk jantan yang diberi pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda (Disertasi). Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2001.
 9. Sutyarso. Pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak, dan karbohidrat berbeda terhadap timbulnya azoospermia pada monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang disuntik kombinasi testosteron enantat (TE) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) (Disertasi). Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 1997.
 10. Nuraini A. Mengenal etnobotani beberapa tanaman yang berkhasiat sebagai apodisiaka. *InfoPOM, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia* 2003;IV(10):1-4.
 11. Sa'roni dan Pudjiastuti A. Penelitian efek androgenik dan anabolik buah cabe jawa. *Cermin Dunia Kedokteran* 1989;59:22-24.
 12. Isnawati A. Endreswari S, Pudjiastuti dan Murhandini. Efek mutagen ekstrak etanol buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl). *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 2002;1(2):63-67.
 13. Wahjoedi B, Pudjiastuti, Adjimi, Nuratmi B dan Astuti Y. Efek androgenik ekstrak etanol cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) pada anak ayam. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 2004;3(2):201-204.
 14. Moeloek N, Yurnadi, Lestari SW, Wahjoedi B dan Hanani E. Uji klinik ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) sebagai fitofarmaka androgenik pada pria hipoonad. Laporan penelitian, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI. Jakarta 2006;1-14.
 15. Steel RGD and Torrie JH. Prinsip dan prosedur statistika (suatu pendekatan biometrik). PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta 1993;559-649.
 16. Dahlan MS. Statistika untuk kedokteran dan kesehatan. PT Arkans. Jakarta 2004;85-121.
 17. Yurnadi, Sari P, Suryandari DA. Pengaruh kombinasi Muira puama, damiana, dan Siberian ginseng (MDS) terhadap berat badan, testis, tubulus seminiferus, dan sel Leydig tikus strain Sprague-Dawley. *Majalah Kedokteran Indonesia* 2006;56(5):357-363.
 18. Berndston WE and Thompson LT. Changing relationship between testis size, Sertoli cell number and spermatogenesis in *Sprague Dawley* rat. *Journal of Andrology* 1990;11:429-435.
 19. Soeharsono. Histologik testis tikus putih yang diberi suntikan medroksiprogesteron asetat. *Research Center of Demography and Development Airlangga University* 1999;413-414.
 20. Ilyas S. Azoospermia dan pemulihannya melalui regulasi apoptosis sel spermatogenik tikus (*Rattus sp*) pada penyuntikan kombinasi testosteron undekanoat (TU) dan depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) (Disertasi). Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta 2007.
 21. Moeloek N, Pujiyanto DA, Agustin R, Arsyad KM, Waluyo P, *et al.*, Achieving azoospermia by injections of testosterone undecanoate alone or combined with depot medroxyprogesterone acetate in Indonesian men (Jakarta center study). *Proceedings of the VIIth International Congress of Andrology*. Montreal, Canada. Medimond Publishing Company 2001;545-550.
 22. Turner L, Conway AJ, Jimenez M, Liu PY, Forbes E, *et al.* Contraceptive

efficacy of a depot progestin and androgen combination in men. The journal of clinical endocrinology&metabolism 2003;88(10):4659-4667.

23. Katzung BG. Farmakologi dasar dan klinik. (Tim Farmakologi FK. Unsri, Penerjemah). EGC. Jakarta 1997: 641-651.
24. Federman DD. The biology of human sex differences. The New England Journal of Medicine 2006;354(14):1507-1514.
25. Zhang FP, Pakarainen T, Zhu F, Poutanen M and Huhtaniemi I. Molecular Characterization of Postnatal Development of Testicular Steroidogenesis in Luteinizing Hormone Receptor Knockout Mice. Endocrinology 2004;145(3):1453-1563.
26. Morris AJ, Taylor MF and Morris ID. Leydig Cell Apoptosis in Response to ethane dimethanesulphonate after both *in vivo* and *in vitro* Treatment. Journal of Andrology 1997;18(3):274-280.

