



UNIVERSITAS INDONESIA



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 MEDROKSI PROGESTERON ASETAT (DMPA)

DISERTASI

Untuk memperoleh gelar Doktor dalam Ilmu Biomedik
pada Universitas Indonesia di Jakarta
untuk dipertahankan di hadapan Sidang Terbuka Senat Guru Besar
Universitas Indonesia di bawah pimpinan Rektor Universitas Indonesia
Profesor dr. M.K. Tadjudin pada hari Rabu, tanggal 24 Desember 1997,
pukul 10.00 wib di Aula Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Kampus Salemba Jakarta

SUTYARSO

PROGRAM PASCASARJANA
1997

D
636.0885
Sut
P
(1)
S.

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 MEDROKSI PROGESTERON ASETAT (DMPA)

DISERTASI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

JAKARTA, 15 DESEMBER 1997

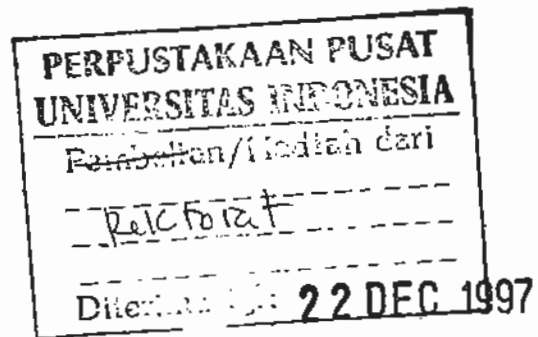


Prof. Dr. Nana Suhana
Promotor

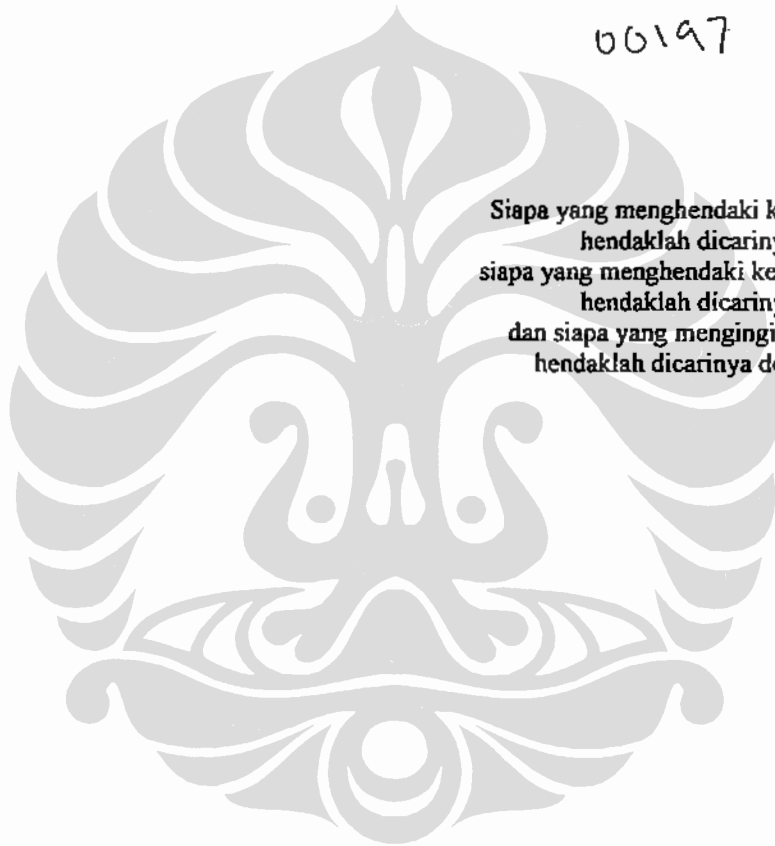
Dr. Nukman Moeloek, dr.
Ko-Promotor

PANITIA PENGUJI

- Ketua** : Prof. M. K. Tadjudin, dr.
Guru Besar Ilmu Biologi FKUI
Rektor Universitas Indonesia
- Ketua Pelaksana** : Prof. Dr. Oentoeng Soeradi
Guru Besar Ilmu Biologi FKUI
- Anggota** : Prof. Soemilah Sastroamidjojo, dr
Guru Besar Ilmu Gizi FKUI
- Dr. Rianto Setiabudy, dr.
Lektor Kepala Bagian Farmakologi FKUI
- Dondin Sayuthi, drh, PhD.
Lektor Kepala Bagian Biokimia FKH IPB
- Prof. Dr. HJ Freisleben
Konsultan Ilmu Biomedik Pascasarjana UI
Peneliti Senior Ilmu Biokimia dari
Faculty of Medicine University Clinical Hospital
in Frankfurt, Jerman.
- Dr. Tuty Laswardi Yusuf, drh, M.Sc.
Lektor Kepala Bagian Reproduksi dan Kebidanan
Fakultas Kedokteran Hewan IPB



00197



Siapa yang menghendaki kehidupan dunia
hendaklah dicarinya dengan ilmu,
siapa yang menghendaki kehidupan akhirat
hendaklah dicarinya dengan ilmu,
dan siapa yang menginginkan keduanya,
hendaklah dicarinya dengan ilmu pula

(Al Hadits)

“Nggugu Tinemu, Runtut Lumintu”
(Wejangan Ibu-ku: Almarhumah Ginem Adipawiro Binti Setro)

Ucapan Terima Kasih

Yang pertama dan utama saya panjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan kurnianya serta berbagai kemudahan yang telah diberikan kepada saya dan keluarga sehingga perjalanan panjang selama mengikuti program pascasarjana telah saya lampau dengan baik.

Sembah sungkem dan terima kasih yang tiada terhingga saya haturkan kepada almarhumah ibuku Ginem Adipawiro yang wafat tahun 1990 justru pada saat saya sedang mengikuti program S2; demikian juga kepada ayahku Sangido Adipawiro yang sekarang sudah berusia 86 tahun. Kedua orang tuaku itulah yang dengan sabar dan penuh kasih sayang serta tanggung jawab telah membimbing dan mendidik saya, dengan harapan kelak saya menjadi orang yang berguna bagi masyarakat dan agama. Ya Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang, ampunilah dosa kedua orang tuaku, sayangilah mereka sebagaimana mereka menyayangiku diwaktu kecil, dan terimalah amal ibadahnya, amiin.

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya haturkan kepada:

Prof. Dr. Nana Suhana, Ketua program studi Biomedik, yang telah berkenan menjadi promotor, beliau ini telah banyak meluangkan waktu untuk saya dalam membimbing yaitu; sejak mulai mengikuti program doktor, persiapan penelitian, selama penelitian dan selama penulisan disertasi. Dengan penuh kesabaran dan tanggung jawab, beliau telah memungkinkan saya mengerjakan penelitian hibah URGE hal inilah yang paling

mendasar karena apa yang akan bisa saya perbuat dan apa yang akan terjadi, jika seandainya dana penelitian ini tidak ada, mengingat penelitian ini memerlukan biaya yang sangat besar. Prof. Dr. Nana Suhana, telah memberi kesan tersendiri di hati saya.

Dr. Haji Nukman Helwi Moeloek, dr, dosen ahli andrologi yang telah berkenan bertindak sebagai ko-promotor, serta pengarah dan petunjuk yang sangat berharga dan telah memberi perhatian penuh dalam menyelesaikan penelitian serta kritik-kritik dan koreksi yang berharga dalam penulisan disertasi ini..

Prof. Dr. Oentoeng Soeradi, Kepala Bagian Biologi FKUI yang telah memberikan berbagai kemudahan untuk penelitian dan saran-saran berharga dalam penulisan disertasi ini.

Prof. Dr. Iskandar Wahidiyat, dr, mantan Direktur dan Prof. Dr. F.A. Moeloek, dr, Direktur Program Pascasarjana UI, yang telah menerima saya sebagai peserta program doktor program studi ilmu Biomedik, karenanya memungkinkan saya termasuk orang yang beruntung dapat memperoleh pendidikan strata tertinggi.

Tim penguji Prof. dr. Soemilah Sastroamidjoyo, Prof. Dr. Oentoeng Soeradi, Dr. Rianto Setiabudi, dr., Prof. Dr. Hans-Joachim Freisleben, Dondin Sayuti, drh, PhD., dan Dr. Tuty Laswardi Yusuf, drh, M.Sc. yang telah bersedia membagi waktunya sebagai tim penguji disertasi ini.

Tim Management Program Doktor (TMPD) dan Tim Hibah Penelitian Pascasarjana URGE Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Depdikbud Republik Indonesia, yang telah memberikan kepada saya beasiswa dan biaya penelitian.

Drh. Dondin Sayuti, PhD, Direktur Pusat Studi Satwa Primata IPB, dan Drh. I Nengah Budiarsa Kepala Laboratorium Primata IPB, yang telah memberikan ijin dan berbagai fasilitas sehingga memungkinkan penelitian saya ini berjalan dengan baik.

Dr. Tuty Laswardi Yusuf, drh, Ketua Laboratorium Fisiologi Reproduksi & Inseminasi Buatan FKH IPB, dan Drh. Ivov Rinaldi Hasibuan, Staf Peneliti PSSP IPB; beliau-beliau ini yang telah melatih dan membantu saya dalam cara-cara menggunakan alat *elektro-ejakulator* untuk pengambilan semen.

Dra. Neneng dan staf Makmal Immunoendokrinologi FKUI, yang telah mengajarkan kepada saya cara-cara dan sekaligus mengerjakan pengukuran kadar hormon dalam serum dengan teknik RIA.

Drs. Jerimeah R Camin, M.S, dosen Fakultas Biologi Universitas Nasional, yang telah mengajarkan kepada saya tentang cara penggunaan uji statistik dengan program komputer SPSS dan STATISTICA sejak mulai memasukkan data, analisis data, sampai kepada cara mengambil keputusan dari hasil uji tersebut.

Drs. Cornelis Adimunca peneliti pada Puslit Penyakit Tidak Menular Badan Litbangkes Depkes RI, teman diskusi untuk merencanakan penelitian, dan memberikan saran-saran mengenai rancangan percobaan, perkiraan hambatan dan masalah yang mungkin akan timbul selama penelitian dan cara mengatasinya sampai pada waktu peneulisan disertasi.

Adalah merupakan kewajiban bagi saya untuk selanjutnya mengucapkan terima kasih yang tiada terhingga kepada ayah mertua saya Haji Muhammad Sidiq Jailani, dan

Ibu mertua saya Hajah Ummamah yang senantiasa memberikan doa dan dorongan dalam kehidupan keluarga saya.

Kepada ke enam saudara kandung saya, Tukijem, Sukasni, Jumiyati, Drs. Poniran, Resmi, dan Drs. Subagyo; saya sangat berterima kasih atas dorongan semangat baik moril maupun materiil untuk kelancaran selama mengikuti program S2 (Magister) maupun program S3 (doktor) pada Program Pascasarjana Universitas Indonesia. Terutama kepada Drs. Poniran, beliau ini yang pertama kali membiayai saya untuk mengenyam pendidikan di perguruan tinggi pada program S1 (Sarjana) pada Universitas Nasional; karena meskipun saya sekarang telah menyelesaikan sampai jenjang doktor, tetapi semuanya harus melalui pendidikan tingkat sarjana terlebih dahulu.

Akhirnya saya ingin menyampaikan terima yang tidak tertingga kepada isteri saya Dra. Siti Latifah, sebagai pendamping hidup saya yang tidak pernah miskin dalam doa dan dorongan semangat untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini. Kepada anak-anak saya yang tercinta Tika, Qorri dan Nida, mereka merupakan salah satu sumber kekuatan hidup saya, lahir dan batin.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan segala rahmat dan hidayahNya kepada kita semua. Amin.

Jakarta, Desember 1997

Sutyarso

DAFTAR ISI

Bab	Halaman
Ucapan terima kasih	i
Daftar isi	v
Dafatar tabel	xiii
Daftar gambar	xi
Daftar lampiran	xii
Daftar singkatan dan istilah	xiv
BAB	
I. PENDAHULUAN	
1. Latar belakang penelitian	1
2. Permasalahan penelitian	7
3. Tujuan dan kegunaan penelitian	9
4. Hipotesis penelitian	10
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Testis	
1. Perkembangan testis pada primata	12
2. Spermatogenesis	13
3. Pengendalian spermatogenesis oleh hormon	17
4. Pematangan spermatozoa	21
B. Kontrasepsi Pria dengan hormon	
1. Analog GnRH	24
2. Testosteron	27
3. Kombinasi androgen dan progesteron	31
C. Komponen Makanan dan Hubungannya dengan Spermatogenesis	
1. Karbohidrat	35
2. Lemak	36
3. Protein	38
4. Protein pengangkut androgen	39
5. Mineral	41
6. Diit dan hubungannya dengan androgen	41

III. BAHAN DAN CARA KERJA

A. Bahan Penelitian

1. Hewan model	47
2. Pakan monyet	48
3. Bahan kimia dan hormon	48
4. Alat penelitian	49

B. Cara Kerja

1. Rancangan percobaan	49
2. Penetapan jumlah monyet	50
3. Menentukan umur monyet	51
4. Cara perlakuan pada hewan coba	52
5. Pemberian pakan	55

C. Pengamatan Parameter Penelitian

1. Parameter yang diteliti	56
2. Menentukan jumlah dan kualitas spermatozoa	57
3. Kadar hormon dalam serum	61
4. Penetapan volume testis	64
5. Analisis statistik	65

IV. HASIL PENELITIAN

A. Parameter Fisik

1. Berat badan	66
2. Volume testis	69

B. Jumlah dan Kualitas Spermatozoa

1. Volume semen	71
2. Frekuensi azoospermia	73
3. Konsentrasi spermatozoa	76
4. Viabilitas spermatozoa	81
5. Motilitas spermatozoa	86
6. Morfologi spermatozoa	90
7. Integritas membran spermatozoa	95

C. Hormon dalam Serum

1. Kadar testosteron bebas	101
2. Kadar testosteron total	107
3. Kadar estradiol	112

4. Kadar FSH	115
5. Kadar LH	120
V. PEMBAHASAN	
A. Keadaan Nutrisi dan Fungsi Testis	125
B. Konsentrasi Spermatozoa dan Frekuensi Azoospermia	127
C. Kualitas Spermatozoa	135
1. Metabolisme sel-sel spermatogenik	135
2. Pematangan spermatozoa	137
D. Hormon Steroid	149
E. Hormon Gonadotropin	155
VI. RINGKASAN DAN KESIMPULAN	
A. Ringkasan	162
B. Kesimpulan	167
C. Saran	169
SUMMARY AND CONCLUSION	171
DAFTAR PUSTAKA	177
LAMPIRAN A - CONTOH CARA MEMBUAT PAKAN DAN PERHITUNGAN STATISTIK	193
LAMPIRAN B - SISA PAKAN DAN DATA ASLI TIAP PARAMETER ...	204
RIWAYAT HIDUP	242

DAFTAR TABEL

Tabel	Naskah	Halaman
I.	Faktor konversi untuk bilik hitung Neubauer dan hubungannya dengan pengenceran	58
II.	Berat badan ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	66
III.	Berat rata-rata sisa pakan yang dimakan oleh ketiga kelompok monyet selama 90 hari masa adaptasi	68
IV.	Volume testis ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	69
V.	Volume semen ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	71
VI.	Frekuensi timbulnya azoospermia pada ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	74
VII.	Konsentrasi spermatozoa pada ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	77
VIII.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap konsentrasi spermatozoa ...	78
IX.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap konsentrasi spermatozoa	79
X.	Persentase spermatozoa hidup pada ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	82
XI.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap persentase spermatozoa hidup ...	83
XII.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap persentase spermatozoa hidup	84
XIII.	Jumlah spermatozoa motil pada ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca</i>	

	<i>fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	87
XIV.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap jumlah spermatozoa motil	88
XV.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap persentase spermatozoa motil ..	89
XVI.	Persentase spermatozoa bentuk normal pada ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	91
XVII.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap persentase spermatozoa bentuk normal	92
XVIII.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap persentase spermatozoa bentuk normal	93
XIX.	Persentase spermatozoa membran normal pada ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	96
XX.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap persentase spermatozoa membran normal	97
XXI.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap persentase spermatozoa membran normal	98
XXII.	Kadar hormon testosteron bebas ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	101
XXIII.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap kadar testosteron bebas.....	102
XXIV.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap kadar testosteron bebas	103
XXV.	Hasil uji BNT interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan terhadap kadar testosteron bebas	104
XXVI.	Kadar hormon testosteron total ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	107

XXVII.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap kadar testosteron total.....	108
XXVIII.	Hasil uji BNT interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan terhadap kadar testosteron total	109
XXIX.	Kadar hormon estradiol ketiga kelompok monyet jantan (<i>Macaca fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	112
XXX.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap kadar estradiol.....	113
XXXI.	Kadar hormon FSH ketiga kelompok monyet jantan (<i>M fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	115
XXXII.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap kadar FSH	116
XXXIII.	Hasil uji BNT waktu pengmatan terhadap kadar FSH	116
XXXIV.	Hasil uji BNT interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan terhadap kadar FSH	117
XXXV.	Kadar hormon LH ketiga kelompok monyet jantan (<i>M fascicularis</i>) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA	121
XXXVI.	Hasil uji BNT kelompok pakan terhadap kadar LH	122
XXXVII.	Hasil uji BNT waktu pengamatan terhadap kadar LH	122

DAFTAR GAMBAR

Naskah

Gambar	Halaman
1. Stadia siklus spermatogenesis pada primata	15
2. Pengendalian spermatogenesis oleh hormon	19
3. Skema pengendalian spermatogenesis yang dikontrol oleh FSH, LH dan testosteron	20
4. Skema peranan komponen makanan dalam spermatogenesis	35
5. Biosintesis hormon steroid	37
6. Model interaksi antara steroid, SHBG dan reseptor SHBG pada membran sel target	40
7. Diagram cara dan lamanya penyuntikan kombinasi TE dan DMPA ...	53
8. Alat elektro-ejakulator	57
9. Pembagian testis secara imajiner untuk penentuan volume testis ...	64
10. Grafik pertambahan berat badan	67
11. Grafik volume testis	70
12. Grafik volume semen	72
13. Grafik persentase timbulnya azoospermia	75
14. Grafik konsentrasi spermatozoa	80
15. Grafik persentase spermatozoa hidup	85
16. Grafik persentase spermatozoa motil	90
17. Grafik persentase spermatozoa bentuk normal	94
18. Grafik persentase spermatozoa membran normal	99
19. Grafik kadar hormon testosteron bebas	106
20. Grafik kadar hormon testosteron total	111
21. Grafik kadar hormon estradiol	114
22. Grafik kadar hormon FSH	119
23. Grafik kadar hormon LH	123

DAFTAR LAMPIRAN

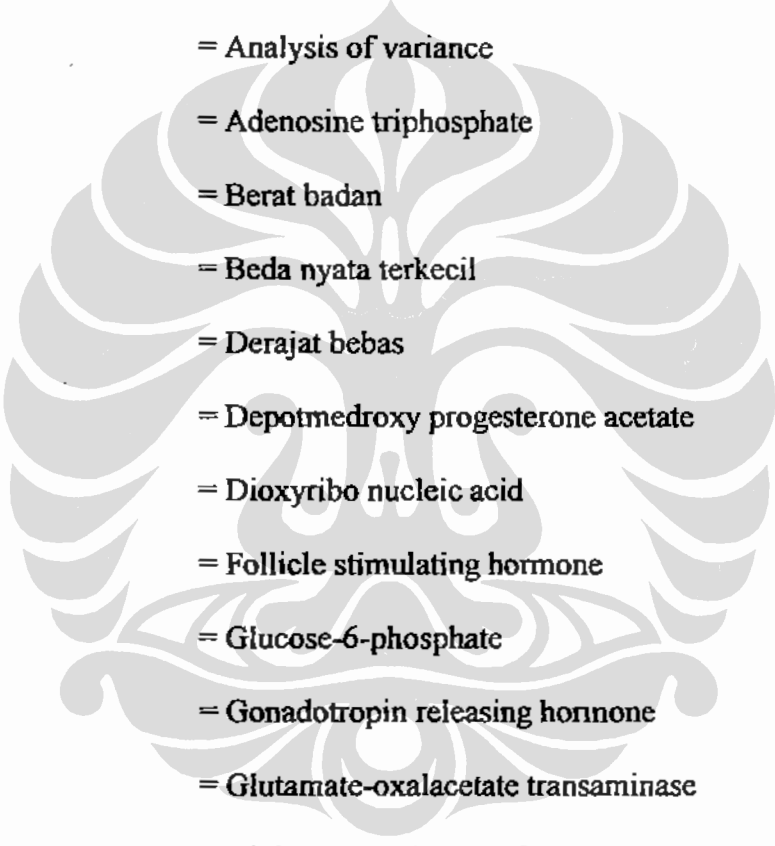
Lampiran A

Halaman

1. Cara membuat pakan monyet dengan kadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda.	193
2. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap perubahan berat badan	197
3. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap perubahan berat sisa pakan	197
4. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap volume testis kanan	198
5. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap volume semen	198
6. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap konsentrasi spermatozoa	199
7. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap viabilitas spermatozoa	199

8. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap motilitas spermatozoa	200
9. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap morfologi spermatozoa	200
10. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap integritas membran spermatozoa	201
11. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar testosteron bebas	201
12. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar testosteron total	202
13. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar estradiol	202
14. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar hormon FSH	203
15. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (<i>Macaca fascicularis</i>) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar hormon LH	203

DAFTAR SINGKATAN ISTILAH



ABP	= Androgen binding protein
ADP	= Adenosine diphosphate
AMPc	= Adenosine monophosphate cyclic
ANOVA	= Analysis of variance
ATP	= Adenosine triphosphate
BB	= Berat badan
BNT	= Beda nyata terkecil
DB	= Derajat bebas
DMPA	= Depotmedroxy progesterone acetate
DNA	= Dioxyribo nucleic acid
FSH	= Follicle stimulating hormone
G-6-P	= Glucose-6-phosphate
GnRH	= Gonadotropin releasing hormone
GOT	= Glutamate-oxalacetate transaminase
HDL	= High density lipoprotein
HDL-c	= High density lipoprotein-cholesterol
Hep-G2	= Hepatoma-G2 cells
HOPT	= Hamster ova penetrating test
HOS	= Hypoosmotic swelling
i.m.	= Intramuscular

JK	= Jumlah kuadrat
KB	= Keluarga Berencana
kg	= Kilogram
KoA	= Koenzim-A
KT	= Kuadrat Tengah
L	= Liter
LDH	= Lactate dehydrogenase
LDL	= Low density lipoprotein
LH	= Luteinizing hormone
LSD	= Least significant different
μ L	= mikroliter
mA	= mili Ampere
MB	= Maximum binding
mg	= miligram
mIU	= mili International Unit
Mkal	= Molarkalori
mL	= mililiter
mm	= milimeter
NAD	= Nicotine amide dinucleotide
ng	= nanogram
NSB	= Nonspesific binding
19NTHPP	= 19 nortestosterone hexyloxyphenyl propionate

pg	= pikogram
PEG	= Polyethylene glycole
P-mod-S	= Promote-modulation-Sertoli
QC	= Quality control
RIA	= Radioimmunoassay
RNA	= Ribonucleic acid
SBP	= Steroid binding protein
SD	= Standard deviation
SHBG	= Sex Hormone Binding Globulin
SPSS	= Statistical Package for Social Scientist
TE	= Testosterone enanthate
TeBG	= Testosterone estradiol binding globulin
WHO	= World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Penelitian

Upaya menekan laju pertumbuhan penduduk sangat erat kaitannya dengan program keluarga berencana (KB). Salah satu sebab terjadinya penurunan angka kelahiran adalah berhasilnya pelaksanaan gerakan nasional KB, yang telah dimulai sejak tahun 70-an. Di Indonesia pelaksanaan KB dinilai cukup berhasil dan telah diakui oleh masyarakat dunia. Laporan Biro Pusat Statistik (BPS) tahun 1993 (1), menyatakan bahwa dari populasi wanita berumur 15-49 tahun yang sedang ber-KB; sebanyak 33,05% menggunakan alat kontrasepsi pil, 29,21% dengan suntikan, dan 22,62% dengan cara menggunakan spiral. Dari laporan tersebut terungkap bahwa cara KB yang melibatkan partisipasi kaum pria masih sangat rendah, lagi pula terbatas hanya dengan menggunakan alat KB kondom 1,11% dan vasektomi 1,35%.

Salah satu penyebab rendahnya partisipasi pria dalam program KB, di antaranya disebabkan terbatasnya pilihan alat kontrasepsi pria. Tersedianya berbagai macam cara kontrasepsi memungkinkan seseorang memakai kontrasepsi sesuai dengan keinginannya. Sehingga semakin banyak kontrasepsi yang tersedia, semakin besar pula kemungkinan seseorang untuk memakai kontrasepsi itu. Agar lebih mendorong kaum pria untuk berperan aktif dalam mengikuti program KB, maka sangatlah tepat untuk lebih banyak

menyediakan jenis kontrasepsi untuk pria, sehingga kaum pria memiliki berbagai alternatif yang sesuai dengan pilihannya (2). Kontrasepsi pria dengan cara pemberian hormon, merupakan salah satu alternatif yang banyak diteliti dengan sasaran utamanya adalah pengendalian proses spermatogenesis melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis (3,4). Metoda pendekatan semacam ini, didasarkan pada pengetahuan bahwa spermatogenesis sangat tergantung pada sekresi gonadotropin yaitu LH (*luteinizing hormone*) dan FSH (*follicle stimulating hormone*) oleh kelenjar hipofisis.

Hormon LH bekerja menginduksi sel Leydig untuk memproduksi testosteron, sedangkan FSH diperlukan untuk mengontrol fungsi sel Sertoli guna memproduksi zat-zat makanan yang diperlukan untuk perkembangan normal sel-sel germinal selama proses spermatogenesis. Baik FSH, LH maupun testosteron, ketiganya diperlukan untuk mempertahankan dan memelihara proses spermatogenesis (3-5). Terhambatnya sekresi LH dan FSH, akan menyebabkan infertilitas sementara dalam bentuk oligozoospermia atau azoospermia (3-7).

Oleh karena testosteron mempunyai efek bifasik terhadap spermatogenesis, maka meningkatnya kadar testosteron plasma 40% di atas kadar fisiologis (6), atau menurunnya kadar testosteron di bawah normal dapat menimbulkan azoospermia (8). Keadaan ini disebabkan kadar testosteron yang tinggi di dalam plasma darah bersifat menghambat sekresi FSH dan LH, yang dalam keadaan normal kedua hormon tersebut diperlukan untuk mempertahankan spermatogenesis (5,8). Kadar testosteron di bawah

normal dapat menyebabkan defisiensi testosteron intra-tubulus seminiferus sehingga terjadi hambatan spermatogenesis dalam bentuk oligozoospermia atau azoospermia (5-8).

Depot medroksiprogesteron asetat (DMPA) yang dikombinasikan dengan testosteron enantat (TE), mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan menjadi bahan kontrasepsi pria, karena sangat efektif dalam menghambat sekresi FSH dan LH (8). Hal ini akan berakibat menurunnya biosintesis testosteron intra-testikuler (9-11), sehingga terjadi oligozoospermia atau azoospermia (12-14).

Selama proses spermatogenesis, hormon FSH dan testosteron intra-testikuler yang bekerja secara sinergis diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi sel-sel germinal sampai terbentuk spermatozoa yang fungsional. Di samping itu, terutama testosteron intra-testikuler, diperlukan untuk pembelahan reduksi serta proses pematangan spermatozoa baik selama berada di dalam tubulus seminiferus atau di dalam epididimis (5,11). Bila terjadi hambatan biosintesis, sekresi dan transportasi hormon tersebut, misalnya oleh karena pemberian kombinasi DMPA dan TE maka yang mungkin terjadi adalah menurunnya jumlah dan kualitas spermatozoa (2,8,12-17).

Hasil uji klinik di Austria menunjukkan bahwa relawan yang mula-mula disuntik 1000 mg DMPA dan diikuti dengan kombinasi 150 mg DMPA + 250 mg TE tiap bulan selama 4-5 bulan, ternyata 50% relawan menjadi azoospermia (15). Di samping itu penyuntikan 200 mg TE saja tiap minggu selama 12 bulan, pada pria di tiga kota di Cina 91% menjadi azoospermia; sebaliknya untuk negara maju seperti di kota Paris Perancis,

Seattle Amerika Serikat, Stockholm Swedia, dan Sydney Australia rata-rata 60% mengalami azoospermia (16).

Di Indonesia, penelitian penyuntikan kombinasi TE dan DMPA juga telah dilakukan. Dilaporkan 10 relawan yang disuntik 200 mg TE + 250 mg DMPA tiap bulan selama tiga bulan, ternyata semua relawan (100%) mengalami azoospermia. Pemulihan terjadi pada bulan ke 6 atau setelah 2,5 siklus spermatogenesis, yaitu jumlah spermatozoa mencapai 20 juta/ml (13). Moeloek tahun 1993 (12) melaporkan hasil penelitiannya bahwa 45 relawan yang disuntik 200 mg TE tiap minggu selama 6 minggu mulai minggu ke 0 yang dilanjutkan tiap 3 minggu sampai minggu ke 24, yang diikuti dengan penyuntikan 250 mg DMPA tiap 6 minggu dimulai minggu ke 0 sampai minggu ke 18; ternyata relawan yang mengalami azoospermia mencapai 95,7%. Dilaporkan pula pemulihan terjadi mulai bulan ke 6,5 atau sekitar 2,5 siklus spermatogenesis.

Timbul permasalahan yang menarik, bahwa pengaruh pemberian TE tunggal atau kombinasinya dengan DMPA, dapat menimbulkan hambatan spermatogenesis yang berbeda antara orang-orang Kaukasia dengan Asia. Pada orang Kaukasia, terjadinya azoospermia tidak lebih dari 65% (8,14,15,17,18), sedangkan orang Asia mencapai sekitar 95-100% (12,13). Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan persentase kadar lemak, protein dan karbohidrat yang dimakan oleh orang-orang Kaukasia dan Asia. Di samping perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia tersebut, terlihat pula adanya perbedaan waktu dan lama terjadinya oligozoospermia atau azoospermia. Pada orang Kaukasia supresi

spermatogenesis maksimal dicapai antara minggu ke 11 sampai minggu ke 22 selama penyuntikan kombinasi TE dan DMPA (8, 14-18), sedangkan pada orang Asia keadaan tersebut dicapai antara minggu ke 4 sampai minggu ke 28 (2,12,13).

Komposisi makanan orang Kaukasia umumnya tinggi lemak dan protein tetapi rendah karbohidrat; sebaliknya untuk orang Asia komposisi makanannya adalah tinggi karbohidrat tetapi rendah lemak dan protein (19-23). Dengan kata lain, sumber energi utama untuk orang Kaukasia adalah lemak, sedangkan bagi orang Asia adalah karbohidrat.

Keadaan komposisi makanan, tampaknya merupakan suatu faktor yang mengatur produksi beberapa protein pengangkut androgen misalnya SBP (*steroid binding protein*), TeBG (*testosterone estradiol binding globulin*) atau SHBG (*sex hormone binding globulin*). Dalam keadaan normal SBP (24-26), TeBG (27,28), dan SHBG (29) berfungsi mempertahankan kesetimbangan dan disosiasi pengikatan androgen antara sistem sirkulasi dengan sel target (29,30). Rendahnya protein pengangkut tersebut di dalam plasma darah, dapat menyebabkan tingginya androgen bebas, dan ini mungkin yang menyebabkan efek umpan balik negatif ke hipofisis menjadi lebih efektif (24,29,30). Perbedaan efektivitas demikian ini diduga akan menyebabkan pula perbedaan tingkat atau derajat supresi dan sekresi FSH dan LH antara orang-orang Kaukasia dan Asia.

Di samping itu telah dibuktikan bahwa kemampuan SBP mengikat (*binding capacity*) terhadap hormon seks (androgen dan estrogen) pada hewan yang diberi makanan rendah kalori, adalah lebih rendah dibandingkan dengan hewan uji yang diberi makanan

tinggi kalori (24,28). Hal ini berarti bahwa jumlah dan daya ikat suatu protein pengikat androgen, merupakan faktor pembatas yang dapat menentukan banyaknya androgen bebas dalam sirkulasi darah.

Beberapa keadaan di atas, dapat memberi gambaran bahwa jenis sumber kalori yang dikonsumsi oleh tubuh, kemungkinan berhubungan dengan pengaturan fertilitas pada pria. Dengan demikian dapat diduga bahwa rendahnya hambatan spermatogenesis pada orang Kaukasia pasca penyuntikan TE dan DMPA di bandingkan orang Asia, dapat disebabkan tingginya SHBG, sehingga menyebabkan androgen bebas dalam darah menjadi lebih rendah. Ada petunjuk bahwa biosintesis SHBG oleh sel-sel hepatoma (Hep-G2) *in vitro* dihambat oleh insulin tetapi dirangsang oleh tiroksin (31). Hasil studi epidemiologi juga menunjukkan bahwa SHBG berkorelasi positif dengan umur, kadar testosteron total, dan hormon tiroksin; tetapi berkorelasi negatif dengan insulin dan trigliserida, sehingga diasumsikan bahwa regulasi SHBG berhubungan dengan metabolisme zat-zat gizi yaitu lemak, protein dan karbohidrat (32).

Dengan demikian diduga bahwa efek terjadinya azoospermia yang lebih rendah pada pria Kaukasia, mungkin disebabkan oleh tingginya SHBG sehingga androgen bebas dalam darah relatif lebih rendah. Bila kondisi semacam ini berlangsung terus terutama akibat pemberian TE dan DMPA, maka efek umpan balik negatif ke hipofisis juga menjadi lebih rendah, sehingga efektifitasnya dalam menginduksi terjadinya azoospermia menjadi rendah pula. Keadaan sebaliknya terjadi pada pria Asia, yang komposisi makanannya rendah lemak

dan protein. Hal ini mungkin menyebabkan kadar SHBG dalam darah lebih rendah, sehingga androgen bebas dalam darah menjadi lebih tinggi, ini berarti androgen yang terikat pada SHBG lebih sedikit. Dalam keadaan demikian androgen bebas dalam darah menjadi tinggi, dan inilah yang diduga menyebabkan terjadinya azoospermia lebih banyak pada ras Asia. Dengan kata lain, ada perbedaan efektivitas penyuntikan kombinasi TE dan DMPA terhadap timbulnya azoospermia antara pria Kaukasia dengan pria Asia.

Kemungkinan adanya pengaruh makanan lemak tinggi dan protein tinggi terhadap spermatogenesis pada pria yang disuntik TE dan kombinasinya dengan DMPA sangat penting untuk dibuktikan, karena penyuntikan TE dan DMPA pada populasi yang mengkonsumsi lemak dan protein tinggi tidak efektif 100%. Seperti telah diketahui bahwa suatu kontrasepsi yang baik harus memenuhi beberapa kriteria antara lain efektif, aman, reversibel dan dapat diterima oleh masyarakat (2-4, 12,13).

Untuk melakukan penelitian tersebut diperlukan adanya dua populasi atau lebih yang pola makannya betul-betul dapat dikontrol. Karena pada manusia hal tersebut tidak mungkin dilakukan, maka harus dicari hewan percobaan yang dapat mewakili atau menjawab permasalahan tersebut. Oleh karena itu kami gunakan monyet ekor panjang, karena jenis ini tergolong hewan primata yang mempunyai banyak persamaannya dengan manusia dan masih mudah didapat di Indonesia (33).

2. Permasalahan penelitian

Dari uraian di atas terlihat bahwa ada perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia

akibat pemberian TE dan atau kombinasinya dengan DMPA antara pria Kaukasia dengan pria Asia, dalam hal ini pada pria Kaukasia frekuensi terjadinya azoospermia lebih rendah daripada pada pria Asia. Perbedaan tersebut mungkin karena faktor genetik atau faktor lingkungan. Di antara faktor lingkungan tersebut mungkin karena adanya perbedaan susunan nutrisi. Susunan nutrisi orang Kaukasia umumnya tinggi lemak dan protein, serta rendah karbohidrat; sebaliknya umumnya orang Asia rendah lemak dan protein, sedangkan karbohidratnya tinggi (19-23,34). Karena itu kami menduga bahwa faktor nutrisi tersebut berperan dalam menentukan terjadinya perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia akibat pemberian TE dan atau kombinasinya dengan DMPA antara pria Kaukasia dengan pria Asia. Namun sampai sekarang belum ada penelitian yang membuktikan bahwa perbedaan nutrisi tersebut itulah yang menyebabkan terjadinya perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia antara orang Kaukasia dengan orang Asia tersebut.

Jadi masalahnya sampai sekarang belum diketahui apakah benar perbedaan nutrisi itulah yang menyebabkan terjadinya perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia antara orang Kaukasia dengan orang Asia tersebut. Hal ini perlu segera diketahui, sebelum kedua kontrasepsi hormonal tersebut dikembangkan lebih lanjut, karena jika benar bahwa nutrisi protein tinggi dan lemak tinggi menyebabkan frekuensi timbulnya azoospermia lebih rendah, maka kedua kontrasepsi tersebut mungkin menjadi kurang efektif untuk digunakan sebagai kontrasepsi pria. Untuk membuktikan hal tersebut digunakan monyet ekor panjang sebagai model hewan percobaan, karena jenis ini tergolong hewan primata yang mempunyai

banyak persamaannya dengan manusia dan masih mudah didapat di Indonesia (33).

3. Tujuan dan kegunaan penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian susunan nutrisi protein dan lemak tinggi versus protein dan lemak rendah terhadap perbedaan frekuensi terjadinya azoospermia pada monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA. Lebih lanjut ingin diketahui pula tentang kemungkinan bahwa frekuensi timbulnya azoospermia pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, selama kedua kelompok tersebut disuntik kombinasi TE dan DMPA.

Tujuan praktis dari penelitian ini adalah akan segera diketahui tentang efektivitas TE yang dikombinasikan dengan DMPA tersebut, agar dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kontrasepsi pria. Karena jika frekuensi azoospermia lebih rendah pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, maka ini berarti kontrasepsi tersebut hanya berlaku untuk kelompok yang makanannya mengandung protein dan lemak rendah, padahal di Indonesia pun ada kelompok masyarakat yang konsumsi protein dan lemaknya telah tinggi. Lagi pula pada saat yang akan datang ada kecenderungan konsumsi protein dan lemak pada masyarakat Indonesia akan meningkat terus sesuai dengan meningkatnya kemakmuran masyarakat sebagai hasil dari pesatnya pembangunan bangsa Indonesia. Adapun efektivitas yang ingin diketahui dari pemberian kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang

diberi pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda meliputi waktu dan lama terjadinya oligozoospermia, azoospermia, penurunan kualitas spermatozoa, dan hambatan sekresi gonadotropin FSH dan LH.

4. Hipotesis penelitian

1. Hipotesis utama

Frekuensi timbulnya azoospermia lebih rendah pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.

2. Hipotesis penunjang

- (1). Menurunnya jumlah spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.
- (2). Meningkatnya kembali jumlah spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kedua kelompok dihentikan.
- (3). Kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih buruk jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.

- (4). Konsentrasi testosteron bebas pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih tinggi, dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok monyet disuntik kombinasi TE dan DMPA.
- (5). Konsentrasi FSH dan LH pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah, dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.
- (6). Meningkatnya kembali konsentrasi FSH dan LH pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA dihentikan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Testis

1. Perkembangan testis pada primata

Testis selain merupakan kelenjar endokrin karena menghasilkan hormon, juga berfungsi sebagai kelenjar eksokrin karena menghasilkan sel-sel spermatozoa. Testis pada hewan mamalia termasuk manusia, terletak dalam kantong skrotum dan mempunyai dua lobus. Masing-masing lobus terbungkus oleh kapsula fibrosa tebal disebut tunika albugenia (35).

Pada umumnya hewan primata, testis terbentuk pada waktu fetus berumur 72 hari, dengan panjang 0,04 cm dan tubulus seminiferusnya berdiameter sekitar 70-80 μm . Pada saat itu terlihat adanya sejumlah sel-sel spermatogonia, sel Sertoli, dan sel Leydig yang sedang aktif berdiferensiasi. Pada umur 8 bulan sampai 1 tahun 3 bulan setelah lahir; jumlah spermatogonia meningkat, panjang testis menjadi 1,1 cm dengan diameter tubulus seminiferus mencapai 50-60 μm . Pada umur 2 tahun 7 bulan panjang testis meningkat menjadi 2,0 cm, sedangkan diameter tubulus seminiferus tidak berubah, pada saat ini sel Leydig bersifat epiteloid dan sel Sertoli jumlahnya meningkat (36).

Meskipun pada umur 2 tahun 9 bulan panjang testis masih tetap (2,0 cm), tetapi diameter tubulus seminiferus meningkat menjadi 70-100 μm yang ditandai dengan munculnya spermatisit. Pada saat primata berumur 2 tahun 10 bulan sampai 3 tahun, panjang

testis menjadi 2,2 cm dengan diameter tubulus seminiferus mencapai 100-150 μm . Pada usia ini pula spermatid mulai muncul dan beberapa di antaranya telah berdiferensiasi menjadi spermatozoa, sedangkan sel Leydig telah matang penuh. Spermatogenesis lengkap dan bersifat aktif secara fungsional dicapai pada saat monyet berumur 3 tahun 5 bulan sampai 4 tahun. Pada umur inilah panjang testis mencapai 3,25-4,00 cm, dan diameter tubulus seminiferusnya mencapai 250-300 μm (35).

2. Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan rangkaian proliferasi dan diferensiasi sel spermatogonia di dalam tubulus seminiferus testis membentuk spermatozoa. Lamanya spermatogenesis adalah waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan seluruh proses tersebut, termasuk tahapan dalam rangka menambah jumlah spermatogonia. Rangkaian tahapan spermatogenesis tersebut dibagi menjadi tiga tahapan. Tahap pertama, sel spermatogonia mengadakan pembelahan mitosis menghasilkan spermatosit dan sel induk spermatogonia (*stem cell*). Tahap kedua adalah tahap pembentukan spermatid yang haploid dari spermatosit melalui pembelahan reduksi (meiosis). Sedangkan tahap ketiga adalah pembentukan spermatozoa dari spermatid melalui proses spermiogenesis (37).

Dilihat secara morfologi, dinamika epitel seminiferus dapat dibagi dalam aspek sitologi dan histologi. Aspek histologi antara lain meliputi proliferasi, pembaruan (*renewal*), diferensiasi spermatogonia, meiosis spermatosit, spermiogenesis, dan spermiasi. Selanjutnya untuk memperoleh gambaran aspek histologi tersebut, maka epitel semi-

niferus secara keseluruhan harus dilihat sebagai satu kesatuan yang utuh. Dengan cara demikian akan dapat dibedakan berbagai kumpulan sel (asosiasi sel) sel epitel seminiferus yang tersebar disepanjang tubulus.

Di bawah ini akan diuraikan beberapa hal penting tentang kinetika spermatogenesis yang rumit tersebut, antara lain:

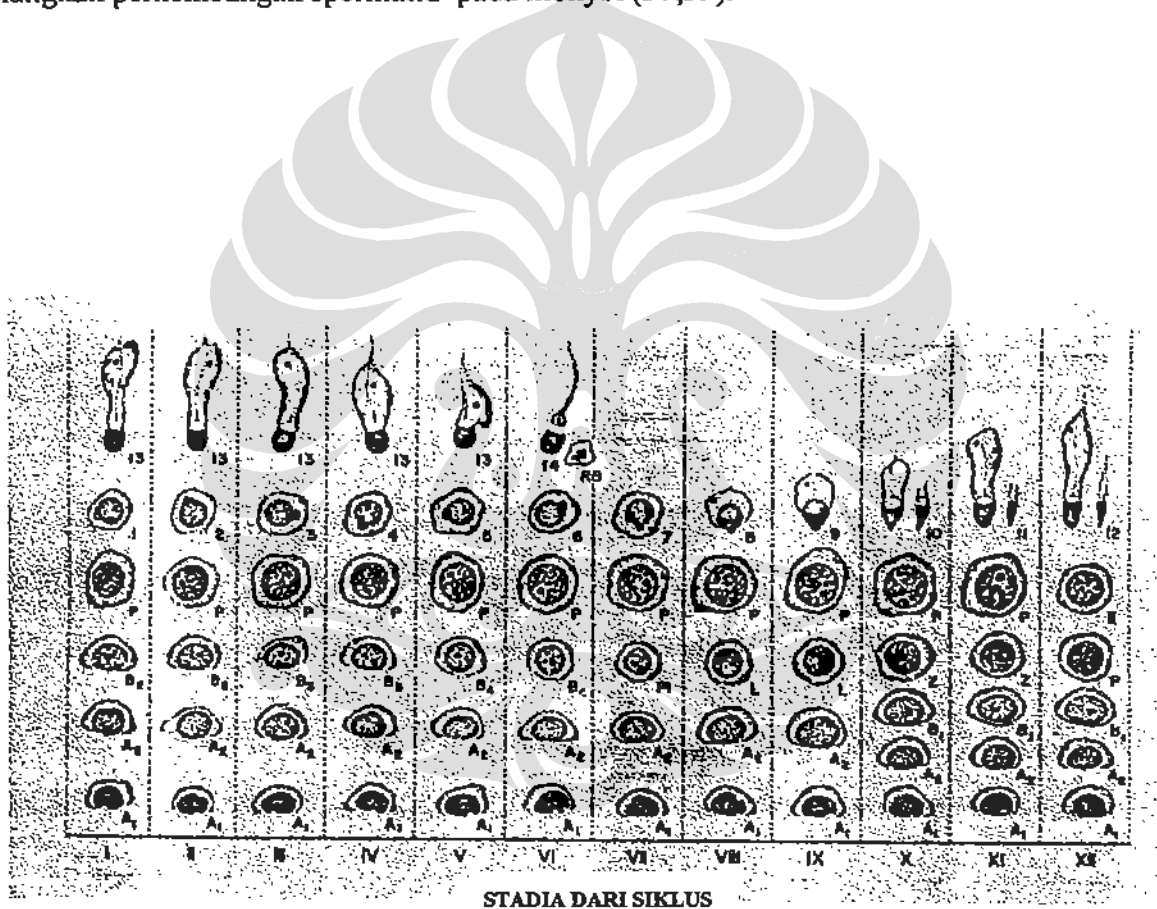
2.1 Siklus epitel seminiferus

Epitel seminiferus pada hewan mamalia dewasa terdiri atas sel Sertoli dan sel-sel kelamin (sel germinal) yang berada pada perkembangan tertentu. Adanya tingkatan perkembangan sel-sel germinal pada tubulus seminiferus tersebut, terutama disebabkan oleh perbedaan waktu proliferasi dan diferensiasi dari sel induk spermatogoninya.

Pada primata terutama jenis monyet, perkembangan pada setiap generasi spermatogonium, spermatosit, dan spermatid, sangat erat hubungannya dengan perkembangan dari generasi-generasi sel germinal lainnya pada satu area tubulus yang sama. Jadi kumpulan sel yang terdapat pada area epitel tersebut tidak tersusun secara acak, melainkan berada sangat teratur menjadi asosiasi sel tertentu. Artinya, setiap asosiasi sel selalu terdiri atau tersusun dari sel spermatogonia, spermatosit, dan spermatid yang berada pada berbagai tingkat perkembangan (Gambar 1).

Berdasarkan pada tipe asosiasi sel yang dijumpai pada potongan melintang tubulus seminiferus testis, maka spermatogenesis dibagi menjadi 14 stadia pada tikus, 12 pada mencit, 6 pada manusia, dan 12 stadia pada monyet *Macaca fascicularis* (37-39).

Tiap stadia spermatogenesis ditentukan oleh susunan asosiasi sel antara spermatogonium A, spermatogonia intermedia, spermatogonia B, spermatosit primer yang berada pada berbagai tahap profase; dan spermatid yang dibagi menjadi 19 langkah perkembangan pada tikus, 16 langkah pada mencit, 12 langkah perkembangan pada manusia (37,38,40), dan 14 langkah perkembangan spermatid pada monyet (37,39).



Gambar 1. Stadia dari siklus spermatogenesis pada primata (*Macaca fascicularis*). A, spermatogonium A; B, spermatogonium B; P1, spermatosit preleptoten; L, spermatosit leptoten; Z, spermatosit zigoten; P, spermatosit pakhtiten; angka arab 1-14 adalah Spermatid langkah 1-14; angka romawi I-XII adalah stadia dari siklus epitel seminiferus. Gambar dikutip dari: *Steinberger, 1975 (35)*.

Perkembangan epitel tubulus seminiferus dari satu stadia sampai mencapai satu stadia yang sama disebut satu siklus epitel seminiferus. Pada tikus satu siklus epitel seminiferus memerlukan waktu 12,9 hari, sedangkan satu siklus spermatogenesis terdiri atas 4 siklus epitel seminiferus. Jadi spermatogenesis pada tikus memerlukan waktu 51,6 hari (37,38). Pada mencit, waktu satu siklus epitel seminiferus dan waktu spermatogenesis masing-masing adalah 8,6 hari dan 35 hari, pada babi 8,6 hari dan 34,4 hari, dan pada manusia 16 hari dan 64 hari (35,41). Sedangkan pada monyet satu siklus epitel seminiferus memerlukan waktu 10,5 hari dan satu siklus spermatogenesis sempurna adalah 42 hari (39).

2.2 Spermiogenesis

Segara setelah terbentuk spermatosit primer, akan memasuki profase I dari pembelahan reduksi, dengan urutan menuju ke arah lumen adalah leptoten, zigoten, pakiten, diploten dan diakinesis. Setelah itu, spermatosit primer mengalami pembelahan reduksi pertama untuk membentuk spermatosit sekunder. Kemudian mengalami pembelahan reduksi kedua membentuk spermatid yang haploid (39-44). Spermatid yang terbentuk akan mengalami serangkaian perubahan morfologi yang rumit membentuk spermatozoa, dinamakan proses spermiogenesis (35). Rangkaian perubahan tersebut dapat dibagi menjadi empat fase yaitu; fase Golgi, fase tudung (cap), fase akrosom, dan fase pematangan atau maturasi (35,39,42).

Pada spermatid yang baru terbentuk, pada sitoplasma dekat inti dapat terlihat

adanya aparat Golgi. Tanda diferensiasi yang pertama ialah terlihatnya granula dalam aparat Golgi yang disebut proakrosom yang banyak mengandung karbohidrat. Pada perkembangan selanjutnya granula-granula ini bersatu membentuk granula akrosom dalam suatu kantong akrosom, melekat pada sisi luar inti. Spermatid demikian ini dikatakan dalam fase Golgi. Pada fase tudung, membran kantong akrosom tersebut memperluas area perlekatanannya pada membran inti, akhirnya melingkupi seluruh belahan anterior dari inti (35,42).

Pada fase akrosom, terjadi kondensasi nukleoplasma dan pemanjangan spermatid, serta terjadi redistribusi materi akrosom. Pada fase ini materi akrosom yang tadinya terkumpul pada ujung anterior, mulai menyebar ke dalam lipatan membran kantong akrosom membentuk tudung akrosom (35,42). Pada fase pematangan, sistem akrosom tidak mengalami perkembangan berarti, tetapi materi ini terus mengalami perkembangan sampai membentuk masa padat yang homogen. Pada awal perkembangan kantong akrosom, sentriol bergerak ke ujung berlawanan dari spermatid. Di sini sentriol distal terletak tegak lurus pada permukaan sel dan membentuk flagel spermatozoa.

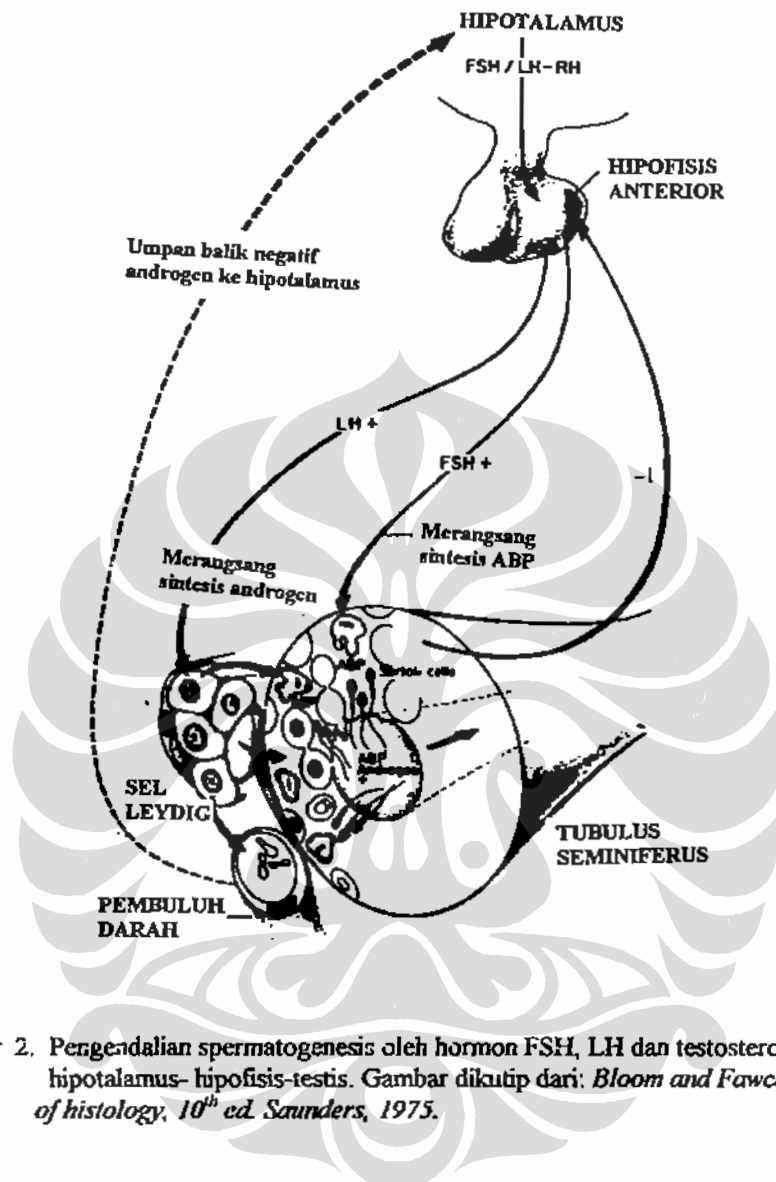
Pada primata terutama monyet, dikenal 14 tahap perkembangan spermiogenesis dan diberi nomor 1-14 (Gambar 1). Tahapan perkembangan itu ialah; tahap 1-3 termasuk fase golgi, 4-7 fase tudung, 8-12 fase akrosom, dan tahap perkembangan 13-14 adalah fase pematangan (35,37,42).

3. Pengendalian spermatogenesis oleh hormon

Proses spermatogenesis yang rumit dan kompleks tersebut, sangat tergantung pada

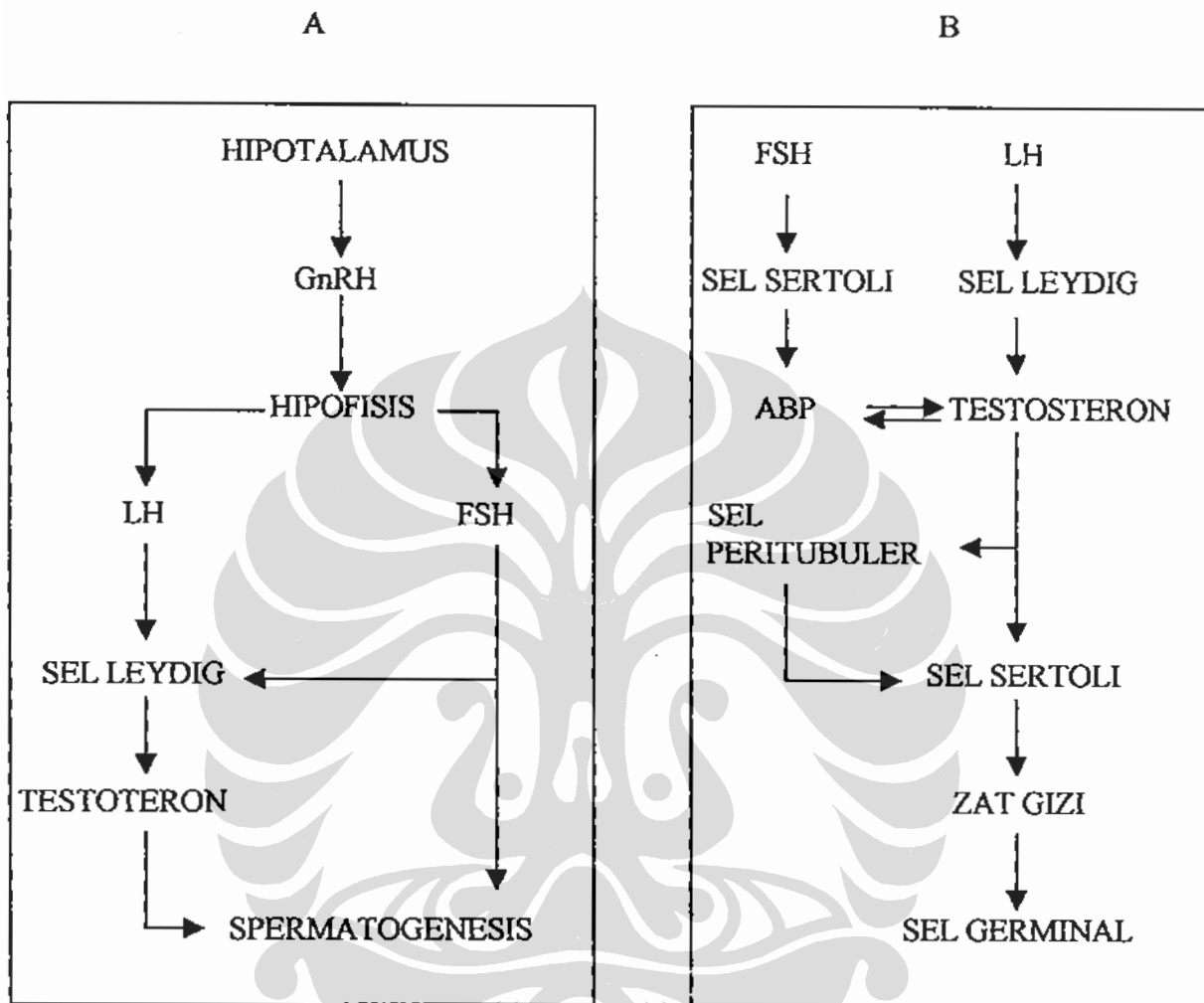
kecukupan hormon. Kelenjar hipotalamus mensekresi GnRH (*gonadotropin releasing hormone*), hormon ini kemudian merangsang kelenjar hipofisis untuk melepaskan LH dan FSH (45). Kedua hormon peptida ini penting dalam mengontrol proses seluler pada sel target yang meliputi; aliran ion, aktifitas enzim, sintesis protein, sintesis dan sekresi hormon steroid, proliferasi dan diferensiasi sel germinal, motilitas sel, dan komunikasi antar sel (46). Pentingnya hormon tersebut dalam memelihara dan mempertahankan spermatogenesis, yang dikenal dengan proses pengendalian fertilitas melalui poros *hipotalamus-hipofisis-testis* (Gambar 2).

LH merangsang sel Leydig untuk mensintesis dan mensekresikan testosteron. Sedangkan fungsi FSH meliputi, merangsang sel Sertoli untuk mensintesis ABP, memelihara pertumbuhan sel germinal, meningkatkan sensitivitas sel Leydig terhadap LH dalam proses steroidogenesis, memulai spermatogenesis tahap-tahap mitosis dan menyempurnakan spermatogenesis dalam fase spermiogenesis, dan spermiasi (5,45-48). Hormon FSH dan testosteron bekerja sinergis pada sel Sertoli untuk menghasilkan zat-zat makanan yang diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi sel-sel germinal dalam rangka menghasilkan spermatozoa yang fungsional. Di samping itu testosteron yang berdifusi ke sel-sel peri tubuler diperlukan untuk menghasilkan sejenis protein yang berfungsi sebagai faktor pemacu sel Sertoli (*P-mod-S=promote modulation Sertoli*), yang penting untuk meningkatkan aktivitas sel Sertoli guna menghasilkan zat makanan bagi sel germinal dalam tubulus seminiferus (5,47,48) (Gambar 3).



Gambar 2. Pengendalian spermatogenesis oleh hormon FSH, LH dan testosteron melalui poros hipotalamus-hipofisis-testis. Gambar dikutip dari: *Bloom and Fawcett. A Textbook of histology, 10th ed. Saunders, 1975.*

Protein pengikat androgen (ABP) yang dihasilkan oleh sel Sertoli di bawah pengendalian FSH tersebut (46), berfungsi sebagai alat pengangkut androgen dari jaringan interstitial ke epitel germinal melalui sel Sertoli. Hal ini diperkirakan merupakan salah satu cara FSH untuk meningkatkan aktivitas androgenik dari testosteron (efek sinergis) terhadap spermatogenesis.



Gambar 3. A. Skema pengendalian spermatogenesis yang dikontrol oleh FSH, LH, dan testosteron; B. Fungsi testosteron dalam merangsang sel Sertoli untuk menghasilkan makanan bagi sel-sel germinal. Gambar dikutip dari: Weinbauer and Nieschlag, 1990 (5).

Dengan demikian hubungan fungsional sel Leydig-Sertoli dapat merupakan faktor penentu terjadinya kasus infertilitas pada sebagian kecil pria infertil. Terdapatnya ABP dalam jumlah yang mencukupi di dalam lumen tubulus seminiferus testis, akan mempercepat

pendistribusian androgen di dalam tubulus seminiferus testis dan ke dalam epididimis, karena androgen ini diperlukan juga pada proses pematangan spermatozoa selama berada di dalam tubulus epididimis (45-48).

4. Pematangan spermatozoa

Secara garis besar kemampuan fungsional spermatozoa meliputi dua hal utama yaitu kemampuan gerak spermatozoa, dan kemampuan spermatozoa dalam melakukan fertilisasi (49). Sesaat setelah terbentuknya di dalam tubulus seminiferus, spermatozoa belum memiliki kemampuan tersebut. Kemampuan ini akan diperoleh setelah spermatozoa ke luar meninggalkan tubulus seminiferus testis, dan mengalami pematangan secara perlahan dan bertahap; sejak kaput, korpus, dan kauda epididimis (50).

Pada umumnya mamalia termasuk primata dan manusia proses maturasi di dalam epididimis ini memerlukan waktu 14 hari (35).

Tanpa hormon androgen, epididimis akan mengecil dan beratnya menurun hingga 25% dari normal (50). Pemberian testosteron pada hewan kastrasi, mengakibatkan berat epididimis meningkat tiga kali dibanding kontrol. Bila androgen dicegah masuk ke dalam lumen epididimis maka proporsi protein terlarut dan fosfolipid menjadi rendah, demikian juga kandungan RNANYa. Hal ini menunjukkan bahwa, untuk menjalankan fungsinya, epididimis sangat tergantung pada kecukupan androgen (51).

Dalam menjalankan fungsinya sebagai tempat maturasi, sel-sel epitel epididimis melakukan transport aktif elektrolit. Elektrolit utama yang distribusikan melintasi

membran sel ialah Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , HPO_4 dan Cl^- . Dalam melakukan transport aktif itu, air diabsorpsi dari lumen, sehingga sekitar 98% cairan testis diserap di sini, terutama di bagian kaput (50,52).

Senyawa-senyawa yang disintesis dan disekresikan oleh epitel epididimis ialah protein, glikoprotein, fosfolipid, gliseril fosforilkolin, karnitin, asam sialat, dan inositol (53). Fosfolipid penting sebagai substrat maturasi, yaitu untuk menstabilkan sistem membran spermatozoa (54). Bahan ini juga sebagai prekursor gliseril fosforilkolin, yang penting untuk metabolisme spermatozoa. Jika plasma semen tiba pada saluran kelamin betina, gliserol dilepaskan dan ATP dipakai sebagai sumber energi, di samping glukosa dan fruktosa (50,54).

Karnitin diperlukan untuk transport asam lemak berupa senyawa "fatty acyl" ke dalam mitokondria spermatozoa dan digunakan pula sebagai sumber energi. Sedangkan fosfolipid sebagai substrat maturasi bersama inositol (55). Adenosin trifosfat (ATP) bagi spermatozoa berasal dari pemecahan karbohidrat (glukosa dan fruktosa) dan juga dari lipid. Pemecahan karbohidrat tersebut dapat berlangsung secara aerob maupun anaerob. Di dalam epididimis, spermatozoa berada dilingkungan anaerob (55). Untuk memperoleh energi ATP dipecah oleh enzim ATP-ase pada dinein aksonema flagelum spermatozoa, maka ATP tersebut terurai menjadi ADP dan P_i dengan membebaskan energi. Flagelum dapat bergerak meliuk, dengan mendekat dan meluncurnya dinein satu doublet terhadap doublet tetangga (50).

Enzim ATP-ase pada spermatozoa ada yang memerlukan ion Ca dan ada pula yang memerlukan ion Na dan K. Ini berarti konsentrasi elektrolit tersebut diperlukan dalam jumlah yang cukup, agar metabolisme ATP lancar, sehingga energi untuk maturasi cukup. Gangguan transport zat elektrolit dapat disebabkan oleh defisiensi androgen, hal ini dapat menghambat metabolisme ATP, sehingga bahan yang bersifat antiandrogen bermanfaat sebagai antimaturasi (50).

Berbagai enzim dalam epididimis juga telah diidentifikasi, dan meliputi (57), glutamat-oksaloasetat transaminase (GOT), laktat dehidrogenase (LDH), beta-N-asetil glukosaminidase, alfa-amidase, fosfatase asam, dan fosfatase basa. Adanya enzim-enzim ini dalam jumlah yang mencukupi, akan tetap mempertahankan fungsi epididimis sebagai tempat maturasi dan penampungan sementara spermatozoa. Sebaliknya jika ada gangguan terhadap jumlah dan kualitas elektrolit, enzim dan substrat akan mengganggu proses maturasi.

B. Kontrasepsi pria dengan hormon

Fertilitas pria di antaranya tergantung pada hubungan fungsional antara sel-sel intra-tubuler dengan sel-sel inter-tubuler, yaitu interkorelasi sel *Sertoli-Leydig* melalui sistem endokrin (58). Demikian juga secara umum, melalui hubungan pengendalian poros *hipotalamus-hipofisis-testis* yang secara garis besar telah dibahas di atas. Dengan demikian hubungan endokrin antara kedua jenis sel tersebut dapat diduga merupakan faktor pembatas terjadinya infertilitas pada pria (48,59).

Pada pria oligozoospermia, hubungan antara rasio LH/T dengan kadar FSH, dilukiskan menurut persamaan garis: $Y = -0,03 + 4,8 X$ (di mana $r=0,85$, $n=28$, $Y=FSH$, dan $X=rasio\ LH/T$). Kenyataan bahwa FSH diperlukan untuk mendukung fungsi sel Sertoli, sedangkan rasio LH/T mencerminkan fungsi ekspresi sel Leydig (58,60). Dengan kata lain, hubungan semacam ini dapat juga digunakan sebagai model pengendalian fertilitas untuk kontrasepsi pria. Misalnya, pemberian testosteron (T) atau steroid lainnya, akan menurunkan rasio LH/T dan secara teori, T yang tinggi akan menyebabkan LH rendah melalui mekanisme umpan balik negatif (5,48). Dengan demikian rasio LH/T semakin kecil, ini berarti FSH akan turun meskipun hanya sebesar 0,03 unit. Akibat seluruhnya adalah, terganggunya hubungan fungsional sel *Sertoli-Leydig* dan akhirnya spermatogenesis terhambat (48,58,60). Selanjutnya akan diuraikan beberapa prospek kontrasepsi pria dengan hormon, yang bekerjanya menghambat sekresi LH, FSH, dan atau testosteron intra-testikuler.

1. Analog GnRH

Hormon gonadotropin LH dan FSH merupakan glikoprotein, yang terdiri dari protein subunit- α dan β . Terdapat petunjuk bahwa kedua protein tersebut dihasilkan oleh dua buah gen yang letaknya terpisah (61). Protein subunit- α merupakan konstituen FSH dan LH, sedangkan subunit- β , adalah spesifik untuk tiap hormon LH maupun FSH (62). Kedua protein subunit tersebut kemudian mengalami glikolisasi di dalam aparat Golgi sel-sel kelenjar hipofisis, yang selanjutnya membentuk struktur dimer α - β LH dan atau FSH. Selanjutnya disimpan dalam bentuk hormon di dalam sel-sel gonadotrop dan dikeluarkan

sesuai dengan keperluan (63).

Penyuntikan analog GnRH dalam bentuk sediaan [Nal-Glu]-GnRH 2 x 5 mg/12 jam pada pria normal, ternyata protein subunit- α menurun sangat nyata dari 2,9 $\mu\text{g/L}$ sebelum perlakuan, menjadi 1,4 $\mu\text{g/L}$ selama 8 hari perlakuan, sedangkan hormon LH turun dari 3,2 IU/L menjadi 0,9 IU/L (64). Hasil penelitian lain membuktikan bahwa senyawa analog-GnRH, dapat menekan ekspresi gen sel-sel gonadotropin, yaitu RNAm untuk protein subunit- α dan subunit- β menurun sangat nyata dibanding kontrol. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa analog-GnRH jenis ini, bekerja pada tingkat gen, dengan cara menghambat ekspresi gen. Keadaan inilah yang menyebabkan sekresi LH menurun (62,64).

Hambatan sekresi gonadotropin oleh sediaan analog GnRH berbeda dengan kasus hipofisektomi, karena analog GnRH bekerja sangat selektif dalam menekan pelepasan LH, yaitu melalui blokade kompetitif pada tempat pengikatan GnRH endogen pada hipofisis. Dijelaskan lebih lanjut, perlakuan semacam ini terutama pada hewan rodensia, dapat menghambat spermatogenesis pada tahap spermatosit dan spermatid, yang ditandai dengan menurunnya kedua sel tersebut (65).

Penyuntikan senyawa analog GnRH bekerja menghambat sekresi LH, yang diikuti pula oleh turunnya sekresi testosteron. Pemberian 5 mg [Nal-Glu] - GnRH pada 6 pria normal, dapat menurunkan sekresi LH dari 8-9 IU/L menjadi 3-4 IU/L dan sekresi testosteron dari 17-18 nmol/L menjadi 5-6 nmol/L, sedangkan kadar FSH tidak berubah terutama setelah

24 jam (66). Penelitian lain, injeksi 250 µg/kg pada 6 pria normal menyebabkan kadar LH turun dari rata-rata 24 µg/L menjadi 8 µg/L, testosteronya juga turun dari 18,4 nmol/L menjadi 3,5 nmol/L, demikian juga kadar FSH turun dari 121 µg/L menjadi 77 µg/L masing-masing setelah 24 jam (67).

Pemberian analog GnRH jenis lain (cetrorelix SB-75) pada 5 pria muda, kadar LH turun dari rata-rata 2,5 IU/L menjadi 0,5 IU/L, testosteronya juga turun dari 15,8 nmol/L menjadi 2,2 nmol/L, sedangkan kadar FSH turun dari 2,5 IU/L menjadi 1,8 IU/L (68). Selanjutnya disarankan terutama dalam upaya mencari bahan kontrasepsi pria dengan sediaan analog GnRH ini sebaiknya dikombinasikan dengan androgen, hal ini diduga akan memberikan hasil yang lebih baik terutama dalam menghambat spermatogenesis sehingga terjadi oligozoospermia atau azoospermia (68). Hal ini dapat dimengerti karena pemberian analog GnRH tunggal, akan menyebabkan turunnya testosteron intra-testikuler sehingga dapat mempengaruhi libido.

Behre *et al* (68), berhasil melakukan uji klinik dengan menggunakan kombinasi analog GnRH jenis buserelin asetat (BUS) dengan 19-nortestosterone hexyloxy-phenil-propionat (19NT-HPP). Dilaporkan relawan yang diberi implan BUS 6,6 mg, FSH dan LH menurun pada hari ke tujuh. Khusus LH hambatannya konstan sampai minggu ke 24, sedangkan FSH ke keadaan awal pada minggu ke 9-15. Sebaliknya pemberian 19NT-HPP 400 mg tunggal yang diteruskan dengan 200 mg tiap 3 minggu sekali selama 24 minggu, menyebabkan oligozoospermia 3 minggu setelah perlakuan. Sedangkan kelompok relawan

yang diberi kombinasi BUS dan 19NT-HPP, hambatan spermatogenesis terjadi sampai minggu ke 30, yaitu 4 dari 16 relawan adalah azoospermia dan 8 dari 16 relawan lainnya menjadi oligozoospermia. Tidak terjadi perubahan libido selama mengikuti uji klinik tersebut, dengan demikian fungsi 19NT-HPP tersebut tetap mempertahankan gairah seks; selanjutnya disimpulkan bahwa buserelin asetat yang diberikan bekerja menghambat sekresi LH dan FSH, dan rendahnya biosintesis testoteron intra-testikuler karena rendahnya LH dapat dikompensasi dengan 19NT-HPP (69).

2. Testosteron

Penyuntikan 50 mg TE tiap minggu selama 8 minggu pada 6 relawan, ternyata kadar testosteron serum meningkat dari 572 ng/dL pada 0 hari menjadi 768 ng/dL pada hari pertama sampai ke 7 dan dipertahankan pada kadar 810 ng/dL sampai hari ke 50-56. Sebaliknya hormon LH turun dari 6670 mIU/mL pada hari ke 0 menjadi 4482 mIU/mL sampai hari ke 28, sedangkan FSH tidak berubah (70). Selanjutnya 6 relawan yang diinjeksi 200 mg TE seminggu sekali selama 12 minggu, dapat meningkatkan kadar testosteron serum dari 507 ng/dL pada hari ke 0 menjadi 1199 ng/dL di hari pertama sampai hari ke 7, dan dipertahankan pada kadar 1333 ng/dL pada hari ke 56. Sebaliknya konsentrasi hormon LH turun dari 8,8 mIU/mL pada hari ke 0 menjadi 4,9 mIU/mL sampai hari ke 56. Keadaan tersebut pulih kembali pada hari ke 84 atau sekitar 35 hari setelah perlakuan terakhir. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa untuk dapat menurunkan kadar LH pada pria normal, maka konsentrasi testosteron dalam plasma darah harus meningkat 1,5 kali di

atas kadar normal (70).

Badan WHO (16) melaporkan bahwa, penyuntikan TE 200 mg/minggu selama 12 bulan, ternyata relawan menjadi azoospermia pada bulan ke 6 dan sebagian relawan azoospermia tersebut azoospermianya dicapai 120 hari setelah injeksi TE dihentikan. Pada umumnya pemulihan mulai terjadi pada 3,6-3,9 bulan yaitu dengan konsentrasi sperma menjadi hampir 20 juta/ml. Dan kembali ke keadaan awal atau normozoospermia setelah 6,2-8,7 bulan sejak perlakuan terakhir. Terdapat perbedaan tingkat azoospermia yaitu; di tiga kota di Cina misalnya Beijing 100% azoospermia, Chengdu 88,8%, dan di kota Nanjing 90%. Sedangkan di negara lain di Eropa (misalnya kota Paris, Edinburgh, dan Stockholm), di kota Sydney Australia, dan Seattle USA azoospermia tersebut dicapai tidak lebih dari 65%.

Pemberian dosis tunggal 32,8 mg TE dan 40 mg testosteron ester jenis 20 Aet-1 pada kera orkidektomi, terbukti bahwa TE dapat meningkatkan secara bertahap kadar testosteron plasma di atas kadar fisiologis. Kadar tertinggi terjadi pada hari ke 8 yaitu dari rata-rata 1,1 nmol/L menjadi 189 nmol/L dan turun kembali setelah tiga minggu. Sebaliknya, pemberian 20 Aet-1 dapat meningkatkan kadar testosteron secara moderat yaitu sedikit di atas kadar fisiologi. Kadar tertinggi 29,7 nmol/L dicapai pada hari ke 6-14, yang dipertahankan selama 18 minggu. Disimpulkan bahwa testosteron ester jenis 20 Aet-1 dapat digunakan untuk tujuan pengobatan dan mungkin untuk kontrasepsi pria, karena masa kerjanya yang lebih lama dibanding TE (71).

Hasil uji klinik dengan testosteron ester jenis 19NT-HPP, juga memberikan harapan

sebagai bahan kontrasepsi hormonal pada pria (2,72). Penyuntikan dosis tunggal 400 mg yang diikuti dengan dosis 200 mg tiap tiga minggu selama 24 minggu, ternyata menyebabkan hambatan sekresi LH dan FSH satu minggu setelah perlakuan. Kadar LH dalam serum turun dari 3,5-4 IU/L menjadi rata-rata 0,7 IU/L sampai minggu ke 9, dan dipertahankan sampai minggu ke 30. Selanjutnya cenderung meningkat pada minggu ke 33, dan kembali ke keadaan awal pada minggu ke 51.

Puncak hambatan serum FSH terjadi setelah minggu ke 3 setelah pemberian 19NT-HPP, yaitu turun dari 3-3,5 IU/L menjadi 0,5-1 IU/L, yang dipertahankan sampai minggu ke 24 dan cenderung meningkat pada minggu ke 30 sehingga pada minggu ke 45 telah pulih kembali. Dengan demikian testosteron ester jenis 19NT-HPP dapat menghambat sekresi LH lebih cepat dengan masa pemulihan lebih lama dibanding sekresi FSH (71,72).

Di samping itu, hambatan spermatogenesis maksimal dicapai pada minggu ke 30 yaitu 4 dari 8 relawan adalah oligozoospermia dan sisanya azoospermia. Dari relawan yang oligozoospermia tersebut ternyata persentase motilitas spermatozoa menurun sangat nyata dari rata-rata 61% menjadi 31% pada minggu ke 24, sedangkan persentase bentuk normal spermatozoa turun dari rata-rata 61% menjadi 44% pada minggu ke 16 (72). Dari uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa androgen jenis ini, dapat digunakan untuk kontrasepsi pria, karena 50% relawan menjadi azoospermia sedang 50% lainnya oligozoospermia (71,72).

Hasil penelitian lainya (73), menunjukkan bahwa penyuntikan testosteron propionat (TP) 50 mg/hari selama 10 minggu, dapat meningkatkan kadar testosteron total 2 kali lebih

tinggi dari normal. Keadaan tersebut menyebabkan LH plasma turun, sehingga testosteron intra-testikuler turun sekitar 95%. Di samping itu juga menyebabkan oligozoospermia dan azoospermia pada sejumlah relawan yang ikut dalam uji klinik tersebut. Di simpulkan bahwa kadar optimal testosteron intra-testikuler itu diperlukan untuk spermatogenesis (5,48), dengan demikian hambatan spermatogenesis pada uji klinik ini disebabkan oleh rendahnya testosteron intra-testikuler. Hal ini merupakan pengaruh langsung dari rendahnya sekresi LH pada pemberian TP (48,73).

Pada uji bahan kontrasepsi pria dengan menggunakan testosteron seperti yang telah diuraikan di atas, selalu diperoleh hasil sebagian relawan dalam azoospermia dan sebagian lainnya oligozoospermia. Timbul pertanyaan, apakah azoospermia itu merupakan satu-satunya tujuan dari sebuah kontrasepsi dan apakah keadaan oligozoospermia tidak cukup untuk menilai bahwa kontrasepsi tersebut adalah baik.

Oleh karena itu telah dilakukan penelitian dengan uji HOPT (hamster ova penetrations test) dengan menggunakan spermatozoa dari relawan oligozoospermia (spermatozoa < 5 juta/mL), yang sebelumnya mendapatkan injeksi TE. Ternyata 95% spermatozoa tersebut tidak mampu melakukan penetrasi ke dalam telur hamster, atau keberhasilannya hanya 5% (74).

Dengan demikian sangat mungkin keadaan oligozoospermia pada relawan ini, berhubungan erat dengan menurunnya kemampuan melakukan fertilisasi. Ternyata rendahnya kemampuan penetrasi dalam penelitian tersebut, bukan disebabkan oleh

rendahnya motilitas spermatozoa. Karena spermatozoa dari relawan tersebut, motilitasnya cukup tinggi 67%, dan bentuk normal spermatozoanya 80%. Belum diketahui dengan pasti kenapa demikian, tetapi diduga TE yang diberikan justru menyebabkan rendahnya biosintesis testosteron intra-testikuler sehingga mengganggu proses spermiogenesis mungkin pada fase-fase Golgi, tudung, akrosom, dan fase maturasi (5,16,73,74).

3. Kombinasi androgen dan progesteron

Kombinasi DMPA dengan androgen oleh beberapa peneliti juga dianggap mempunyai prospek yang baik, karena DMPA secara luas telah digunakan untuk kontrasepsi hormonal pada wanita. Derivat progesteron tersebut bekerja menghambat sekresi LH yang seharusnya tinggi pada saat menjelang pertengahan siklus menstruasi, sehingga tidak terjadi ovulasi (75,76). Di samping itu DMPA yang dikombinasikan dengan androgen mempunyai keuntungan untuk dikembangkan menjadi bahan kontrasepsi hormonal pada pria, karena bekerja secara sinergis dan waktu efektif yang diperlukan untuk menghambat sekresi gonadotropin (LH dan FSH) dapat lebih lama (8,12,13).

Hasil penelitian terhadap 25 relawan yang disuntik dengan 100 mg DMPA + 250 mg TE dengan interval 1 bulan selama 4-16 bulan, maka 24 relawan spermanya turun drastis pada bulan ke 1-3. Sebelas relawan menjadi azoospermia selama 9 bulan, 8 relawan azoospermia selama 12-16 bulan dan sisanya oligozoospermia (17).

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis dan lamanya pemberian, maka telah dilakukan penelitian di Republik Dominika terhadap dua kelompok relawan masing-masing

10 relawan. Kelompok I, mula-mula di-injeksi kombinasi 1000 mg DMPA + 250 mg TE kemudian diulangi dua kali dengan dosis 150 mg DMPA + 250 mg TE tiap bulan. Sedangkan kelompok II, mula-mula disuntik dengan dosis 1000 mg DMPA + 250 mg TE kemudian diulangi dua kali dengan dosis 300 mg DMPA + 250 mg TE tiap bulan. Ternyata hasilnya tidak berbeda antara dua kelompok tersebut; yaitu 8 relawan menjadi azoospermia dan 2 relawan lainnya oligosperma dengan jumlah spermatozoa kurang dari 1 juta/mL pada kelompok I, sedangkan kelompok II 6 relawan menjadi azoospermia dan sisanya oligozoospermia dengan jumlah spermatozoa kurang dari 8,5 juta/mL. Dijelaskan pula, dari relawan yang oligozoospermia tersebut ternyata motilitas spermanya sangat rendah (77).

Frick *et al* (15), melakukan uji klinik terhadap 12 relawan pria fertil, yaitu untuk mengetahui pengaruh dosis tinggi 1000 mg DMPA + 250 mg TE dan diikuti kombinasi 150 mg DMPA + 250 mg TE dengan interval pemberian 1 bulan selama 4-5 bulan. Hasilnya, 7 relawan oligozoospermia pada minggu ke 4, sedangkan pada minggu ke 8 dua relawan azoospermia dan 5 tetap oligozoospermia. Pada minggu ke 12, dari 11 relawan yang tetap ikut dalam uji klinik ternyata 1 relawan tetap normozoospermia, 5 relawan tetap oligozoospermia dan 5 relawan menjadi azoospermia. Disimpulkan bahwa meskipun diberikan dosis tinggi DMPA, tetapi hanya 55% yang menjadi azoospermia (15).

Di Indonesia penelitian dengan kombinasi progesteron dengan androgen juga telah dilakukan. Moeloek *et al* tahun 1993 (12) melaporkan hasil penelitiannya; yaitu 45 relawan yang diinjeksi 200 mg TE tiap satu minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 6, yang

diikuti dengan dosis sama tiap 3 minggu sampai minggu ke 24. Selama perlakuan tersebut DMPA dosis 250 mg diberikan tiap 6 minggu dimulai minggu ke 0 sampai minggu ke 18. Hasilnya, 43 relawan (95,6%) menjadi azoospermia. Sedangkan apabila TE diganti dengan 19NT-HPP memberikan hasil 97,8% dari relawan menjadi azoospermia. Kedua jenis testosteron tersebut yang dikombinasikan dengan DMPA mempunyai pengaruh yang sama, yaitu dapat menyebabkan terjadinya azoospermia. Dijelaskan pula masa pemulihannya dicapai setelah 6,5 bulan (12).

Pangkahila *et al* tahun 1991 (13) juga melakukan penelitian di Bali, hasilnya 10 relawan yang menerima injeksi 200 mg DMPA + 250 mg TE tiap bulan selama 3 bulan, ternyata semua relawan (100%) menjadi azoospermia antara bulan ke 3-4. Keadaan tersebut dipertahankan sampai bulan ke 5, sedangkan pada bulan ke 6 sudah mulai terjadi pemulihan dengan spermatozoa mencapai hampir 20 juta/mL. Selanjutnya kadar hormon LH dan FSH dalam darah turun sampai titik terendah pada bulan ke 1-3, dan kembali ke keadaan awal setelah bulan ke 5.

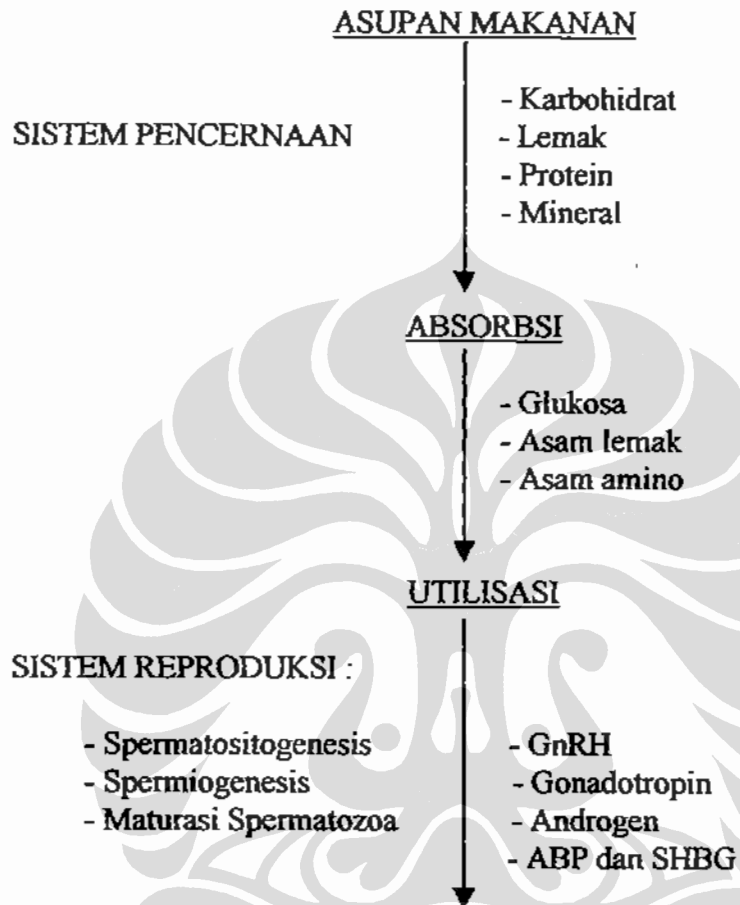
Dalam upaya memperoleh hasil yang optimal telah dilakukan penelitian lain, yaitu dengan menggunakan kombinasi DMPA dan 19NT-HPP (8). Sebanyak 12 relawan mula-mula menerima injeksi 200 mg 19NT-HPP tiap minggu selama 7 minggu, yang dikombinasikan dengan injeksi 250 mg DMPA tiap 3 minggu selama 12 minggu. Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa turun atau berkurang secara bermakna setelah 3 minggu dari awal perlakuan. Azoospermia maksimal terjadi pada 6 dari 12 relawan

(50%), yang dicapai pada minggu ke 4 setelah perlakuan. Pada umumnya pemulihan terjadi pada minggu ke 43 setelah perlakuan berakhir, tetapi masih dijumpai 3 relawan oligozoospermia (<20 juta/mL) dan 1 relawan dengan jumlah sperma 4,5 juta/mL (8).

Meskipun belum ada penjelasan mengenai mekanisme seluler atau molekuler, tentang bagaimana hambatan spermatogenesis ini dapat terjadi. Namun jelas bahwa kombinasi progesteron dan androgen yang diberikan, secara sinergis bekerja menghambat sekresi gonadotropin (8,13,15,17,77). Terdapat petunjuk bahwa rasio progesteron dengan testosteron (P:T) adalah tinggi pada beberapa kasus pria oligozoospermia (60). Keadaan ini diduga dapat menyebabkan hambatan aktivitas enzim 17-20 desmolase di dalam sel Leydig. Apabila kondisi ini berlangsung lama yaitu akibat dari pemberian progesteron eksogen, maka produksi testosteron intra-testikuler akan dihambat atau menurun sehingga berakibat terhambatnya proses spermatogenesis (60,78).

C. Komponen makanan dan hubungannya dengan spermatogenesis

Terdapat 6 komponen penting dalam makanan. Karbohidrat, lemak dan protein berperan untuk menghasilkan energi, serta diperlukan untuk pertumbuhan dan pembentukan jaringan. Vitamin, mineral dan air diperlukan dalam proses pembentukan dan penggunaan energi, serta sintesis hormon dan enzim. Dalam kesempatan ini hanya akan dibicarakan tentang peranan karbohidrat, lemak, protein, dan mineral terutama yang berhubungan dengan spermatogenesis (Gambar 4).



Gambar 4. Skema peranan komponen makanan dalam spermatogenesis

1. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan sumber enersi yang murah dan efisien (79). Enersi tersebut kemudian dimanfaatkan oleh semua sel germinal dan sel pendukung lainnya dalam proses spermatogenesis. Selama proses proliferasi dan diferensiasi, sel germinal memerlukan

glukosa, laktat dan piruvat (5,47,48). Sedangkan fungsi motilitas spermatozoa harus didukung oleh sejumlah substrat yang berasal dari senyawa metabolisme antara, misalnya fruktosa, fruktosa-1,6-difosfat, laktat, glukosa-6-fosfat dan sorbitol (80). Pada proses spermiogenesis tahap awal akan terlihat granula dalam aparat Golgi, disebut proakrosom yang banyak mengandung karbohidrat (35,42).

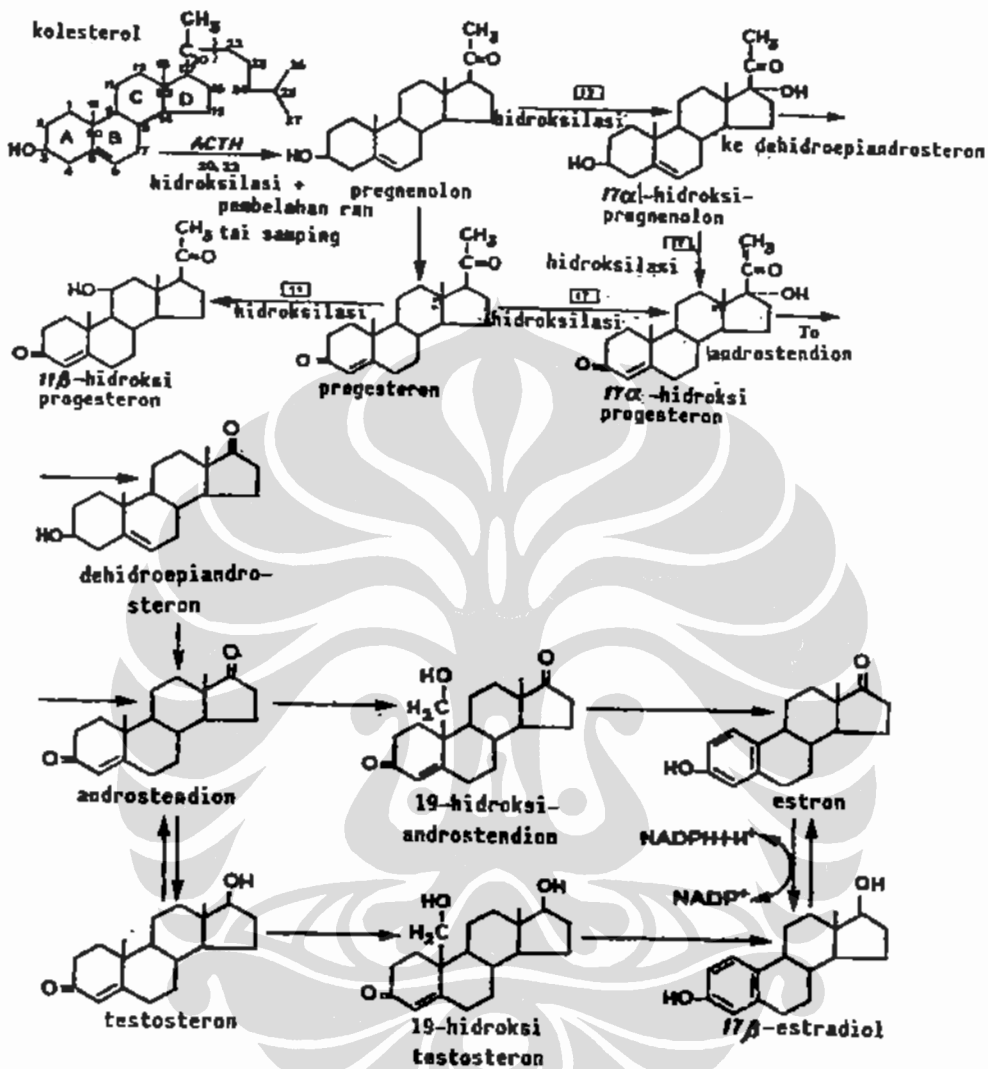
Disamping itu, hubungan fungsional antara sel Sertoli dan sel Leydig dalam mendukung spermatogenesis memerlukan berbagai macam derivat karbohidrat. Asam laktat dan piruvat yang dihasilkan oleh sel Sertoli ternyata sangat diperlukan sebagai sumber enersi bagi sel-sel germinal .

2. Lemak

Lemak sebagaimana karbohidrat juga merupakan sumber energi. Lemak diabsorpsi dalam bentuk asam lemak dan gliserol, bersama-sama dengan glukosa dan asam amino akan diubah menjadi asetil-KoA kemudian masuk ke dalam siklus asam sitrat guna membebaskan energi (79).

Di samping itu, lemak merupakan komponen makanan yang diperlukan untuk biosintesis hormon steroid (Gambar 5). Hormon steroid yaitu testosteron dan dihidro-testosteron diperlukan untuk perkembangan dan mempertahankan fungsi sistem reproduksi secara normal (81).

Berbagai macam lemak ditemukan sebagai konstituen sistem membran spermatozoa. Meskipun dengan persentase yang berbeda, tetapi jenis lemak yang ditemukan tersebut



Gambar 5. Biosintesis hormon steroid yaitu testosteron dan estrogen dari kolesterol.
 Gambar dikutip dari: *Eik-Nes, 1975 (81)*.

adalah sama yaitu fosfolipid (diantaranya: sfingomielin, fosfatidil serin, plasmalogen kolin, fosfatidil kolin, plasmalogen etanolamin, fosfatidil etanolamin, dan fosfatidil inositol). Di

samping itu di dalam testis juga ditemukan glikolipid yaitu metil-galaktosida dan metil-palmitat, yaitu sebagai konstituen berbagai macam reseptor membran sel dan diperkirakan berhubungan dengan immunologi (82).

3. Protein

Protein di dalam sistem pencernaan akan diserap dalam bentuk asam amino, asam amino ini kemudian akan disusun kembali menjadi protein struktural dan protein fungsional oleh sel atau jaringan sistem reproduksi. Semua membran sel hewan terutama sel-sel germinal dan spermatozoa, tersusun oleh protein struktural dalam bentuk lipoprotein. Di dalam flagelum yang penting untuk pergerakan spermatozoa ditemukan protein yang kontraktile serupa dengan protein aktin dan miosin otot.

Struktur dasar flagelum spermatozoa adalah protein mikrotubulus dengan struktur alfa-tubulin, protein kontraktile dimaksud adalah protein dinein yang berhubungan dengan enzim ATPase. Protein ini penting dalam kontraksi dan relaksasi selama pergerakan spermatozoa (80). Protein mikrotubulus jenis alfa-tubulin ini penting dalam pergerakan organel sel dan sitoplasma selama spermiogenesis (35,39,42). Dengan cara melarutkan serabut flagelum spermatozoa kemudian dilakukan analisis kandungan proteinnya dengan teknik elektroforesis, ditemukan empat jenis polipeptida dengan berat molekul 11.000, 12.000, 25.000, dan 40.000 (83).

Di samping beberapa protein struktural tersebut, dalam sistem reproduksi ditemukan pula protein fungsional yaitu enzim dan hormon. Terlalu banyak untuk disebutkan satu

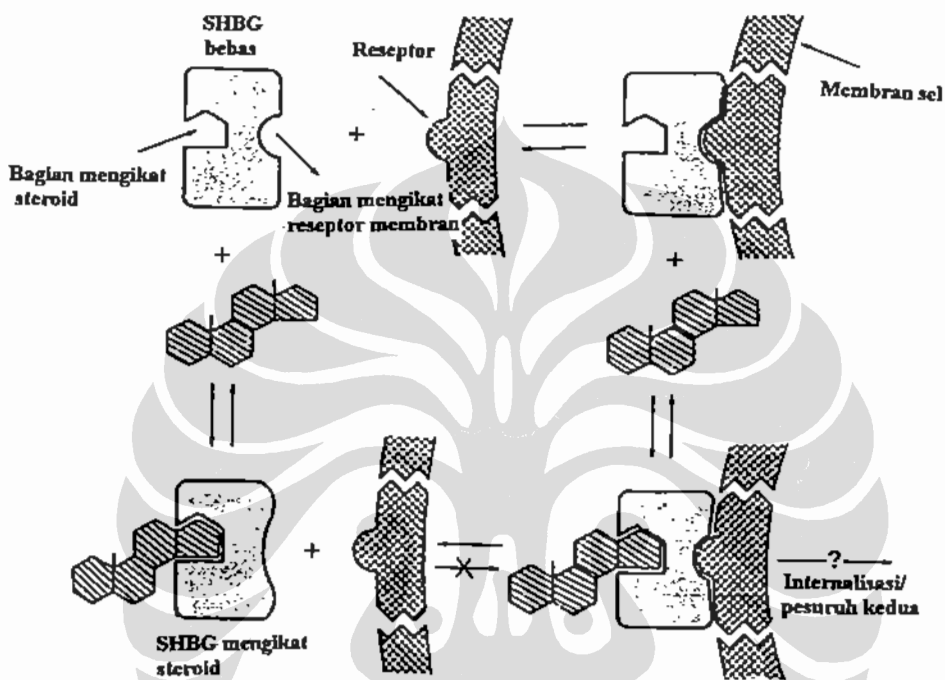
persatu jenis dan fungsi enzim yang terlibat dalam pengendalian spermatogenesis. Tetapi secara garis besar dapat disebutkan yaitu enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme sel-sel germinal, metabolisme sel Sertoli, yang terlibat dalam biosintesis hormon steroid, serta enzim yang terlibat dalam maturasi spermatozoa (5, 47,48,50,56-58,80,81).

Enzim yang dibentuk selama spermiogenesis ialah enzim-enzim akrosom (83). Enzim akrosom ini merupakan enzim hidrolisis yang mempunyai peranan penting dalam proses fertilisasi. Enzim yang dimaksud ialah enzim hialuronidase, proteinase akrosom atau akrosin, enzim penetrasi korona (EPK), dan Neuraminidase.

Berfungsinya sistem reproduksi secara normal memerlukan hormon. Semua hormon peptida yaitu GnRH, FSH dan LH disusun oleh sejumlah asam amino melalui proses biosintesis hormon. Mengenai fungsi ketiga hormon ini, telah dibahas dalam sub bab pengendalian spermatogenesis oleh hormon.

4. Protein pengangkut androgen

Dua jenis protein pengangkut androgen yang terlibat dalam pengendalian spermatogenesis adalah ABP dan SPB atau SHBG. Protein ABP disintesis oleh sel Sertoli dalam testis (5,46), sedangkan SHBG disintesis oleh sel-sel hepar (29,31). Struktur SHBG, terdiri dari bagian yang dapat berikatan dengan reseptor membran sel target atau *receptor binding site* dan bagian yang berikatan dengan steroid atau *steroid binding site* (29,84). Selanjutnya lihat Gambar 6.



Gambar 6. Modei interaksi antara steroid, SHBG, dan reseptor SHBG pada membran sel target (29,84).

Telah diketahui bahwa ABP dan SHBG yang merupakan glikoprotein, dikode oleh gen yang sama, sehingga urutan asam aminonyapun identik, perbedaannya hanya pada konstituen oligosakarida (85). Sekarang sudah diketahui urutan asam amino SHBG tersebut pada kelinci yang terdiri dari 367 residu asam amino (86), pada tikus dan manusia terdiri dari 373 asam amino (85). Pada kelinci, oligosakarida menempel (N-linked oligosaccharide) pada Asn-345 dan Asn-361 sedangkan dua ikatan disulfida menghubungkan Cys-158 ke Cys-

182 dan Cys-327 ke Cys-355. Berat molekul polipeptida monomer adalah 39.769, sedangkan berat molekul homodimer termasuk 9% karbohidrat adalah 87.404. Di dalam urutan asam amino tersebut terdapat bagian yang lebih bersifat hidrofobik yaitu antara segmen asam amino Trp-241 dengan Leu-282 (85,86).

5. Mineral

Mineral juga merupakan unsur yang sangat penting di dalam sistem reproduksi terutama yang berhubungan dengan spermatogenesis. Telah diuraikan sebelumnya bahwa ion kalsium, kalium, natrium, klorium, dan fosfat, merupakan konsituen cairan elektrolit dalam epididimis. Keseimbangan elektrolit dalam epididimis ini sangat penting untuk mendukung fungsi epitel epididimis sebagai tempat pematangan spermatozoa secara fisiologis (50,52).

Enzim ATPase yang penting untuk mengkatalisis ATP selama proses kontraksi dan relaksasi protein kontraktile dinein aksonema flagelum spermatozoa, memerlukan fosfat anorganik, Kalium-Natrium dan kalsium (50,80). Struktur membran spermatozoa mengandung fosfolipid, dengan demikian ion fosfat sangat diperlukan agar membran spermatozoa berfungsi normal (80,82,83).

6. Diet dan hubungannya dengan androgen

Pada awal peradaban manusia ribuan tahun silam, sumber energi utama dalam makanan berasal dari tanaman dan sebagian kecil dari hewan. Munculnya negara industri maju, yang ditandai dengan pesatnya perekonomian dunia, ternyata telah mengubah pola

makan yaitu makanan hewani menjadi sangat dominan. Negara Cina dan Indonesia (20-23, 34), juga mengalami hal serupa yaitu perubahan pola makanan yang mendekati makanan barat (*westernization of dietary*). Adapun ciri makanan negara barat atau negara maju ialah lemak merupakan sumber energi utama dan protein yang tinggi, sebaliknya karbohidrat relatif rendah. Sampai saat ini rata-rata penduduk Indonesia dan Cina masih menggunakan sumber energi utama dalam bentuk karbohidrat 60-70%, lemak 15-20% dan protein 15% (21,34, 76-79).

Perbedaan komposisi makanan 20% dan 40% sumber energi berupa lemak pada kedua populasi Jepang dan Jerman, tercermin pada kadar testosteron total dalam darah yaitu berbeda sangat nyata lebih rendah pada makanan rendah lemak $19,3 \pm 1,2$ nmol/L dibanding dengan makanan tinggi lemak $22,7 \pm 1,1$ nmol/L. Keadaan ini tidak bisa dijelaskan dengan perubahan LH, sehingga diduga karena tingginya SHBG pada populasi Jerman dengan konsumsi 40% lemak, dan atau daya guna biologis steroid yang rendah pada populasi Jepang dengan konsumsi 20% lemak. Hasil studi epidemiologi tersebut menganggap bahwa perbedaan kadar testosteron total plasma yang ditemukan pada populasi di Jepang dan Jerman, mungkin berhubungan dengan makanan (87). Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa SHBG berkorelasi positif dengan testosteron total (32).

Keadaan tersebut menunjukkan adanya hubungan antara makanan dengan biosintesis testosteron dan pemecahannya dalam tubuh (88-91). Hormon steroid pada jaringan lemak visceral, memegang peranan penting dalam mengontrol lipolisis dan lipogenesis (92-94).

Akumulasi lemak visceral pada pria berkorelasi negatif dengan kadar testosteron bebas (93). Timbul pertanyaan, apakah pada pria yang mengkonsumsi makanan tinggi lemak dan protein menyebabkan kadar SHBG serum meningkat, sehingga testosteron bebas rendah pula, hal ini perlu pembuktian.

Banyak penelitian tentang hormon seks dan metabolisme lipid yang diarahkan pada hubungan antara testosteron dengan kadar SHBG. Sejak diketahui bahwa biosintesis dan sekresi SHBG dipengaruhi oleh tiroksin dan estrogen, maka banyak penelitian membuktikan bahwa metabolisme lipoprotein pada pria juga dikontrol oleh testosteron. Terdapat bukti bahwa kadar HDL-c pada pria lebih rendah daripada wanita, dan ternyata pemberian testosteron dapat menekan HDL-c sedangkan estradiol memacunya. Keadaan ini juga berhubungan dengan kadar SHBG, yang menjadi tinggi setelah pemberian estradiol (95).

Protein pengikat hormon seks atau SHBG tersebut merupakan gliko-protein plasma yang memiliki afinitas ikatan yang tinggi terhadap testosteron dan DHT. Kadar SHBG dalam plasma memegang peran penting dalam mengontrol kadar androgen bebas dengan androgen yang terikat. SHBG berkorelasi positif dengan umur, testosteron total, HDL-c, dan berkorelasi negatif dengan insulin dan trigliserida (32).

Untuk membuktikannya, telah dilakukan penelitian *in vitro*, yaitu dengan cara mengkultur sel hepatoma (Hep G2). Hasilnya jelas bahwa SHBG diproduksi oleh sel-sel hepar, dan ternyata produksinya dihambat oleh insulin dan prolaktin, sebaliknya dirangsang oleh pemberian tiroksin dan estradiol (31,96-99). Di samping itu, 30 pria normal bangsa

Kaukasia yang diinjeksi 300 mg 19NT-HPP, kadar insulinnya cenderung menurun (97). Keadaan ini mungkin menyebabkan kadar SHBG cenderung lebih tinggi atau meningkat.

Aktivitas androgenik yang tinggi pada obesitas tampaknya berhubungan dengan rendahnya kadar SHBG dan tingginya persentase testosteron bebas. Telah dibuktikan bahwa kadar SHBG dan testosteron bebas berkorelasi positif dengan meningkatnya insulin. Hal ini terbukti karena aktivitas androgenik yang tinggi menyebabkan kelainan insulin (100). Bukti lain, bahwa insensitivitas insulin berhubungan dengan meningkatnya aktivitas androgenik yang diperlihatkan oleh kasus-kasus hyperinsulinemia dan resistensi insulin, yang merupakan ciri obesitas (101).

Permasalahan di atas mungkin dapat dijelaskan sebagai berikut: Pertama, makanan yang mengandung komposisi tinggi lemak dan tinggi protein mungkin menyebabkan SHBG dalam plasma relatif lebih tinggi. Kedua, dalam keadaan normal apabila makanan banyak mengandung karbohidrat (karbohidrat tinggi) menyebabkan glukosa darah tinggi, maka sekresi insulin juga meningkat, keadaan ini diduga akan menghambat sekresi SHBG sehingga kadar SHBG lebih rendah.

Kedua penjelasan masalah di atas perlu dibuktikan, terutama hubungannya dengan penyebab terjadinya perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia antara pria Kaukasia dengan pria Asia yang disuntik TE atau kombinasinya dengan DMPA. Hal ini dapat dijelaskan apabila benar kadar SHBG lebih tinggi atau kadar testosteron bebas lebih rendah pada pemberian makanan yang mengandung lemak dan protein tinggi dibandingkan dengan

pemberian makanan yang mengandung lemak dan protein rendah.

Kemungkinan adanya pengaruh makanan yang mengandung lemak tinggi dan protein tinggi terhadap spermatogenesis pada pria yang disuntik TE dan DMPA sangat penting untuk dibuktikan, karena pemberian TE dan DMPA pada populasi yang konsumsi lemak dan proteinnya tinggipun tidak efektif 100%. Seperti telah diketahui bahwa suatu kontrasepsi yang baik harus memenuhi beberapa kriteria antara lain efektif, aman, reversibel dan dapat diterima oleh masyarakat (2-4,12,13).

Besar kemungkinan relawan yang digunakan dalam penelitian di Indonesia (2,12,13) maupun di Cina (16) berasal dari kelompok masyarakat yang konsumsi protein dan lemaknya rata-rata rendah. Jadi idealnya harus ada penelitian yang membandingkan antara dua kelompok masyarakat yang berbeda konsumsi protein dan lemak serta sama-sama disuntik dengan TE dan DMPA, kemudian dilihat pengaruhnya terhadap timbulnya azoospermia. Untuk melakukan penelitian tersebut diperlukan adanya dua populasi atau lebih yang pola makannya harus betul-betul dapat dikontrol. Pada manusia hal tersebut sulit sekali dilakukan maka, atas dasar itu harus dicari hewan percobaan yang dapat dijadikan model untuk menjawab permasalahan tersebut.

Untuk itu dalam penelitian ini kami gunakan monyet jantan ekor panjang, karena hewan jenis ini termasuk golongan primata, yang secara fisiologis mempunyai banyak persamaannya dengan manusia (33,102) dan masih mudah didapat di Indonesia.

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. Bahan penelitian

1. Hewan model

Pada penelitian ini digunakan monyet ekor panjang, yang diperoleh dari laboratorium penangkaran satwa primata Pusat Studi Satwa Primata, Lembaga Penelitian IPB Bogor di kampus Dermaga Bogor, Jawa Barat. Selama di laboratorium semua monyet diberi makanan khusus yaitu *monkey-chow* yang didatangkan dari Amerika Serikat USA atau dari Bangkok Thailan. Kesehatannya selalu diawasi secara profesional oleh dokter hewan, sehingga monyet yang digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi persyaratan sebagai hewan uji misalnya bebas dari penyakit TBC, hepatitis, cacing atau diare dan pemeriksaan darah. Di samping itu dijamin keadaan fisiknya yaitu dipilih bulu yang tidak rontok, kaki dan jari kaki normal, tangan dan jari tangan normal dan keadaan fisik lainnya, sehingga monyet yang dipakai memang ideal untuk penelitian ini.

Selama berlangsungnya penelitian, kesejahteraan monyet selalu diperhatikan sesuai dengan kode etik penelitian menggunakan hewan coba, di antaranya penanganannya dengan penuh kasih sayang, perhatian khusus terhadap kecukupan makanan dan minuman, kebersihan kandang dan kesehatannya (33).

2. Pakan monyet

Makanan monyet atau *monkey-chow* berasal dari Bangkok, sebagai makanan dasar yang disediakan oleh Pusat Studi Satwa Primata IPB, Bogor. Sedangkan pakan untuk perlakuan adalah campuran antara (*monkey-chow* + kuning telur + susu skim) yang komposisinya dibuat bekerjasama dengan Bagian Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Cara pembuatan dan perhitungan komposisi pakan tersebut didasarkan pada perbedaan kadar protein, lemak dan karbohidrat (Lampiran A.1). Komposisi pakan yang dimaksud adalah sebagai berikut: Pakan 1 merupakan makanan dasar monyet (*monkey-chow*) berkadar protein 13%, lemak 9% dan karbohidrat 78%; Pakan 2 berkadar protein 15%, lemak 15% dan karbohidrat 70%; Pakan 3 berkadar protein 25%, lemak 35% dan karbohidrat 40%.

3. Bahan kimia dan hormon

- a. Testosteron enantat (Testoviron-depot 250 mg/ml, Schering AG, Berlin, FRG) dibeli dari sebuah apotik di Singapura; dan depot Medroxy Progesteron asetat (Depo Provera 50 mg/ml Upjohn Co, MI, USA) dibeli dari sebuah apotik di Jakarta.
- b. Semua zat yang diperlukan untuk tera hormon (Kit) FSH, LH, testosteron total, testosteron bebas dan estradiol (Diagnostic Products Co, 5700 West 96th Street, LA, USA) diperoleh dari PT. Karindo Alkestron, Jakarta. Sedangkan analisis kadar hormon dalam serum menggunakan teknik RIA (*Radio Immuno Assay*), dilakukan di Makmal

terpadu FKUI, Jakarta.

c. Larutan Hank's, George, Giemsa, larutan untuk uji HOS dan larutan Eosin-Y sebagian akan dibuat sendiri dan bahan dasarnya diperoleh dari CV Bumi Indah, Jakarta.

4. Alat penelitian

- a. Elektro-ejakulator berasal dari USA, digunakan untuk mengambil semen.
- b. Mikroskop cahaya, gelas objek dan penutup, bilik hitung Neubauer, tabung reaksi dan sentrifus, dan gelas pewarna; masing-masing digunakan untuk pengamatan jumlah dan kualitas spermatozoa.
- c. Pipet eppendorf 10, 50, dan 100-1000 μL (mikro liter).
- d. Sentrifus, inkubator, vorteks dan jangka sorong sigmoid.
- e. Perangkat alat RIA dan pencacah sinar gamma, digunakan untuk pengukuran kadar hormon dalam serum.

B. Cara kerja

1. Rancangan percobaan

Pemberian pakan yang berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda pada monyet jantan yang disuntik kombinasi TE dan DMPA, dimaksudkan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap frekuensi timbulnya azoospermia. Dengan demikian rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) atau *Completely Randomized Design* (103).

Hewan percobaan dikelompokkan berdasarkan variabel independen utama yaitu

perbedaan kadar protein, lemak dan karbohidrat dalam pakan. Berdasarkan ini, kemudian ditetapkan tiga jenis pakan yaitu:

- (a). Pakan 1, merupakan makanan dasar monyet atau *monkey-chow* dengan kadar lemak 9%, protein 13%, dan karbohidrat 78% kalori. Pakan 1 ini kemudian diberikan pada semua monyet kelompok 1 sebagai kontrol.
- (b). Pakan 2, dengan kadar lemak 15%, protein 15%, dan karbohidrat 70% kalori. Pakan 2 ini kemudian diberikan pada semua monyet kelompok 2 dan merupakan model makanan orang Asia.
- (c). Pakan 3, dengan kadar lemak 35%, protein 25%, dan karbohidrat 40% kalori. Pakan 3 ini diberikan pada semua monyet kelompok 3 sebagai model makanan orang Kaukasia.

Oleh karena kadar protein dan lemak dalam pakan kelompok 1 dan 2 hampir sama yaitu 13% dan 15% protein serta 9% dan 15% lemak, maka dalam pembahasan/pembicaraan selanjutnya kedua kelompok tersebut termasuk kategori kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, sedangkan kelompok 3 termasuk kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

2. Penetapan jumlah monyet

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah monyet jantan berumur 6-9 tahun dengan berat badan antara 4,40-5,20 kg. Persyaratan utama dalam memilih sampel adalah monyet yang memiliki konsentrasi spermatozoa minimal 40 juta/mL semen. Dari 45

ekor monyet yang telah diseleksi terdapat 30 ekor yang memenuhi persyaratan di atas yaitu dengan konsentrasi antara 43,5-484,5 juta/mL. Sebanyak 30 ekor yang memenuhi persyaratan tersebut, kemudian diacak dan ditempatkan pada masing-masing kelompok berdasarkan metode *Stratified random sampling*.

Penetapan jumlah monyet pada tiap kelompok perlakuan ditetapkan berdasarkan pada rumus Federer (104). Apabila t adalah banyaknya kelompok perlakuan yaitu kelompok 1, 2, dan 3, sedangkan n adalah banyaknya monyet tiap kelompok. Jadi (n) dihitung dengan rumus

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

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

$$(3n - 3) \geq 15$$

$$(3n) \geq 15 + 3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Dengan demikian jumlah ulangan yang dibenarkan berdasarkan kaidah statistik minimal 6 ekor untuk tiap kelompok. Untuk menjaga kemungkinan hilangnya sampel, maka jumlah ulangan tiap kelompok 10 ekor, sehingga jumlah sampel seluruhnya adalah 30 ekor monyet jantan.

3. Cara menentukan umur monyet

Penetapan umur monyet yang masih berlaku diantara para ahli primata sampai

sekarang adalah berdasarkan pada pertumbuhan jenis gigi dan tingkat erupsinya (105). Monyet yang digunakan dalam penelitian ini telah memiliki gigi lengkap, yang telah tumbuh semua jenis gigi yaitu gigi seri, taring, gigi premolar pertama, premolar kedua, gigi molar pertama, molar kedua dan molar ketiga. Apabila telah tumbuh gigi molar ketiga, dan gigi seri belum mengalami erupsi maka monyet tersebut berumur sekitar 6 tahun. Selanjutnya apabila pada 1/3 bagian gigi seri telah mengalami erupsi umur monyet tersebut berkisar antara 6-9 tahun, bila ½ bagian gigi seri mengalami erupsi maka umur monyet sekitar 9-12 tahun, sedangkan bila 2/3 bagian gigi seri telah mengalami erupsi maka monyet tersebut berumur lebih dari 12 tahun. Berdasarkan cara penetapan umur seperti ini, maka monyet yang digunakan dalam penelitian berumur antara 6-9 tahun, yang juga merupakan umur dewasa seks.

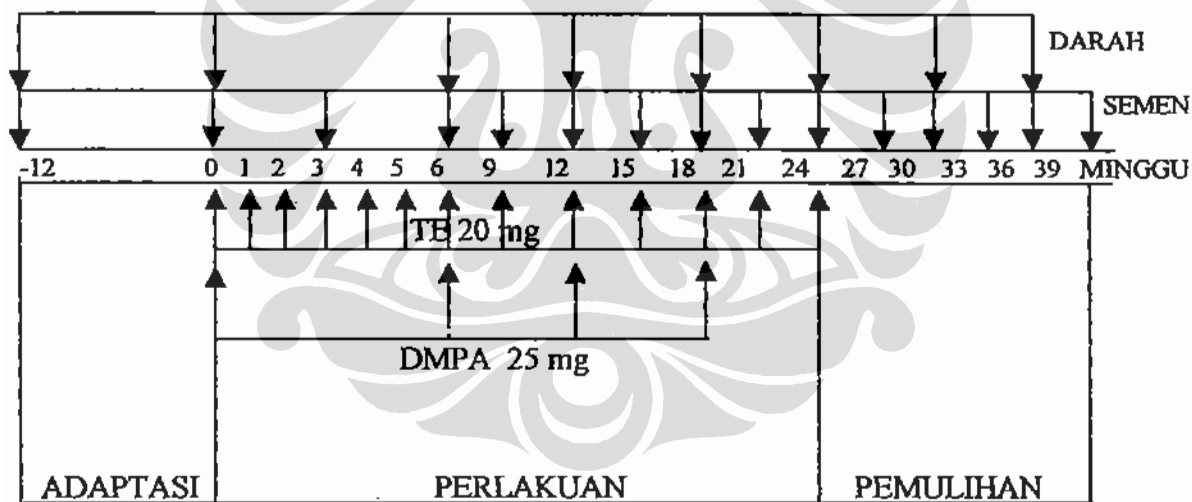
4. Cara perlakuan pada hewan model

Komposisi Pakan yang diberikan pada hewan uji, berdasarkan pada perbedaan kadar protein, lemak dan karbohidrat. Penetapan ini didasarkan pada perbedaan persentase sumber kalori tersebut pada tiap kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1 sebagai kelompok kontrol, kelompok 2 sebagai model makanan bangsa Asia, dan kelompok 3 sebagai model makanan bangsa Kaukasia. Pakan-pakan ini diberikan selama masa penelitian yaitu baik pada masa adaptasi, masa perlakuan, maupun masa pemulihan yaitu dimulai pada minggu ke 12 sebelum penyuntikan kombinasi TE dan DMPA sampai minggu ke 39.

Dosis penyuntikan TE dan DMPA ditetapkan berdasarkan perbandingan berat badan

relawan dalam uji klinik dengan berat badan monyet. Berat badan rata-rata relawan dalam uji klinik adalah 50 kg (2,12,13), sedangkan berat badan monyet monyet yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 kg. Apabila dosis penyuntikan pada uji klinik 200 mg TE dan 250 mg DMPA, maka dosis penyuntikan pada tiap ekor monyet adalah $(5/50 \times 200 \text{ mg TE} = 20 \text{ mg TE})$, dan $(5/50 \times 250 \text{ mg DMPA} = 25 \text{ mg DMPA})$ (Gambar 7).

Sebelum memasuki masa adaptasi 30 ekor monyet tersebut, terlebih dahulu di bagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok 1, 2, dan 3 masing-masing kelompok 10 ekor. Penelitian ini terdiri dari tiga tahapan (Gambar 7) :



Gambar 7. Diagram cara dan lamanya penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, pada ketiga kelompok monyet perlakuan yaitu Kelompok 1, 2, dan 3; serta waktu pengambilan plasma semen dan darah (2,12).

(1). Tahapan adaptasi : merupakan masa sebelum perlakuan penyuntikan kombinasi TE dan

DMPA dimulai. Semua monyet pada masa ini diadaptasikan terlebih dahulu selama 12 minggu (mulai minggu ke -12 sampai minggu ke 0) terhadap kondisi kandang dan terutama makanan (98). Selama masa adaptasi tersebut dilakukan penimbangan berat badan tiap minggu. Di samping itu dilakukan pengamatan oleh dokter hewan terutama terhadap gejala-gejala klinis diare, aktivitas, test tuberkulin dan lain-lain. Jumlah makanan yang dimakan setiap hari juga menjadi catatan utama selama masa adaptasi tersebut, yaitu dengan cara menimbang sisa makanan setiap hari selama 7 hari dan tiap 2 hari sekali selama 12 minggu masa adaptasi.

(2). Tahapan perlakuan: merupakan tahapan yang penting karena pada masa ini semua monyet dari ketiga kelompok perlakuan tersebut disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dosis pemberian, lamanya perlakuan, dan pengambilan data secara lengkap diringkas pada Gambar 7. Tahapan ini memerlukan waktu 24 minggu yaitu dari minggu ke 0 sampai minggu ke 24, pada masa ini pemberian pakan tetap dilakukan. Dosis penyuntikannya adalah sebagai berikut: 20 mg TE mula-mula disuntikan tiap minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 6, kemudian dilanjutkan tiap tiga minggu sekali sampai minggu ke 24. Bersamaan dengan itu disuntikan 25 mg DMPA tiap 6 minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 18 (2,12).

Penyuntikan DMPA sangat efektif dalam menekan sekresi gonadotropin, kelemahannya adalah menurunnya testosteron intratestikuler sehingga dapat mempengaruhi libido. Dengan alasan ini maka kombinasinya dengan TE diharapkan tetap mempertahankan

kadar testosteron yang beredar. Di samping itu TE bekerja secara sinergis dengan DMPA melalui mekanisme umpan balik negatif dalam menekan sekresi gonadotropin. Didasarkan sifat farmakologi TE dan DMPA, maka TE diberikan tiap minggu sampai minggu ke 6 karena waktu efektif TE dalam darah sekitar 7 hari. Adapun penyuntikan TE tiap 3 minggu, dimaksudkan untuk mempertahankan kadar testosteron dalam darah tetap dalam batas-batas normal, hal ini penting untuk menghindari efek samping akibat defisiensi androgen. Waktu efektif DMPA sekitar 12 minggu, penyuntikan DMPA dilakukan tiap 6 minggu, ini dimaksudkan agar tetap efektif dalam menekan sekresi gonadotropin FSH dan LH.

(3). Tahapan pemulihan: merupakan tahapan setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA dihentikan, tetapi perlakuan pakan tetap diberikan. Masa pemulihan ini memerlukan waktu 15 minggu yaitu dari minggu ke 24 sampai minggu ke 39 (Gambar 7).

5. Pemberian pakan

Jumlah pakan yang diberikan selama masa adaptasi, masa perlakuan maupun masa pemulihan pada ketiga kelompok monyet adalah sama yaitu 2 kali 85 gram setiap hari atau pagi 85 gram dan sore 85 gram. Untuk mengetahui jumlah yang di makan maka dilakukan penimbangan berat sisa pakan. Penimbangan sisa pakan ini dilakukan hanya selama masa adaptasi 3 bulan (sekitar 90 hari), dengan pertimbangan bahwa setelah masa adaptasi diperkirakan jumlah pakan yang dimakan telah stabil. Pada minggu pertama selama masa adaptasi penimbangan dilakukan satu kali tiap hari, sedangkan minggu ke 2 sampai minggu ke 12 dilakukan penimbangan sisa pakan tiap dua hari sekali.

C. Pengamatan parameter penelitian

1. Parameter yang diteliti

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi:

(1). Parameter fisik, yang meliputi:

- a. Berat badan
- b. Volume testis

(2). Jumlah dan kualitas spermatozoa, yang meliputi:

- a. Volume semen
- b. Frekuensi azoospermia
- c. Konsentrasi spermatozoa
- d. Viabilitas spermatozoa
- e. Motilitas spermatozoa
- f. Morfologi spermatozoa
- g. Integritas membran spermatozoa.

(3). Kadar hormon dalam serum, yang meliputi:

- a. Testosteron bebas
- b. Testosteron total
- c. Estradiol
- d. FSH
- e. LH

2. Menentukan Jumlah dan kualitas spermatozoa

Untuk menghitung jumlah dan kualitas spermatozoa, maka semen dari masing-masing monyet diambil dengan menggunakan alat Elektro-ejakulator (Gambar 8). Monyet terlebih dahulu dibius dengan ketamin-HCl dengan dosis 5-10 mg/kgBB secara intramuskular di bagian femoral, probe (*rectal-probe*) yang telah diolesi dengan *jelly-lubricant* kemudian dimasukkan ke dalam anus. Tegangan listrik pada alat ditetapkan 15 volt, dengan frekuensi 60 Hz dengan jumlah arus mulai dari 30 mA, 36 mA, dan 42 mA (106). Pada arus 30 mA itu, biasanya penis mulai ereksi, dan selanjutnya terjadi ejakulasi pada jumlah arus yang lebih besar. Semen kemudian ditampung dalam tabung gelas berskala dan dicatat volumenya, selanjutnya dilakukan analisis semen.



Gambar 8. Alat elektro-ejakulator yang digunakan untuk pengambilan plasma semen, alat tersebut terdiri dari dua bagian utama yaitu: A. Mesin, dan B. Probe (*rectal-probe*).

2.1. Volume semen

Semen dikumpulkan dalam tabung gelas berskala 2,5 mL dengan bantuan pipet eppendorf ukuran 50 μ L kemudian dicatat volumenya. Keperluan semen dalam penelitian ini adalah 50 μ L dengan perincian penggunaannya sebagai berikut: 5 kali 10 μ L untuk penghitungan konsentrasi, viabilitas, motilitas, morfologi dan integritas membran spermatozoa.

2.2. Konsentrasi spermatozoa

Plasma semen yang telah berliquifaksi diambil 10 μ L dicampur ke dalam tabung reaksi yang berisi 90 μ L larutan George, aduk pelan-pelan supaya merata dengan menggunakan vorteks. Campuran tersebut kemudian diambil 10 μ L, teteskan ke dalam bilik hitung Neubauer. Untuk menentukan konsentrasi spermatozoa (yang dinyatakan dalam juta/mL), maka bagikan jumlah spermatozoa yang ditemukan dengan faktor konversi seperti pada Tabel I.

TABEL I
BEBERAPA FAKTOR KONVERSI UNTUK BILIK HITUNG NEUBAUER
DAN HUBUNGANNYA DENGAN PENGECERAN

Pengenceran (semen + pengencer)	Jumlah segi empat besar yang dihitung		
	25	10	5
1 + 9	10	4	2
1 + 19	5	2	1
1 + 49	2	0,8	0,4

Sebagai contoh, jika semen telah diencerkan [1 + 9] atau 1 bagian semen ditambah 9 bagian

larutan George dan terhitung 2 spermatozoa dalam 25 kotak segi empat, maka jumlah spermatozoa dalam plasma semen adalah 2 dibagi 10 dan hasilnya sama dengan 0,2 juta/mL (2,107).

2.3. Viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa diperiksa dengan cara pengecatan supravital, yaitu 10 μ L suspensi semen ditambah 10 μ L larutan Eosin-Y 0,5% dicampur di atas gelas objek dan ditutup dengan gelas penutup. Pengamatan sediaan dilakukan dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 400 kali, yang dihitung terhadap 100-200 sperma. Spermatozoa hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati berwarna merah, hasilnya kemudian dinyatakan dalam persen hidup yaitu jumlah spermatozoa hidup dibagi jumlah total spermatozoa hidup dan mati dikalikan 100%(107).

2.4. Motilitas spermatozoa

Untuk penilaian motilitas, suatu volum semen tertentu (10 μ L) teteskan di atas gelas objek yang bersih kemudian tutup dengan kaca penutup ukuran 20x20 mm atau 24x24 mm. Hal ini penting untuk melakukan pembakuan antara volume semen dan kaca penutup, dengan demikian analisis semen dilakukan tetap pada kedalaman tertentu (antara 25 dan 30 μ m). Siapan kemudian diperiksa dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 400 kali. Lapangan pandang diperiksa secara sistematis dan motilitas setiap spermatozoa yang dijumpai kemudian dicatat. Kategori yang dipakai untuk klasifikasi motilitas spermatozoa, akan disebut (a), (b), (c), dan (d); yang didefinisikan sebagai berikut (2,107):

- (a) jika spermatozoa bergerak cepat dan lurus ke depan,
- (b) jika spermatozoa geraknya lambat atau bergerak tidak lurus,
- (c) jika spermatozoa tidak bergerak maju atau gerak ditempat, dan
- (d) jika spermatozoa tidak bergerak.

Biasanya empat sampai enam lapangan pandang yang harus diperiksa untuk mendapatkan seratus spermatozoa secara berurutan, kemudian baru diklasifikasikan sehingga menghasilkan persentase setiap kategori motilitas spermatozoa (2,107).

Dari keempat kategori motilitas spermatozoa tersebut, kemudian dalam penelitian ini hanya diamati satu kategori motilitas yaitu persentase total motilitas spermatozoa. Persentase motilitas spermatozoa ditetapkan dengan cara membagi total jumlah kategori motilitas $(a + b + c)$ dengan total jumlah spermatozoa semua kategori $(a + b + c + d)$ dikalikan 100 persen.

2.5. Morfologi spermatozoa

Untuk mengetahui morfologi spermatozoa, 10 μ L semen diteteskan di atas gelas objek kemudian dibuat sediaan hapus. Selanjutnya difiksasi dengan etanol 70% selama 10-15 menit dan diwarnai dengan Giemsa selama 15-20 menit. Pemeriksaan morfologi ditentukan pada kelainan bentuk primer dan sekunder, kemudian dihitung sebanyak 100-200 spermatozoa dan dinyatakan dalam persen bentuk normal yaitu dengan cara membagi jumlah spermatozoa bentuk normal dengan jumlah total spermatozoa bentuk normal dan abnormal dikalikan 100 persen (2,107).

2.6. Penetapan uji integritas membran spermatozoa

Metode yang digunakan untuk menilai fungsi integritas membran spermatozoa adalah uji *hyposmotic swelling* (HOS). Pemberian larutan HOS pada semen akan menyebabkan larutan yang hiposmotik tersebut masuk ke dalam membran spermatozoa. Indikasi spermatozoa yang memiliki integritas membran yang baik adalah menggelembungnya membran spermatozoa.

Cara pengujiannya adalah, dicampurkan 10 μL semen ke dalam tabung eppendorf yang berisi 100 μL larutan HOS. Pemeriksaan terhadap spermatozoa dilakukan 30-60 menit setelah diinkubasi pada suhu 37°C. Adapun cara penilaiannya adalah diteteskan 10 μL campuran yang telah diinkubasi (semen + larutan HOS) di atas gelas objek. Pembesaran yang dipakai dalam pengamatan di bawah mikroskop pada lapangan gelap adalah 45 x 10 kali. Dari antara 100-200 spermatozoa dengan beberapa lapangan pandang dihitung jumlah sperma yang ekornya melingkar (positif), kemudian dinyatakan dalam persen integritas membran normal spermatozoa yaitu bagikan jumlah spermatozoa HOS-positif dengan jumlah total HOS-positif dan HOS-negatif dikalikan 100 persen (2).

3. Kadar hormon dalam serum

Untuk menganalisis kadar hormon dalam serum, maka melalui vena femoralis diambil sebanyak 7-8 ml darah dengan spuit berukuran 10 mL. Darah kemudian dipusingkan dengan sentrifuse antara 2500-3000 rpm selama 10 menit. Serum kemudian diambil dengan pipet berukuran 100-1000 μL , dengan cara ini biasanya diperoleh serum

sebanyak 2,5-3 mL, selanjutnya dibawa ke Makmal Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI), dan disimpan pada suhu -20°C , sampai dilakukan peneraan kadar hormon dalam serum tersebut menggunakan teknik RIA.

Hormon yang diperiksa dalam penelitian ini meliputi dua jenis hormon yaitu hormon gonadotropin (FSH dan LH) dan hormon steroid (testosteron total, testosteron bebas, dan estradiol). Seluruh pemeriksaannya dilakukan di Makmal Imunoendokrinologi FKUI, Jakarta. Cara pemeriksaan hormon tersebut tidak akan ditulis semua, karena prinsip dasar pemeriksaannya adalah sama yaitu dengan teknik RIA. Peneraan hormon gonadotropin (FSH dan LH) secara RIA dilakukan dengan teknik antibodi rangkap. Sedangkan untuk hormon steroid dilakukan dengan teknik *Coat-A-Count* I^{125} (108).

3.1. Pemeriksaan hormon LH

Langkah-langkah pemeriksaannya sebagai berikut (108):

- (1). Disiapkan 18 tabung standar yaitu: tabung total, tabung NSB (*nonspecific binding*), tabung A (*MB=maximum binding*) dan tabung B sampai G. Juga 60 tabung (duplo) untuk pemeriksaan 30 serum. Siapkan pula enam tabung (duplo) untuk *quality control* (QC) yaitu QC1, QC2, dan QC3.
- (2). Cara kerja selanjutnya; pipet 200 μL standar nol (A=MB) ke dalam tabung NSB dan tabung A, masukkan pula 200 μL standar B ke dalam tabung B dan seterusnya sampai standar G ke dalam tabung G.
- (3). Masukkan masing-masing 200 μL serum ke dalam tabung sampel, kemudian ditam-

bahkan 100 μL anti-serum-LH ke dalam semua tabung kecuali tabung total dan tabung NSB, kemudian divorteks hingga merata.

- (4). Inkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit ke dalam pemanas air.
- (5). Tambahkan 100 μL ^{125}I LH ke dalam seluruh tabung dan divorteks hingga merata.
- (6). Inkubasikan pada suhu kamar selama 60 menit.
- (7). Tambahkan 1,0 mL PEG (polyethylene glycol) ke seluruh tabung kecuali tabung total, dan divorteks sampai merata.
- (8). Sentrifugasikan 3000xg selama 15 menit pada temperatur 4°C .
- (9). Dengan menggunakan rak dekanting, tuangkan supernatan.
- (10). Hitung atau baca pada gamma counter selama 1 menit.

3.2. Pemeriksaan hormon testosteron total

- (1). Disiapkan 16 tabung standar yaitu: tabung total, tabung NSB dan tabung standar A sampai tabung standar F, disiapkan juga tabung QC dan tabung sampel atau serum yang akan diperiksa.
- (2). Cara kerjanya. Pipetkan 50 μL dari standar nol (A) ke dalam tabung total A dan tabung NSB, pipetkan juga 50 μL dari tabung standar B ke dalam tabung B dan seterusnya sampai tabung standar F ke dalam tabung F, dan pipetkan 50 μL serum ke dalam tabung sampel.
- (3). Tambahkan 1,0 mL isotop ^{125}I -testosteron total ke dalam seluruh tabung, tabung total hanya berisisi isotop.

- (4). Inkubasikan pada suhu 37°C selama 3 jam dalam water bath.
- (5). Tuangkan atau decanting, dan tunggu sampai kering.
- (6). Hitung atau cacah pada gamma counter selama 1 menit.

4. Penetapan volume testis

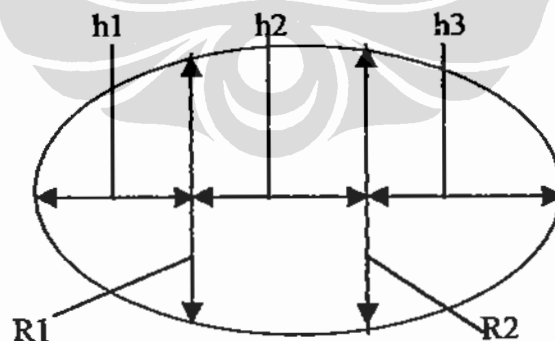
Untuk menentukan besarnya volume testis dilakukan dengan pendekatan rumus matematika. Secara imajiner testis dibagi menjadi tiga bagian: yaitu dua potong segmen lingkaran dengan jarak h_1 dan h_3 cm; dan satu potong bangun kerucut terpenggal yang dibatasi oleh jari-jari R_1 dan R_2 cm dengan panjang sumbu h_2 cm (Gambar 9).

Maka rumus volume testis V_t (cm^3 atau mL) adalah: $V_t = V_1 + V_2 + V_3$

dimana $V_1 = \{(\pi h_1)/6 (3R_1^2 + h_1^2)\}$

$$V_2 = \{(\pi h_2)/3 (R_1^2 + R_1 R_2 + R_2^2)\}$$

$$V_3 = \{(\pi h_3)/6 (3R_2^2 + h_3^2)\}$$



Gambar 9. Pembagian testis secara imajiner untuk menetapkan daerah yang diukur untuk memperoleh besaran-besaran matematika yang diperlukan dalam menentukan volume testis; besaran yang diperlukan adalah R_1 , R_2 , h_1 , h_2 dan h_3 .

5. Analisis statistik

Data dari setiap parameter (variabel) pengamatan dikumpulkan dan disusun ke dalam bentuk tabel pengamatan. Data kuantitatif (variabel dependen) yang diperoleh, diuji kemaknaannya terhadap pengaruh perlakuan dengan bantuan program statistik komputer yaitu program *STATISTICA release 5* dan *SPSS release 6*. Langkah-langkah ujinya sebagai berikut: uji normalitas, uji homogenitas, uji sidik ragam (ANOVA) dua arah untuk model data dengan pengamatan berulang (*repeated measure*) dan uji beda nya terkecil (BNT) atau *least significance different (LSD)*. Sumber variasi yang dinilai dalam uji sidik ragam meliputi: (1) Perbedaan komposisi pakan (K) yaitu kelompok 1, 2, dan kelompok 3; (2) Perbedaan waktu pengamatan (W) yaitu minggu ke -12 sampai minggu ke 39, dan (3) interaksi keduanya (K x W). Dengan demikian analisis sidik ragam dua arah tersebut berdasarkan: faktorial 3 x 15 untuk semua data variabel jumlah dan kualitas spermatozoa, dan faktorial 3 x 8 untuk semua data variabel jenis hormon, masing-masing dengan 10 ulangan ($n=10$).

Keputusan statistik diambil pada taraf nyata 5% ($P = 0,05$), bila dengan uji sidik ragam terhadap ketiga sumber variasi ada perbedaan nyata ($P < 0,05$), maka untuk mengetahui perbedaan diantara sumber variasi dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Parameter Fisik

I. Berat badan

Hasil penimbangan berat badan ketiga kelompok monyet jantan perlakuan, disajikan pada Tabel II.

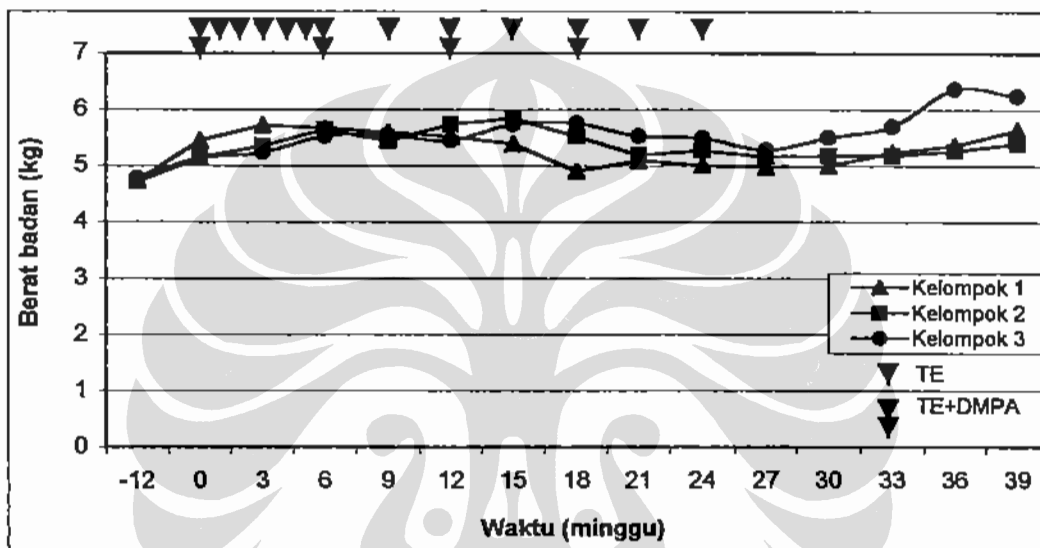
TABEL II
BERAT BADAN KETIGA KELOMPOK MONYET (*Maca fascicularis*)
YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA DAN
SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Berat badan (kg)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	4,74 ± 0,29	4,71 ± 0,25	4,78 ± 0,34
0	5,45 ± 0,47	5,15 ± 0,35	5,14 ± 0,36
3	5,73 ± 0,77	5,35 ± 0,44	5,24 ± 0,43
6	5,68 ± 0,54	5,65 ± 0,37	5,53 ± 0,39
9	5,60 ± 0,37	5,45 ± 0,42	5,55 ± 0,39
12	5,53 ± 0,46	5,74 ± 0,65	5,46 ± 0,45
15	5,39 ± 0,59	5,85 ± 0,63	5,74 ± 0,62
18	4,92 ± 0,26	5,53 ± 0,73	5,76 ± 0,63
21	5,10 ± 0,33	5,19 ± 0,32	5,54 ± 0,41
24	5,01 ± 0,08	5,28 ± 0,43	5,50 ± 0,45
27	4,99 ± 0,17	5,16 ± 0,39	5,29 ± 0,31
30	5,00 ± 0,19	5,18 ± 0,51	5,50 ± 0,49
33	5,24 ± 0,29	5,18 ± 0,51	5,71 ± 0,58
36	5,36 ± 0,29	5,27 ± 0,46	6,37 ± 0,45
39	5,65 ± 0,36	5,40 ± 0,45	6,25 ± 0,52

Keterangan: 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10; 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Hasil uji sidik ragam berat badan ketiga kelompok monyet perlakuan (Lampiran A.2), menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($P=0,2231$) antar kelompok pakan,

tetapi baik waktu pengamatan maupun interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan keduanya berbeda sangat nyata ($P=0,000$). Hubungan ini dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik rata-rata berat badan (kg) ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik dengan kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, dan karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari gambar di atas, terlihat bahwa pemberian pakan yang berbeda tidak menyebabkan perbedaan penambahan berat badan, tetapi dari ketiga kelompok tersebut memperlihatkan ada penambahan berat badan yang sebanding dengan meningkatnya waktu pengamatan. Pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi rata-rata berat badannya cenderung lebih tinggi dibanding dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, terutama pada minggu ke 33, 36 dan 39.

Pada umumnya penambahan berat badan berkaitan dengan jumlah asupan makanan yang diberikan. Pemberian pakan berkadar protein, lemak, dan karbohidrat berbeda cenderung tidak berpengaruh pada selera atau nafsu makan ketiga kelompok hewan model. Hal ini didasarkan pada hasil penimbangan sisa pakan yang dimakan selama 90 hari masa adaptasi, hasil penimbangan sisa pakan tersebut disajikan pada Tabel III.

TABEL III
BERAT RATA-RATA SISA PAKAN YANG DIMAKAN OLEH KETIGA
KELOMPOK MONYET (*Maca fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN
BERBEDA SELAMA 90 HARI MASA ADAPTASI

Waktu (hari ke-)	Berat sisa pakan (gram)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
1-7	8,87 ± 1,64	12,11 ± 0,66	21,21 ± 1,35
9-21	8,71 ± 1,53	10,04 ± 0,94	18,07 ± 1,14
23-35	6,60 ± 0,60	10,28 ± 0,53	18,57 ± 1,63
37-49	8,63 ± 1,50	9,38 ± 0,59	17,42 ± 0,94
51-63	9,39 ± 1,25	8,77 ± 1,29	14,41 ± 1,59
65-77	8,97 ± 1,36	8,52 ± 0,72	15,95 ± 1,43
79-91	8,73 ± 1,44	8,97 ± 1,35	14,94 ± 1,66

Keterangan: 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10; 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
 4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari hasil penimbangan berat sisa pakan yang dimakan oleh ketiga kelompok monyet tersebut, kemudian dilakukan uji sidik ragam (Lampiran A.3) menunjukkan bahwa antara

kelompok 1 tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dibandingkan kelompok 2, sedangkan antara kelompok 1 dan 2 dengan kelompok 3 berbeda sangat nyata ($P<0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa jumlah asupan makanan pada kelompok 1 dan 2 sudah stabil sejak hari ke 1, sedangkan pada kelompok 3 mulai stabil mulai hari ke 9.

2. Volume Testis

Hasil pengukuran volume testis bagian kanan dan kiri dari ketiga kelompok monyet perlakuan disajikan pada Tabel IV.

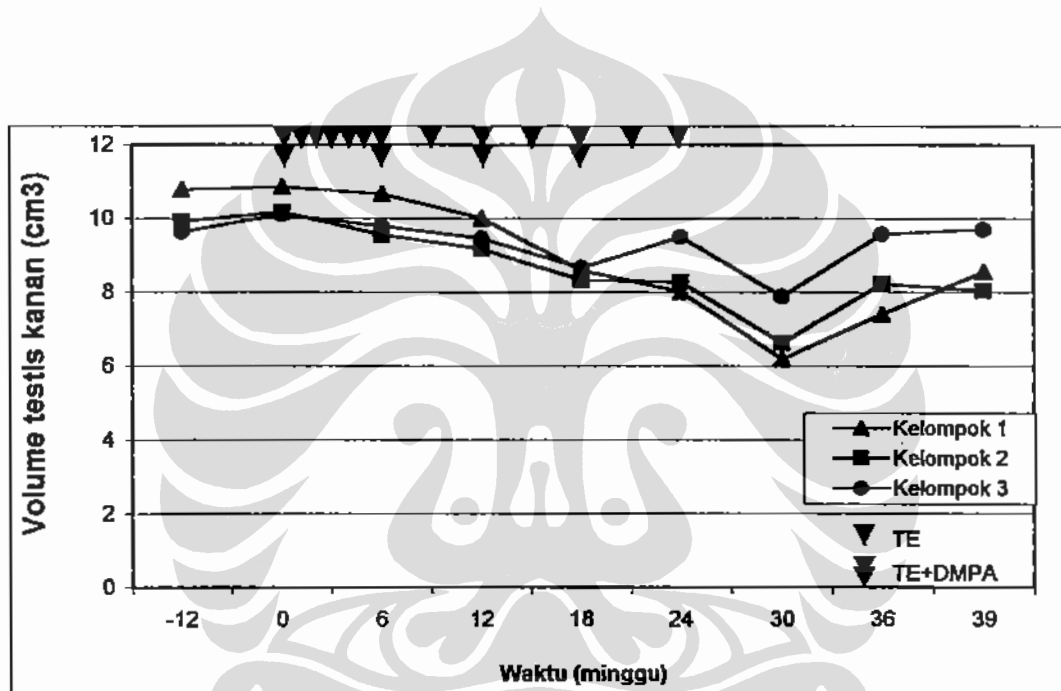
TABEL IV
VOLUME TESTIS KANAN DAN KIRI PADA KETIGA KELOMPOK MONYET JANTAN (*Macaca fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK [TE + DMPA]

Waktu (minggu)	Volume testis kanan dan kiri (cm ³)					
	Kelompok 1		Kelompok 2		Kelompok 3	
	kanan	kiri	kanan	kiri	kanan	kiri
-12	10,78 ± 2,4	10,78 ± 1,6	9,93 ± 3,6	9,69 ± 3,1	9,64 ± 2,4	9,69 ± 2,2
0	10,85 ± 2,1	10,77 ± 1,5	10,17 ± 3,6	9,85 ± 3,6	10,10 ± 2,5	10,16 ± 2,7
6	10,66 ± 2,0	10,61 ± 2,1	9,56 ± 3,4	9,67 ± 3,4	9,79 ± 2,2	9,75 ± 2,5
12	10,02 ± 2,1	10,36 ± 2,4	9,17 ± 3,4	9,42 ± 3,6	9,47 ± 2,4	10,02 ± 2,8
18	8,60 ± 1,4	8,84 ± 2,1	8,34 ± 2,5	8,03 ± 2,6	8,66 ± 2,5	8,46 ± 2,4
24	8,02 ± 1,7	8,06 ± 1,8	8,27 ± 2,6	7,86 ± 2,9	9,51 ± 2,7	8,78 ± 2,5
30	6,19 ± 2,4	5,56 ± 1,7	6,62 ± 2,6	5,56 ± 2,1	7,87 ± 2,5	7,60 ± 2,5
36	7,41 ± 2,1	7,09 ± 2,6	8,23 ± 1,1	7,13 ± 1,7	9,57 ± 2,1	9,32 ± 1,7
39	8,55 ± 3,1	7,97 ± 2,5	8,04 ± 1,8	6,67 ± 0,9	9,71 ± 0,9	8,77 ± 1,6

Keterangan: 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10; 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; 4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Uji sidik ragam volume testis bagian kanan (Lampiran A.4), menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata ($P=0,7635$) antar kelompok pakan; tetapi berbeda sangat nyata

($P=0,0000$) antar waktu pengamatan, dan berbeda nyata ($P=0,0418$) antar interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan. Untuk mengetahui hubungan antara waktu pengamatan dengan kelompok perlakuan, dilukiskan seperti pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik volume testis kanan ketiga kelompok monyet jantan (*M. fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari gambar di atas, terlihat bahwa volume testis pada ketiga kelompok monyet perlakuan cenderung turun sebanding dengan waktu. Pada kelompok 1, volume testis berkurang sangat nyata ($P<0,01$) pada minggu ke 24 sampai minggu ke 36, dan terdapat satu ekor testisnya mengalami atrofi berat yaitu dari volume $11,01 \text{ cm}^3$ pada minggu ke –

12 menjadi 4,24 cm³ pada minggu ke 39. Walaupun demikian, pada umumnya volume testis dari ketiga kelompok monyet perlakuan telah pulih kembali pada minggu ke 39.

B. Jumlah dan Kualitas Spermatozoa

1. Volume semen

Hasil pengukuran volume semen dari ketiga kelompok monyet perlakuan disajikan pada Tabel V.

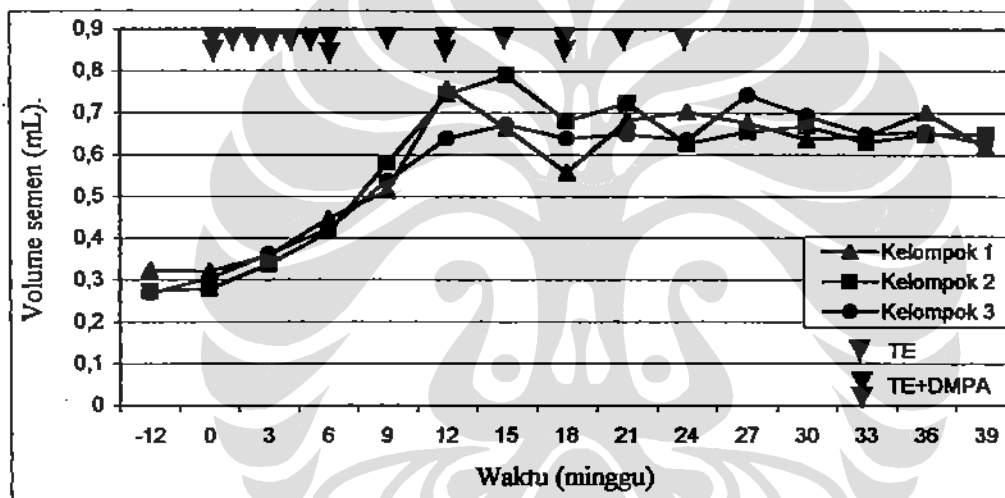
TABEL V
VOLUME SEMEN KETIGA KELOMPOK MONYET (*Macaca fascicularis*)
YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA DAN
SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Volume semen (mL)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	0,324 ± 0,09	0,273 ± 0,06	0,269 ± 0,07
0	0,321 ± 0,07	0,279 ± 0,08	0,304 ± 0,07
3	0,359 ± 0,09	0,338 ± 0,08	0,362 ± 0,06
6	0,448 ± 0,06	0,416 ± 0,11	0,423 ± 0,06
9	0,514 ± 0,08	0,580 ± 0,11	0,538 ± 0,11
12	0,758 ± 0,26	0,745 ± 0,24	0,639 ± 0,15
15	0,664 ± 0,17	0,790 ± 0,25	0,672 ± 0,28
18	0,588 ± 0,24	0,682 ± 0,25	0,639 ± 0,26
21	0,683 ± 0,25	0,723 ± 0,23	0,649 ± 0,20
24	0,703 ± 0,20	0,626 ± 0,16	0,636 ± 0,15
27	0,676 ± 0,13	0,656 ± 0,18	0,744 ± 0,18
30	0,638 ± 0,11	0,669 ± 0,13	0,694 ± 0,14
33	0,646 ± 0,09	0,630 ± 0,12	0,649 ± 0,13
36	0,702 ± 0,11	0,649 ± 0,10	0,656 ± 0,18
39	0,617 ± 0,13	0,650 ± 0,06	0,628 ± 0,08

Keterangan:

1.Data (rata-rata ± SD), jumlah ulangan tiap kelompok (n=10); 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%
 3.Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; 4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Hasil uji sidik ragam volume semen ketiga kelompok monyet (Lampiran A.5), menunjukkan bahwa sumber keragaman kelompok pakan dan interaksi antara waktu pengamatan dengan kelompok pakan tidak berbeda nyata ($P=0,8136$) dan ($P=0,9418$); sedangkan sumber keragaman waktu pengamatan berbeda sangat nyata ($P=0,0000$). Kecenderungan ini dilukiskan seperti pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik volume semen (mL) ketiga kelompok monyet jantan (*M. fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari gambar di atas, terlihat bahwa volume semen yang diperoleh dari ketiga kelompok monyet perlakuan adalah sama; tetapi volumenya bertambah sebanding dengan waktu pengambilan semen. Dengan kata lain, semakin sering dilakukan pengambilan semen dengan alat elektro ejakulator ini, maka volume semen akan bertambah pula.

Volume semen rata-rata tertinggi pada kelompok 1 sebanyak 0,758 mL terjadi pada minggu ke 12, kelompok 2 sebanyak 0,790 mL pada minggu ke 15, sedangkan kelompok 3 sebanyak 0,740 mL diperoleh pada minggu ke 27.

2. Frekuensi azoospermia

Berdasarkan jumlah individu yang mengalami azoospermia pada tiap-tiap kelompok perlakuan, kemudian ditentukan frekuensi timbulnya azoospermia dan dinyatakan dalam persentase azoospermia. Penetapannya dilakukan dengan cara membagi banyaknya individu yang mengalami azoospermia (Az) dengan banyaknya individu dalam satu kelompok (n) dikalikan 100%.

$$\text{Jadi: Persentase Azoospermia} = \frac{\text{Az}}{n} \times 100\%$$

Hasil penghitungan frekuensi timbulnya azoospermia pada tiap-tiap kelompok berdasarkan waktu pengamatan, disajikan pada Tabel VI. Pada kelompok 1 dan kelompok 2, frekuensi timbulnya azoospermia adalah 100% sedangkan kelompok 3 hanya 70% yang mengalami azoospermia.

Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, maka dilakukan uji perbedaan proporsi dengan uji Z pada taraf nyata 5%, sebagai berikut: apabila proporsi timbulnya azoospermia pada kelompok yang diberi pakan protein dan lemak rendah ($p_1 = 1$), berarti ($q_1 = 0$); sedangkan proporsi azoospermia pada kelompok yang diberi pakan protein dan lemak tinggi ($p_2 = 0,7$), berarti ($q_2 = 0,3$) maka :

$$Z_{(hitung)} = \frac{p1 - p2}{\sqrt{(p1q1)/n1 + p2q2/n2}}$$

$$= 0,3/\sqrt{0,021} = 0,3/0,1449 = 2,07 > Z_{(tabel 5\%)} 1,96.$$

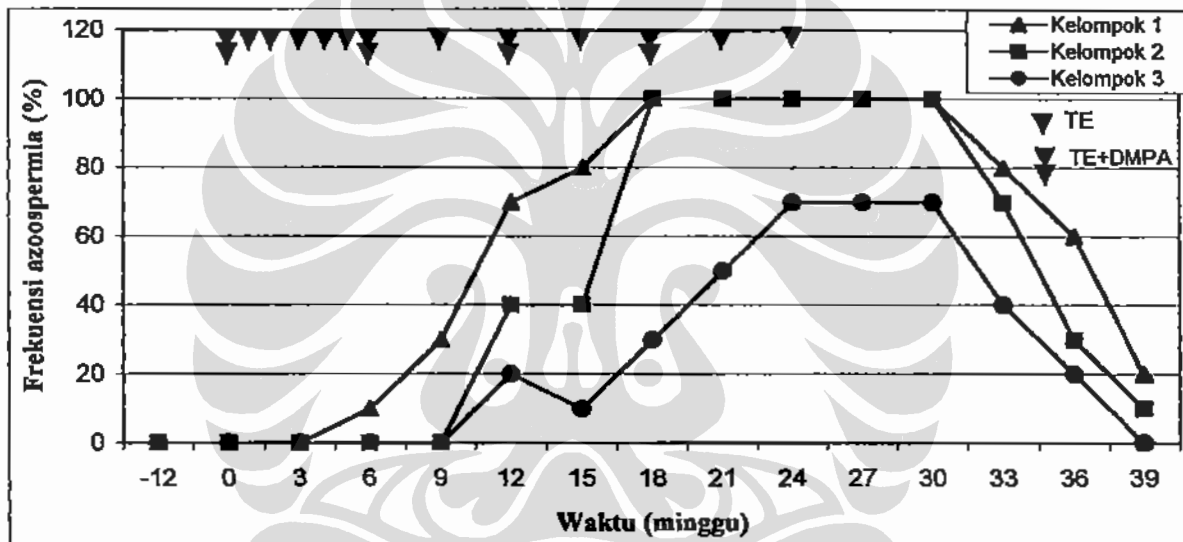
Berdasarkan hasil uji proporsi (Uji Z) tersebut, dapat diketahui bahwa frekuensi timbulnya azoospermia antara kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar protein dan lemak rendah yaitu kelompok 1 dan 2, berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi atau kelompok 3.

TABEL VI
FREKUENSI TIMBULNYA AZOOSPERMIA KETIGA KELOMPOK MONYET JANTAN (*Macaca fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Frekuensi timbulnya azoospermia (%)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	0	0	0
0	0	0	0
3	0	0	0
6	10	0	0
9	30	0	0
12	70	40	20
15	80	40	10
18	100	100	30
21	100	100	50
24	100	100	70
27	100	100	70
30	100	100	70
33	80	70	40
36	60	30	20
39	20	10	0

Keterangan: Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Frekuensi timbulnya azoospermia pada kelompok 1 dan 2 lebih tinggi daripada kelompok 3. Tingkat azoospermia 100% pada kelompok 1 dan 2 terjadi pada minggu ke 18 yang dipertahankan sampai minggu ke 30. Pada kelompok 3, tingkat azoospermia tertinggi adalah 70% yang terjadi pada minggu ke 24 dan dipertahankan sampai minggu ke 30 (Gambar 13).



Gambar 13. Persentase azoospermia dari ketiga kelompok monyet jantan (*M. fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari hasil penelitian ini (Gambar 13) terlihat bahwa kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak 35%, protein 25% dan karbohidrat 40% maka frekuensi timbulnya azoospermia lebih rendah yaitu 70% dibandingkan dengan kedua kelompok monyet lainnya yang diberi pakan dengan kadar lemak 9% dan 15%, protein 13% dan 15%

dan karbohidrat 70% dan 78% maka terjadinya azoospermia mencapai 100% terutama selama disuntik kombinasi TE dan DMPA.

3. Konsentrasi spermatozoa

Hasil penghitungan konsentrasi spermatozoa disajikan pada Tabel VII. Hasil uji sidik ragam (Lampiran A.6); menunjukkan ada perbedaan nyata antar kelompok pakan ($P=0,042$), dan perbedaan sangat nyata ($P=0,000$) antar waktu pengamatan, tetapi interaksi antar kelompok pakan dengan waktu tidak berbeda nyata ($P=0,069$).

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi spermatozoa antara kelompok 1 tidak berbeda dengan kelompok 2 ($P=0,883$), tetapi menunjukkan perbedaan nyata ($P=0,025$) antar kelompok 1 dengan kelompok 3 dan kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P=0,034$) (Tabel VIII).

Hasil uji BNT terhadap waktu pengamatan, menunjukkan bahwa waktu pengamatan selama masa adaptasi yaitu antara minggu ke -12 dibandingkan dengan minggu ke 0 tidak berbeda nyata ($P=0,698$) (Tabel IX). Tetapi baik kelompok pakan 1, 2 dan 3 jumlah spermatozoa tersebut menurun sangat nyata ($P<0,01$) selama masa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA.

Rata-rata jumlah spermatozoa pada ketiga kelompok menurun secara bermakna mulai minggu ke 6, dan laju penurunannya lebih tajam terjadi pada kelompok 1 dan 2 dibanding kelompok 3. Pada minggu ke 6 tersebut, kelompok 1 dan 2 turun drastis dan mencapai kondisi oligospermia dengan konsentrasi sperma kurang dari 10 juta/mL.

TABEL VII
KONSENTRASI SPERMATOZOA KETIGA KELOMPOK MONYET JANTAN
(*Macaca fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA
DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Konsentrasi spermatozoa (juta/mL)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	203,80 ± 150,23 (43,50-447,50)	209,05 ± 157,92 (44,50-484,50)	209,60 ± 161,89 (47,00-473,00)
0	214,30 ± 151,58 (54,00-472,50)	213,35 ± 139,17 (43,50-452,50)	211,25 ± 150,43 (56,50 - 452,50)
3	41,57 ± 28,88 (7,50 - 80,00)	58,10 ± 39,74 (4,25 - 101,50)	152,57 ± 90,16 (34,75-293,75)
6	6,14 ± 5,58 (0,00-15,50)	4,95 ± 4,02 (0,70 - 13,50)	97,90 ± 59,62 (24,80-221,25)
9	1,15 ± 1,55 (0,00 - 4,80)	2,50 ± 2,97 (0,20 - 9,80)	82,12 ± 66,85 (3,40 - 175,00)
12	0,87 ± 2,12 (0,00 - 6,80)	1,55 ± 2,24 (0,00 - 5,95)	58,22 ± 50,44 (0,00 - 117,50)
15	0,28 ± 0,64 (0,00 - 1,90)	1,42 ± 2,50 (0,00 - 7,00)	33,05 ± 35,87 (0,00 - 92,90)
18	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	20,08 ± 29,89 (0,00 - 91,00)
21	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	10,47 ± 14,11 (0,00 - 39,50)
24	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	2,41 ± 5,40 (0,00-17,20)
27	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	3,65 ± 7,56 (0,00-21,40)
30	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	1,42 ± 2,80 (0,00-5,20)
33	0,14 ± 0,30 (0,00 - 0,80)	0,34 ± 0,63 (0,00 - 1,80)	10,10 ± 22,50 (0,00 - 71,00)
36	0,82 ± 1,25 (0,00 - 3,10)	1,22 ± 1,62 (0,00 - 4,80)	9,28 ± 12,66 (0,00-42,30)
39	3,94 ± 5,02 (0,00 - 12,50)	10,32 ± 8,95 (0,00 - 22,00)	48,26 ± 52,61 (0,80-152,50)

Keterangan:

1. Data \bar{X} rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka ($X_{\text{terendah}} - X_{\text{tertinggi}}$)
2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Selanjutnya pada sebagian individu kelompok 1 dan 2, mencapai ke keadaan oligozoospermia berat (jumlah spermatozoa < 5 juta/mL) dipertahankan mulai minggu ke 6 sampai minggu ke 15. Pada minggu ke 18 semua individu pada kedua kelompok ini telah mencapai azoospermia yang dipertahankan sampai minggu ke 30.

TABEL VIII
HASIL UJI BNT DARI KELOMPOK PAKAN TERHADAP
KONSENTRASI SPERMATOZOA

Kelompok pakan	Probabilitas hasil uji BNT [Ⓔ]		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
	31,53*	33,52*	63,36*
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,8829*	-	-
Kelompok 3	0,0245**	0,0339**	-

Keterangan: [Ⓔ] Angka dalam kolom merupakan probabilitas ^{*)} Angka rata-rata tiap kelompok pakan n=150
^{*)} Tidak berbedanya (P>0,05); ^{**}) Berbedanya (P<0,05)

Di samping itu terlihat pula bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa pada minggu ke 0 berbeda sangat nyata (P=0,000) dibandingkan minggu ke 39 (Tabel IX), ini berarti meskipun spermatozoa telah muncul kembali pada minggu ke 39 tetapi belum pulih kembali sama dengan minggu ke 0. Untuk mengetahui hubungan antar kelompok perlakuan dengan waktu pengamatan terhadap konsentrasi spermatozoa, dapat dilihat pada Gambar 14.

Terlihat pula bahwa kecepatan terjadinya oligozoospermia yaitu spermatozoa kurang dari 20 juta/mL) dan azoospermia adalah berbeda pada masing-masing kelompok perlakuan (Gambar 14). Tiga ekor monyet pada kelompok 1 mulai terjadi azoospermia

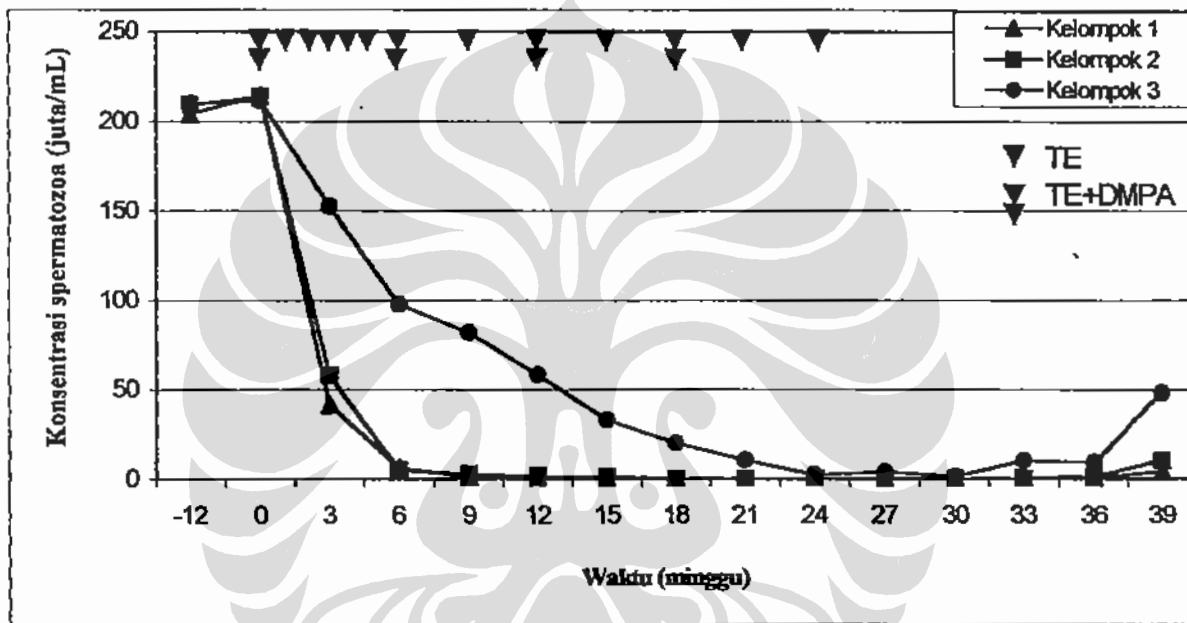
pada minggu ke 6 sampai minggu ke 36 atau lebih kurang selama 7,5 bulan; sedangkan pada kelompok 2, empat ekor monyet mulai azoospermia pada minggu ke 12 yang dipertahankan sampai minggu ke 36 atau lebih kurang selama 7 bulan.

TABEL IX
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU PENGAMATAN
TERHADAP KONSENTRASI SPERMATOZOA

Waktu (minggu)	Probabilitas nilai BNT ⁶⁾									
	-12	0	3	6	9	12	15	18	21	24
	207,48*	212,97	84,08	36,33	28,59	20,21	11,58	6,69	3,49	0,80
-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	0,698	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,000	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,000	0,000	0,001	-	-	-	-	-	-	-
9	0,000	0,000	0,000	0,584	-	-	-	-	-	-
12	0,000	0,000	0,000	0,254	0,553	-	-	-	-	-
15	0,000	0,000	0,000	0,081	0,229	0,542	-	-	-	-
18	0,000	0,000	0,000	0,036	0,122	0,339	0,729	-	-	-
21	0,000	0,000	0,000	0,021	0,076	0,237	0,567	0,821	-	-
24	0,000	0,000	0,000	0,012	0,049	0,170	0,445	0,676	0,849	-
27	0,000	0,000	0,000	0,013	0,053	0,180	0,463	0,698	0,872	0,976
30	0,000	0,000	0,000	0,012	0,047	0,163	0,432	0,659	0,831	0,981
33	0,000	0,000	0,000	0,021	0,077	0,238	0,568	0,822	0,997	0,847
36	0,000	0,000	0,000	0,022	0,08	0,245	0,580	0,836	0,984	0,833
39	0,000	0,000	0,000	0,27	0,584	0,964	0,512	0,317	0,220	0,156
Waktu (minggu)	27	30	33	36	39					
	1,217 ⁷⁾	0,473	3,527	3,773	20,84					
27	-	-	-	-	-					
30	0,958	-	-	-	-					
33	0,870	0,829	-	-	-					
36	0,856	0,815	0,986	-	-					
39	0,165	0,150	0,221	0,227	-					

Keterangan: ⁶⁾ Angka dalam kolom merupakan probabilitas
⁷⁾ Angka rata-rata variabel waktu n=30

Pada kelompok 3, satu ekor monyet azoospermia pada minggu ke 12 sampai minggu ke 33 atau lebih kurang selama 6,5 bulan, dua ekor azoospermia minggu ke 18 sampai minggu ke 33 dan seekor lainnya azoospermia mulai minggu ke 18-36.



Gambar 14. Konsentrasi spermatozoa (juta/mL) ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda, sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Di samping itu, 2 ekor monyet pada kelompok 1 dan 1 ekor monyet pada kelompok 2 tetap azoospermia sampai akhir penelitian ini minggu ke 39, sedangkan individu lainnya konsentrasi spermatozoa antara 0,50 – 105,50 juta/mL. Ini berarti tingkat pemulihan atau waktu munculnya spermatozoa antar kelompok pakan juga berbeda. Pada kelompok 3 semua individu (100%) spermatozoanya muncul kembali dengan konsentrasi

antara 1,20-42,30 juta/mL pada minggu ke 36 dan antara 0,80-152,50 juta/mL pada minggu ke 39.

Dari hasil penelitian yang diuraikan di atas maka telah dapat dibuktikan bahwa: Pertama, menurunnya konsentrasi spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Kedua, meningkatnya kembali konsentrasi spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat jika dibandingkan dengan pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

4. Viabilitas spermatozoa

Hasil penghitungan jumlah spermatozoa hidup disajikan pada Tabel X. Hasil uji sidik ragam data tersebut (Lampiran A.7), menunjukkan bahwa dari ketiga sumber keragaman yang diuji ternyata terdapat perbedaan sangat nyata yaitu: baik variabel kelompok pakan ($P=0,000$), waktu pengamatan ($P=0,000$), maupun interaksi antar kelompok pakan dengan waktu pengamatan ($P=0,0002$). Selanjutnya dilakukan uji BNT, untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pakan, hasilnya disajikan pada Tabel XI.

Dari tabel terlihat bahwa kelompok 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok 2 ($P=0,08$) tetapi berbeda sangat nyata ($P=0,00$) dengan kelompok 3, demikian juga antara kelompok 2 berbeda sangat nyata dengan kelompok 3 ($P=0,0003$). Ini berarti penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kelompok monyet yang diberi pakan berbeda, menyebab-

TABEL X
PERSENTASE SPERMATOZOA HIDUP PADA KETIGA KELOMPOK MONYET
JANTAN (*M. fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM
SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Persentase spermatozoa hidup (%)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	82,29 ± 3,66 (75,82-88,05)	83,71 ± 3,76 (78,95-89,95)	83,22 ± 4,99 (77,73-90,11)
0	84,77 ± 3,73 (79,89-90,21)	83,39 ± 3,86 (76,86-90,12)	85,09 ± 4,10 (79,80-90,50)
3	74,44 ± 3,96 (68,04-79,80)	74,94 ± 5,71 (65,54-84,04)	76,41 ± 4,48 (69,52-82,66)
6	61,72 ± 22,55 (0,00-78,57)	66,78 ± 7,69 (53,39-78,00)	74,44 ± 6,29 (64,55-88,34)
9	42,03 ± 30,88 (0,00-81,92)	67,16 ± 10,07 (42,85-77,35)	73,21 ± 5,12 (62,74-79,00)
12	34,47 ± 30,72 (0,00-77,35)	19,53 ± 31,90 (0,00-69,29)	55,40 ± 31,01 (0,00-83,76)
15	31,79 ± 30,38 (0,00-62,50)	11,73 ± 24,80 (0,00-77,45)	58,93 ± 23,59 (0,00-77,98)
18	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	41,58 ± 29,74 (0,00-59,80)
21	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	21,64 ± 23,13 (0,00-53,39)
24	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	13,44 ± 21,80 (0,00-51,25)
27	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	11,04 ± 17,82 (0,00-40,00)
30	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	16,07 ± 25,95 (0,00-57,89)
33	7,26 ± 15,56 (0,00-42,25)	11,64 ± 18,88 (0,00-42,50)	27,64 ± 24,48 (0,00-52,25)
36	37,25 ± 27,05 (0,00-68,42)	23,17 ± 30,45 (0,00-67,41)	51,56 ± 27,73 (0,00-73,68)
39	45,97 ± 25,46 (0,00-69,12)	53,54 ± 22,09 (0,00-70,00)	64,76 ± 8,49 (50,00-74,46)

Keterangan:

1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (X terendah - X tertinggi);
2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; 4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%;

kan perbedaan persentase spermatozoa hidup; dimana kelompok 3 mempunyai rata-rata sperma-tozoa hidup yang lebih tinggi dibanding kelompok 1 dan 2.

Berdasarkan hasil uji sidik ragam ternyata waktu pengamatan berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa hidup dan untuk itu telah dilakukan uji BNT, hasilnya disajikan pada Tabel XII. Selanjutnya, uji sidik ragam terhadap persentase spermatozoa hidup menunjukkan bahwa interaksi antar kelompok pakan dengan waktu pengamatan ada perbedaan sangat nyata ($P=0,0002$), kecenderungan perbedaan tersebut dapat dilihat pada Gambar 15.

TABEL XI
HASIL UJI BNT VARIABEL KELOMPOK PAKAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA HIDUP

Kelompok pakan	Probabilitas hasil uji BNT [@]		
	Kelompok 1 30,19 [#]	Kelompok 2 36,31 [#]	Kelompok 3 50,29 [#]
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,0800*	-	-
Kelompok 3	0,0000***	0,0003***	-

Keterangan: [@] Angka dalam kolom merupakan probabilitas.

[#] Angka rata-rata tiap kelompok pakan n=150

* Tidak berbeda nyata ($P>0,05$). *** Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Rata-rata jumlah spermatozoa hidup menurun sangat nyata mulai minggu ke 9 pada kelompok 1 dan 2, tetapi pada kelompok 3 keadaan tersebut terjadi pada minggu ke 12. Dengan demikian ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA jumlah spermatozoa hidup kurang dari 60% terjadi pada minggu ke 12, yang dipertahankan sampai minggu ke 36. Pada minggu ke 39 jumlah spermatozoa hidup tetap kurang dari 60% terjadi pada kelompok 1 dan 2. Walaupun demikian, bila dibandingkan

dengan data minggu ke -12 dan ke 0, ketiga kelompok monyet perlakuan jumlah spermatozoa hidup belum pulih kembali ($P=0,00$).

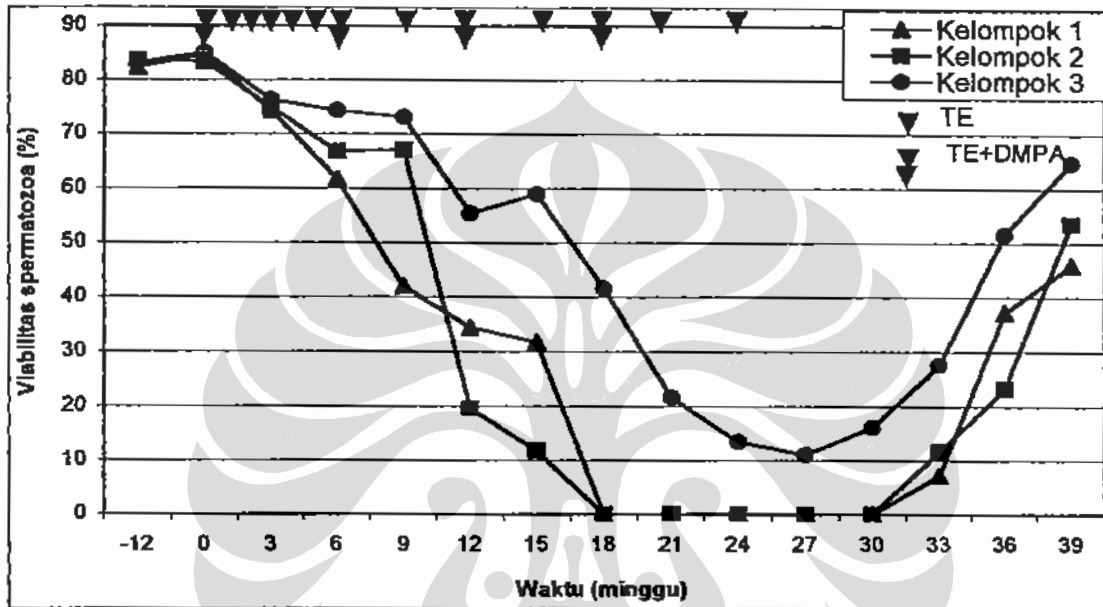
TABEL XII
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU TERHADAP
JUMLAH SPERMATOZOA HIDUP

Waktu (minggu)	Probabilitas nilai BNT ^{*)}									
	-12	0	3	6	9	12	15	18	21	24
	83,07 ^{*)}	84,42	75,26	67,64	60,80	36,47	34,15	13,86	7,21	4,48
-12	-									
0	0,757	-								
3	0,075	0,036	-							
6	0,000	0,001	0,082	-						
9	0,000	0,000	0,001	0,118	-					
12	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-				
15	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,596	-			
18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-		
21	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,129	-	
24	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,532	-
27	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,419	0,855
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,052	0,671	0,840
33	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,705	0,058	0,012
36	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,844	0,468	0,000	0,000	0,000
39	0,000	0,000	0,000	0,000	0,167	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Waktu (minggu)	27	30	33	36	39					
	3,68	5,36	15,51	37,33	54,75					
27	-									
30	0,701	-								
33	0,007	0,021	-							
36	0,000	0,000	0,000	-						
39	0,000	0,000	0,000	0,000	-					

Keterangan: *) Angka dalam kolom merupakan probabilitas
) Angka rata-rata variabel waktu ($n=30$)

Menurunnya persentase spermatozoa hidup selama penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet berbeda, terutama setelah minggu ke 9. Pada kelompok 1 spermatozoa hidup menurun sangat nyata yaitu sekitar 40% yang berbeda dengan kelompok 3 sekitar 70%. Keadaan ini menunjukkan bahwa penurunan persentase spermatozoa hidup pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah

lebih cepat dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.



Gambar 15. Persentase spermatozoa hidup ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Di samping itu, pada kelompok 3 persentase spermatozoa hidup meningkat kembali mencapai sekitar 65% pada minggu ke 39, sedangkan pada kelompok 1 dan 2 baru mencapai sekitar 45% dan 55%. Dengan demikian meningkatnya kembali persentase spermatozoa hidup pada kelompok yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

5. Motilitas spermatozoa

Hasil penghitungan jumlah spermatozoa motil pada ketiga kelompok monyet jantan disajikan pada Tabel XIII. Hasil uji sidik ragam data di atas (Lampiran A.8), menunjukkan bahwa dari ketiga sumber variasi yang diuji ketiganya berbeda sangat nyata baik kelompok pakan ($P=0,000$), waktu pengamatan ($P=0,000$) maupun interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan ($P=0,016$). Selanjutnya dilakukan uji BNT variabel kelompok pakan, hasilnya disajikan pada Tabel XIV.

Penyuntikan kombinasi TE dengan DMPA terhadap ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berbeda, pengaruhnya terhadap spermatozoa motil ternyata berbeda pula. Hal ini terlihat bahwa, persentase spermatozoa motil antara kelompok 1 dengan kelompok 2 tidak berbeda nyata ($P=0,257$), tetapi menunjukkan perbedaan sangat nyata antara kelompok 1 dengan kelompok 3 ($P=0,000$) demikian juga antara kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P=0,0003$). Oleh karena hasil uji sidik ragam terhadap variabel waktu pengamatan berbeda sangat nyata ($P=0,000$), maka dilakukan uji BNT dan hasilnya disajikan dalam Tabel XV.

Penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berbeda, pengaruhnya terhadap motilitas spermatozoa berhubungan dengan waktu. Pada minggu ke 3 selama penyuntikan motilitas spermatozoa menurun sangat nyata ($P=0,018$) dibandingkan dengan minggu ke -12 sebelum penyuntikan, keadaan ini diper tahankan sampai minggu ke 39 ($P=0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata persentase spermatozoa motil dari ketiga kelompok monyet belum pulih kembali (Tabel XV).

TABEL XIII
JUMLAH SPERMATOZOA MOTIL PADA KETIGA KELOMPOK MONYET
(*M. fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA
DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Jumlah spermatozoa motil (%)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	77,51 ± 5,00 (71,42-85,71)	79,31 ± 6,83 (67,44-87,17)	80,54 ± 5,66 (70,43-87,20)
0	81,55 ± 4,85 (72,85-88,05)	80,01 ± 4,51 (70,89-84,98)	81,89 ± 3,92 (76,34-89,00)
3	70,69 ± 5,13 (62,71-77,86)	69,19 ± 3,92 (63,13-77,16)	72,35 ± 5,93 (64,06-80,00)
6	55,40 ± 22,28 (0,00-69,12)	56,99 ± 12,57 (43,24-69,53)	68,63 ± 5,13 (60,45-76,87)
9	35,35 ± 27,94 (0,00-76,92)	49,53 ± 15,35 (25,00-70,83)	61,20 ± 12,84 (33,33-75,96)
12	23,89 ± 21,49 (0,00-58,33)	13,85 ± 22,89 (0,00-46,66)	42,82 ± 27,94 (0,00-75,30)
15	15,95 ± 15,48 (0,00-42,11)	7,54 ± 16,04 (0,00-41,17)	35,93 ± 22,54 (0,00-73,68)
18	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	30,27 ± 24,51 (0,00-64,28)
21	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	16,91 ± 18,44 (0,00-41,18)
24	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	10,23 ± 17,00 (0,00-44,44)
27	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	7,65 ± 12,97 (0,00-35,50)
30	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	9,68 ± 15,75 (0,00-36,84)
33	3,70 ± 9,37 (0,00-29,50)	4,06 ± 7,01 (0,00-17,5)	17,78 ± 20,35 (0,00-60,55)
36	26,82 ± 20,85 (0,00-48,46)	17,13 ± 22,23 (0,00-52,08)	42,53 ± 26,81 (0,00-68,48)
39	38,48 ± 23,23 (0,00-65,00)	46,95 ± 20,82 (0,00-66,50)	56,37 ± 13,16 (30,00-72,00)

Keterangan: 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (X terendah - X tertinggi)
 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
 4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

TABEL XIV
HASIL UJI BNT VARIABEL KELOMPOK PAKAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA MOTIL

Kelompok pakan	Probabilitas hasil uji BNT [ⓐ]		
	Kelompok 1 26,75 [#]	Kelompok 2 30,18 [#]	Kelompok 3 42,32 [#]
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,2572*	-	-
Kelompok 3	0,0000***	0,0003***	-

Keterangan: [ⓐ]) Angka dalam kolom merupakan probabilitas; [#]) Angka rata-rata tiap kelompok n=150
 *) Tidak berbeda nyata (P>0,05); ***) Berbeda sangat nyata (P<0,01)

Melalui Gambar 16 berikut ini dapat diketahui hubungan antara waktu dengan kelompok, terhadap penurunan persentase spermatozoa motil ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA. Pada kelompok 1 dan 2, jumlah spermatozoa motil turun menjadi kurang dari 60% terjadi pada minggu ke 6; sedang kelompok 3 terjadi pada minggu ke 12. Motilitas spermatozoa kurang dari 50% terjadi pada minggu ke 9. Spermatozoa motil 0% sampai kurang dari 20% baik pada kelompok 1 dan 2, terjadi mulai minggu ke 12. Pada kelompok 3 motilitas spermatozoa kurang dari 20% terjadi mulai minggu ke 21 sampai minggu ke 33. Keadaan ini menunjukkan bahwa penurunan persentase spermatozoa motil pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

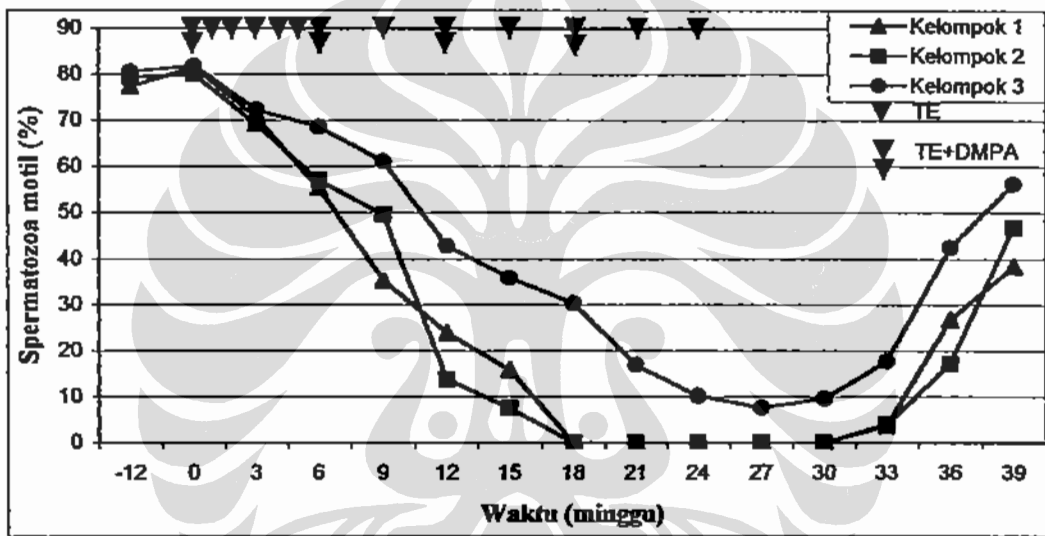
TABEL XV
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU PENGAMATAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA MOTIL

Waktu (minggu)	Probabilitas nilai BNT ^{a)}									
	-12 79,12 ^{b)}	0 81,15	3 70,75	6 60,34	9 48,69	12 26,85	15 19,81	18 10,09	21 5,64	24 3,41
-12	-									
0	0,566	-								
3	0,018	0,003	-							
6	0,000	0,001	0,003	-						
9	0,000	0,000	0,001	0,001	-					
12	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-				
15	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,047	-			
18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	-		
21	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,208	-	
24	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,059	0,529	-
27	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,383	0,808
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,053	0,496	0,958
33	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,656	0,416	0,149
36	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,577	0,011	0,000	0,000	0,000
39	0,000	0,000	0,000	0,000	0,687	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Waktu (minggu)	27	30	33	36	39					
	2,55	3,23	8,51	28,83	47,27					
27	-									
30	0,848	-								
33	0,092	0,135	-							
36	0,000	0,000	0,000	-						
39	0,000	0,000	0,000	0,000	-					

Keterangan: ^{a)} Angka dalam kolom merupakan probabilitas; ^{b)} Angka rata-rata variabel waktu n=30

Motilitas spermatozoa meningkat kembali mencapai kurang dari 50% terjadi pada minggu ke 36. Walaupun demikian sampai penelitian ini dihentikan pada minggu ke 39, motilitas spermatozoa tetap kurang dari 60% terjadi baik kelompok 1, 2 dan 3. Hal yang menarik adalah bahwa kecenderungan akan meningkatnya kembali motilitas spermatozoa berbeda antar kelompok. Pada kelompok 1 dan 2 motilitas spermatozoa 17,13% dan 26,82% terjadi pada minggu ke 36; sedangkan kelompok 3 meningkat mencapai 42,53%. Hal serupa juga terjadi pada minggu ke 39 pada kelompok 1, 2 dan 3

berturut-turut adalah 38,48%, 46,95% dan 56,37%. Dengan demikian meningkatnya kembali persentase spermatozoa motil pada kelompok yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.



Gambar 16. Persentase spermatozoa motil dari ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

6. Morfologi spermatozoa

Hasil pengamatan persentase spermatozoa bentuk normal disajikan pada Tabel XVI. Selanjutnya, dilakukan uji sidik ragam (Lampiran A.9), hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sangat nyata pada ketiga sumber keragaman yang diuji yaitu

TABEL XVI
PERSENTASE SPERMATOZOA BENTUK NORMAL PADA KETIGA KELOMPOK
MONYET (*Macaca fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM
SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Persentase spermatozoa bentuk normal		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	76,59 ± 5,34 (68,92-84,21)	79,02 ± 5,74 (71,32-90,22)	78,25 ± 5,64 (74,00-89,45)
0	79,97 ± 3,89 (73,78-82,89)	81,32 ± 5,57 (73,23-88,46)	79,95 ± 1,85 (75,78-82,39)
3	72,51 ± 4,09 (68,27-80,47)	75,23 ± 6,13 (66,69-87,69)	76,69 ± 5,47 (68,89-84,25)
6	64,69 ± 23,11 (0,00-78,21)	71,25 ± 6,06 (62,26-80,80)	76,19 ± 3,24 (70,40-80,19)
9	48,56 ± 33,90 (0,00-80,15)	71,18 ± 6,71 (61,27-87,25)	75,35 ± 6,88 (61,54-83,33)
12	38,35 ± 29,84 (0,00-71,52)	39,89 ± 34,53 (0,00-71,54)	55,11 ± 29,59 (0,00-78,76)
15	11,76 ± 24,83 (0,00-61,23)	15,66 ± 31,21 (0,00-71,24)	53,52 ± 23,09 (0,00-70,00)
18	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	40,14 ± 29,65 (0,00-68,21)
21	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	25,83 ± 28,22 (0,00-60,51)
24	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	14,92 ± 24,07 (0,00-52,27)
27	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	18,07 ± 29,11 (0,00-62,00)
30	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	20,14 ± 32,43 (0,00-68,62)
33	12,40 ± 26,17 (0,00-65,00)	18,40 ± 29,63 (0,00-62,50)	39,72 ± 34,43 (0,00-71,25)
36	26,04 ± 33,87 (0,00-73,39)	33,76 ± 30,32 (0,00-66,66)	53,85 ± 28,55 (0,00-70,40)
39	47,18 ± 26,49 (0,00-77,00)	46,51 ± 20,21 (0,00-66,66)	68,24 ± 10,15 (0,00-80,63)

Keterangan: 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (X terendah - X tertinggi);
 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
 4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

variabel kelompok pakan ($P=0,0000$), waktu pengamatan ($P=0,000$) dan interaksi antara kelompok pakan dengan waktu pengamatan ($P=0,0087$).

Untuk mengetahui pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada tiga kelompok monyet jantan yang diberi pakan berbeda terhadap spermatozoa bentuk normal, maka telah dilakukan uji BNT, hasilnya disajikan pada Tabel XVII. Menurunnya persentase spermatozoa bentuk normal karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kelompok 1 tidak berbeda nyata ($P=0,0546$) dengan kelompok 2; tetapi berbeda sangat nyata ($P=0,000$) antara kelompok 1 dengan kelompok 3, demikian juga antara kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P=0,0013$).

TABEL XVII
HASIL UJI BNT VARIABEL KELOMPOK PAKAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA BENTUK NORMAL

Kelompok pakan	Probabilitas hasil uji BNT ^{a)}		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
Kelompok 1	30,54 [#]	38,15 [#]	51,73 [#]
Kelompok 2	0,0546*	-	-
Kelompok 3	0,0000***	0,0013***	-

Keterangan: ^{a)} Angka dalam kolom merupakan probabilitas; [#] Angka rata-rata tiap kelompok $n=150$;
*) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Selanjutnya hasil uji BNT terhadap variabel waktu pengamatan disajikan pada Tabel XVIII, terlihat bahwa menurunnya spermatozoa bentuk normal belum tampak pada ketiga kelompok pakan pada minggu ke 3 ($P=0,518$) dan minggu ke 6 ($P=0,137$). Walaupun demikian pengaruh itu mulai nampak pada minggu ke 9 ($P=0,008$).

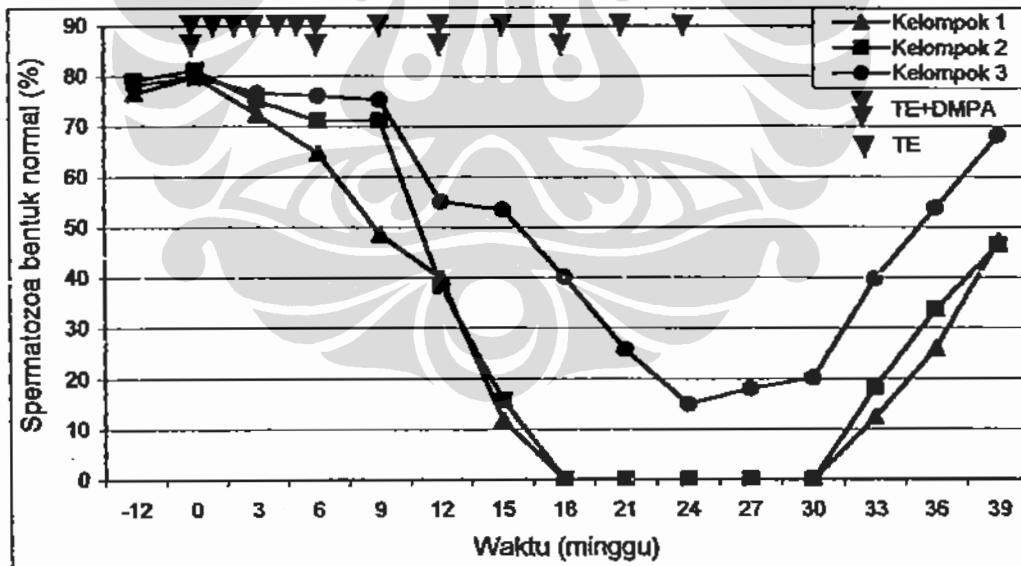
TABEL XVIII
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU PENGAMATAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA BENTUK NORMAL

Waktu (minggu)	Probabilitas nilai BNT ⁶⁾									
	-12	0	3	6	9	12	15	18	21	24
	77,96 ⁷⁾	80,42	74,81	70,71	65,03	37,77	33,65	13,38	8,61	4,97
-12	-									
0	0,613	-								
3	0,518	0,249	-							
6	0,137	0,046	0,399	-						
9	0,008	0,002	0,045	0,244	-					
12	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-				
15	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,395	-			
18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-		
21	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,327	-	
24	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,085	0,455	-
27	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,131	0,595	0,829
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,171	0,696	0,721
33	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,037	0,038	0,002	0,001
36	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,481	0,121	0,000	0,000	0,000
39	0,000	0,000	0,000	0,006	0,113	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Waktu (minggu)	27	30	33	36	39					
	6,02	6,71	23,51	41,22	57,31					
27	-									
30	0,887	-								
33	0,001	0,001	-							
36	0,000	0,000	0,000	-						
39	0,000	0,000	0,000	0,001	-					

Keterangan: ⁶⁾ Angka dalam kolom merupakan probabilitas
⁷⁾ Angka rata-rata variabel waktu (n=30)

Selanjutnya, untuk mengetahui hubungan interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan tersebut diilustrasikan pada Gambar 17.

Dari gambar tersebut terlihat bahwa, persentase spermatozoa bentuk normal turun sangat nyata ($P < 0,01$) pada minggu ke 9 pada kelompok 1, sedangkan kelompok 2 dan 3 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dibanding minggu ke -12 atau minggu ke 0. Selanjutnya, pada kelompok 1 dan 2 persentase spermatozoa bentuk normal terus menurun sebanding dengan waktu pengamatan dan sampai minggu ke 39 belum pulih kembali ($P < 0,05$) dibandingkan dengan minggu ke -12 dan 0. Pada kelompok 3, persentase spermatozoa bentuk normal turun sampai titik terendah (kurang dari 40%) terjadi pada minggu ke 21 sampai minggu ke 33; selanjutnya mulai pulih kembali (68,24%) pada minggu ke 39 dibandingkan dengan minggu ke -12 (78,25%) dan minggu ke 0 (79,96%).



Gambar 17. Persentase spermatozoa bentuk normal dari ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama, dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dengan demikian menurunnya spermatozoa bentuk normal karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Di samping itu, spermatozoa bentuk normal meningkat kembali setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA dihentikan; ternyata peningkatan kembali spermatozoa bentuk normal pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih cepat dibandingkan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah.

7. Integritas membran spermatozoa

Untuk mengetahui integritas membran spermatozoa normal, telah dilakukan uji HOS (*hyposmotic swelling test*), ternyata pengaruh terhadap kelainan membran ini berbeda-beda antara kelompok 1, 2 dan 3. Integritas membran spermatozoa yang baik atau normal ditandai dengan menggelembungnya spermatozoa yang diinkubasi dengan larutan HOS. Hasil penghitungan persentase spermatozoa membran normal (integritas membran) disajikan pada Tabel XIX. Selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Lampiran A.10), hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sangat nyata dari ketiga sumber keragaman yang diuji yaitu kelompok pakan ($P=0,0000$), waktu pengamatan ($P=0,0000$) dan interaksi antara kelompok pakan dengan waktu pengamatan ($P=0,0002$).

Uji BNT dari variabel kelompok pakan terhadap integritas membran spermatozoa (Tabel XX) menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan kadar lemak,

TABEL XIX
PERSENTASE SPERMATOZOA MEMBRAN NORMAL PADA KETIGA
KELOMPOK MONYET (*Macaca fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN
BERBEDA SEBELUM SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK
KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Persentase spermatozoa membran normal		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	81,81 ± 6,36 (69,84-89,15)	79,59 ± 4,34 (72,00-85,80)	82,84 ± 4,72 (75,16-90,22)
0	87,02 ± 3,81 (79,08-90,90)	84,71 ± 4,74 (77,76-90,12)	85,82 ± 4,34 (80,27-91,69)
3	71,50 ± 4,31 (66,10-78,08)	71,73 ± 5,78 (60,83-80,00)	74,91 ± 5,53 (62,26-83,33)
6	61,49 ± 23,35 (0,00-81,63)	69,64 ± 7,09 (57,14-78,64)	74,68 ± 7,26 (60,82-85,98)
9	41,71 ± 29,61 (0,00-76,19)	59,45 ± 11,54 (40,90-69,52)	72,58 ± 10,69 (47,82-83,33)
12	36,53 ± 26,76 (0,00-61,22)	35,54 ± 30,99 (0,00-65,28)	54,94 ± 29,20 (0,00-73,58)
15	17,28 ± 15,81 (0,00-44,44)	12,06 ± 23,39 (0,00-57,45)	45,76 ± 25,35 (0,00-75,00)
18	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	33,79 ± 25,44 (0,00-75,82)
21	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	22,02 ± 23,82 (0,00-53,77)
24	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	14,38 ± 23,17 (0,00-50,62)
27	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	10,83 ± 17,61 (0,00-40,00)
30	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00-0,00)	17,80 ± 28,67 (0,00-61,25)
33	7,52 ± 15,89 (0,00-40,17)	11,98 ± 19,44 (0,00-45,45)	36,77 ± 31,76 (0,00-66,58)
36	13,57 ± 18,55 (0,00-47,55)	34,63 ± 25,53 (0,00-60,25)	51,02 ± 28,22 (0,00-71,63)
39	37,96 ± 20,86 (0,00-60,00)	31,77 ± 19,81 (0,00-70,00)	64,00 ± 11,58 (44,44-80,00)

Keterangan:

1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (*X terendah - X tertinggi*);
2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
4. Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

protein dan karbohidrat berbeda pada ketiga kelompok monyet, menyebabkan perbedaan respon terhadap kualitas membran spermatozoa. Integritas membran spermatozoa kelompok 1 tidak berbeda nyata ($P=0,078$) dengan kelompok 2, sedangkan kelompok 1 berbeda sangat nyata dengan kelompok 3 ($P=0,000$) demikian juga antara kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P=0,0002$).

Waktu pengamatan juga berpengaruh terhadap integritas membran spermatozoa pada ketiga kelompok monyet jantan yang diberi pakan dengan kadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda selama disuntik kombinasi TE dengan DMPA. Hasil uji BNT variabel waktu pengamatan disajikan pada Tabel XXI. Rata-rata integritas membran normal pada ketiga kelompok perlakuan menurun sangat nyata ($P=0,0018$) pada minggu ke 6 dan dipertahankan sampai minggu ke 39 ($P=0,000$). Ini berarti pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA terhadap spermatozoa membran normal tetap dipertahankan sampai minggu ke 39.

TABEL XX
HASIL UJI BNT VARIABEL KELOMPOK PAKAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA MEMBRAN NORMAL

Kelompok pakan	Probabilitas hasil uji BNT [@]		
	Kelompok 1 28,427 [#]	Kelompok 2 34,739 [#]	Kelompok 3 49,477 [#]
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,0781*	-	-
Kelompok 3	0,0000***	0,0002***	-

Keterangan: [@]) Angka dalam kolom merupakan probabilitas; [#]) Angka rata-rata tiap kelompok n=150;
*) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

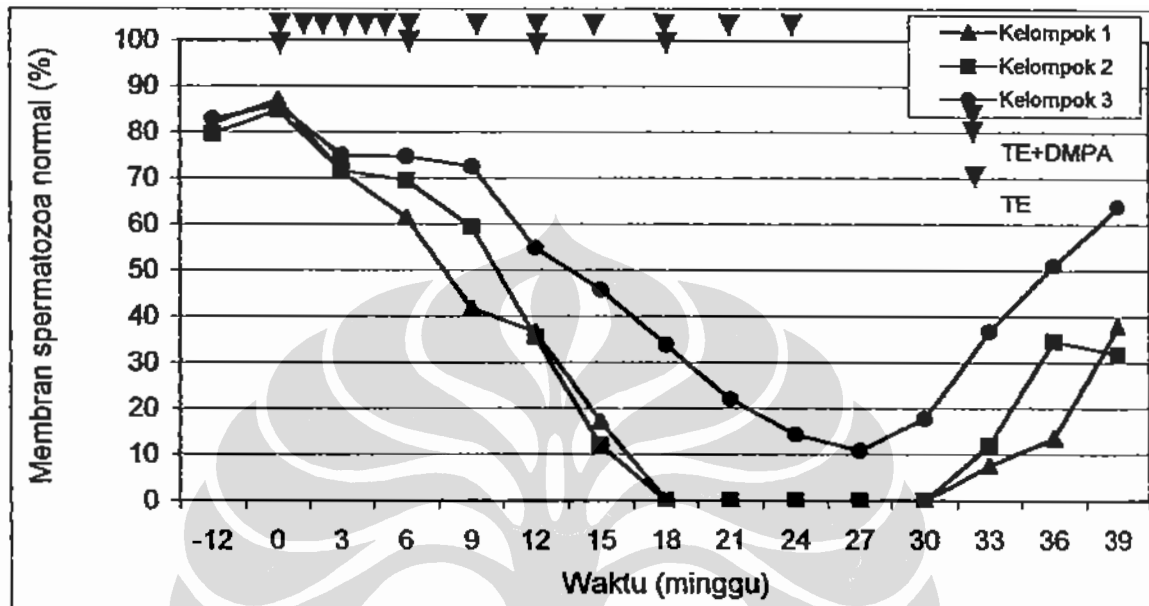
TABEL XXI
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU PENGAMATAN TERHADAP
PERSENTASE SPERMATOZOA MEMBRAN NORMAL

Waktu (minggu)	Probabilitas nilai BNT ^{a)}									
	-12	0	3	6	9	12	15	18	21	24
	81,42 ^{b)}	85,85	72,71	68,60	57,91	35,67	25,04	11,27	7,34	4,79
-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	0,280	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,034	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,002	0,000	0,316	-	-	-	-	-	-	-
9	0,000	0,000	0,000	0,009	-	-	-	-	-	-
12	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	-	-	-	-
15	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	-	-	-	-
18	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	-	-	-
21	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,338	-	-
24	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,115	0,534	-
27	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,062	0,362	0,772
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,193	0,731	0,781
33	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,126	0,068	0,005	0,001
36	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,526	0,050	0,000	0,000	0,000
39	0,000	0,000	0,000	0,000	0,104	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Waktu (minggu)	27	30	33	36	39					
	3,608	5,934	18,76	33,07	51,25					
27	-	-	-	-	-					
30	0,571	-	-	-	-					
33	0,000	0,002	-	-	-					
36	0,000	0,000	0,001	-	-					
39	0,000	0,000	0,000	0,000	-					

Keterangan: ^{a)} Angka dalam kolom merupakan probabilitas
^{b)} Angka rata-rata variabel waktu n=30

Pada kelompok 1 dan 2, integritas membran normal spermatozoa adalah 87,02% dan 84,71% pada minggu ke 0 kemudian turun menjadi 41,71% dan 59,45% pada minggu ke 9, sedangkan pada kelompok 3 adalah 85,82% pada minggu ke 0 kemudian turun menjadi 72,58% pada minggu ke 9 yang masih tetap dalam keadaan normal.

Sebagai ilustrasi, untuk mengetahui hubungan antara kelompok pakan dengan waktu pengamatan, dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Persentase spermatozoa membran normal dari ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda. sebelum, selama dan sesudah disuntik TE dengan DMPA Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Hasil uji HOS, terlihat bahwa pada kelompok 1 dan 2 turun sangat nyata ($P < 0,01$) pada minggu ke 9 dibanding minggu ke -12 atau minggu ke 0. Penurunan hasil uji HOS ini terus menerus sampai minggu ke 39, artinya bahwa sampai penelitian ini berakhir kerusakan integritas membran spermatozoa belum pulih kembali ($P < 0,05$). Hal sebaliknya terjadi pada kelompok 3, hasil uji HOS kurang dari 60% baru terjadi pada minggu ke 12 dan terus turun sampai angka terendah kurang dari 20% pada minggu ke 30; tetapi pada minggu ke 39 uji HOS telah meningkat kembali menjadi lebih dari 60%.

Hal ini menunjukkan bahwa kualitas integritas membran spermatozoa karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kelompok 3 lebih baik dibanding dengan kelompok 1 dan 2. Dengan kata lain, kerusakan membran spermatozoa pada kelompok 1 dan 2, lebih tinggi dibanding kelompok 3. Dengan demikian menurunnya spermatozoa membran normal karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Di samping itu, integritas membran spermatozoa normal meningkat kembali setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA dihentikan; ternyata peningkatan kembali integritas membran spermatozoa normal pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih cepat dibandingkan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah.

C. Hormon dalam Serum

Hormon dalam serum yang diukur dalam penelitian ini meliputi hormon testosteron bebas, testosteron total, estradiol, FSH, dan LH.

1. Kadar testosteron bebas

Hasil penghitungan kadar hormon testosteron bebas, pada ketiga kelompok monyet jantan, disajikan dalam Tabel XXII.

TABEL XXII
KADAR HORMON TESTOSTERON BEBAS PADA KETIGA KELOMPOK MONYET (*M fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Kadar hormon testosteron bebas (pg/mL)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	7,925 ± 3,06 (3,36-11,70)	8,142 ± 2,39 (4,04-11,67)	8,882 ± 2,98 (3,32-14,37)
0	8,570 ± 3,66 (3,33-13,94)	8,107 ± 3,16 (3,14-13,46)	5,658 ± 1,91 (3,53-9,90)
6	83,587 ± 17,2 (28,20-118,34)	43,222 ± 19,1 (15,83-72,65)	30,296 ± 11,8 (12,94-54,75)
12	43,892 ± 30,4 (14,73-85,88)	18,393 ± 7,15 (9,12-30,75)	6,626 ± 3,03 (2,91-12,52)
18	22,998 ± 7,99 (12,76-35,01)	18,180 ± 6,35 (10,68-27,12)	4,526 ± 1,40 (2,05-6,65)
24	12,722 ± 6,16 (7,71-29,02)	13,017 ± 6,75 (6,18-28,07)	7,085 ± 2,37 (3,01-9,94)
30	3,902 ± 2,39 (1,35-7,80)	5,814 ± 3,53 (1,31-12,49)	4,292 ± 1,55 (2,66-7,15)
36	5,953 ± 4,97 (0,558-15,63)	8,640 ± 5,39 (1,78-15,08)	4,447 ± 2,44 (1,68-8,63)

Keterangan: 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (*X terendah - X tertinggi*);
 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
 4. Kelompok 3: Lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari hasil uji sidik ragam (Lampiran A.11), terlihat bahwa ketiga sumber variasi yang diuji menunjukkan perbedaan sangat nyata pada kelompok pakan ($P=0,0002$), waktu pengamatan ($P=0,000$) dan interaksi antara kelompok pakan dengan waktu pengamatan ($P=0,000$).

Untuk mengetahui perbedaan kadar testosteron bebas hubungannya dengan pengaruh perbedaan kelompok pakan, dilakukan uji BNT dan hasilnya disajikan pada Tabel XXIII. Kadar testosteron bebas rata-rata pada kelompok 1 sebesar 23,68 pg/mL lebih tinggi ($P=0,0105$) dibanding kelompok 2 sebesar 15,44 pg/mL dan juga lebih tinggi ($P=0,000$) dibanding dengan kelompok 3 sebesar 8,98 pg/mL. Di samping itu, kadar testosteron bebas kelompok 2 berbeda nyata ($P=0,0402$). Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa kadar testosteron bebas pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, adalah lebih tinggi bila dibandingkan dengan yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

TABEL XXIII
HASIL UJI BNT VARIABEL KELOMPOK PAKAN
TERHADAP KADAR TESTOSTERON BEBAS

Variabel kelompok	Probabilitas hasil uji BNT [@]		
	Kelompok 1 (23,687) [#]	Kelompok 2 (15,439) [#]	Kelompok 3 (8,977) [#]
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,0105***	-	-
Kelompok 3	0,0000***	0,0402**	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT;

#) Angka rata-rata atau nilai tengah. **) Berbeda nyata ($P<0,05$);

***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Hasil uji BNT terhadap variabel waktu (Tabel XXIV) menunjukkan bahwa kadar testosteron bebas rata-rata meningkat sangat nyata ($P=0,000$) dari sebesar 7,4452 pg/mL pada minggu ke 0 menjadi 52,3521 pg/mL pada minggu ke 6. Kemudian secara bertahap cenderung menurun mencapai kadar rata-rata normal kembali ($P=0,719$) pada minggu ke 36. Tetapi pada minggu ke 30 kadar testosteron bebas tetap rendah sebesar 4,669 pg/mL dibandingkan dengan kadar rata-rata minggu ke 0.

TABEL XXIV
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU TERHADAP
KADAR TESTOSTERON BEBAS

Probabilitas hasil uji BNT [@]								
Waktu (minggu)	(-12)	(0)	(6)	(12)	(18)	(24)	(30)	(36)
	8,3166*	7,4453*	52,3521*	22,9706*	15,235*	10,942*	4,6693*	6,3466*
(-12)	-							
(0)	0,7760	-						
(6)	0,0000	0,0000	-					
(12)	0,0000	0,0000	0,0000	-				
(18)	0,0248	0,0116	0,0000	0,0122	-			
(24)	0,3917	0,2543	0,0000	0,0001	0,1619	-		
(30)	0,2344	0,3651	0,0000	0,0000	0,0006	0,0416	-	
(36)	0,5202	0,7197	0,0000	0,0000	0,0041	0,1345	0,5839	-

Keterangan: [@]) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT

^{*)} Angka rata-rata atau nilai tengah

Untuk mengetahui lebih khusus hubungan antara variabel kelompok pakan dengan waktu, maka telah dilakukan dilakukan uji BNT interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan, hasilnya disajikan pada tabel XXV. Kadar testosteron bebas rata-rata pada kelompok 1 meningkat sangat nyata ($P=0,000$) dari 8,5704 pg/mL pada minggu ke 0 menjadi 83, 5374 pg/mL pada minggu ke 6. Peningkatan kadar testosteron

bebas ini lebih tinggi ($P=0,001$) dibandingkan dengan rata-rata kelompok pakan 3, dimana pada minggu ke 0 adalah 5,6585 pg/mL menjadi hanya 30,2966 pg/mL pada minggu ke 6. Kadar testosteron bebas kelompok 1 minggu ke 6 adalah 83,537 pg/mL berbeda sangat nyata ($P=0,000$) dibandingkan dengan kelompok 3 yaitu sebesar 30,297 pg/mL; demikian juga bila dibandingkan antara kelompok 2 sebesar 43,222 pg/mL dengan kelompok 3 ($P=0,0155$).

TABEL XXV
HASIL UJI BNT INTERAKSI VARIABEL KELOMPOK PAKAN DENGAN
WAKTU TERHADAP KADAR TESTOSTERON BEBAS

Variabel (l _{cxw})	Probabilitas hasil uji BNT ^a							
	(1x-12) 7,9255*	(1x0) 8,5704	(1x6) 83,537	(1x12) 43,893	(1x18) 22,998	(1x24) 12,722	(1x30) 3,9018	(1x36) 5,9526
(1x-12)	-							
(1x0)	0,9032	-						
(1x6)	0,0000	0,0000	-					
(1x12)	0,0000	0,0000	0,0000	-				
(1x18)	0,0049	0,0071	0,0000	0,0001	-			
(1x24)	0,3663	0,4341	0,0000	0,0000	0,0538	-		
(1x30)	0,4483	0,3792	0,0000	0,0000	0,0004	0,0975	-	
(1x36)	0,7099	0,6217	0,0000	0,0000	0,0015	0,2028	0,6990	-
(2x-12)	0,9674	0,9356	0,0000	0,0000	0,0055	0,3883	0,4243	0,6798
(2x0)	0,9727	0,9303	0,0000	0,0000	0,0054	0,3846	0,4282	0,6846
(2x6)	0,0000	0,0000	0,0000	0,8994	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000
(2x12)	0,0495	0,0652	0,0000	0,0000	0,3857	0,2856	0,0068	0,0198
(2x18)	0,0543	0,0712	0,0000	0,0000	0,3642	0,3040	0,0076	0,0220
(2x24)	0,3375	0,4021	0,0000	0,0000	0,0610	0,9555	0,0868	0,1838
(2x30)	0,6906	0,6033	0,0000	0,0000	0,0014	0,1937	0,7184	0,9791
(2x36)	0,8927	0,9894	0,0000	0,0000	0,0073	0,4419	0,3721	0,6124
(3x-12)	0,8568	0,9531	0,0000	0,0000	0,0083	0,4693	0,3482	0,5808
(3x0)	0,6691	0,5831	0,0000	0,0000	0,0012	0,1839	0,7405	0,9557
(3x6)	0,0000	0,0000	0,0000	0,0110	0,1698	0,0010	0,0000	0,0000
(3x12)	0,8064	0,7139	0,0000	0,0000	0,0022	0,2512	0,6076	0,8989
(3x18)	0,5218	0,4461	0,0000	0,0000	0,0006	0,1234	0,9062	0,7880
(3x24)	0,8742	0,7795	0,0000	0,0000	0,0030	0,2886	0,5484	0,8308
(3x30)	0,4935	0,4202	0,0000	0,0000	0,0005	0,1131	0,9413	0,7542
(3x36)	0,5121	0,4372	0,0000	0,0000	0,0006	0,1198	0,9181	0,7764

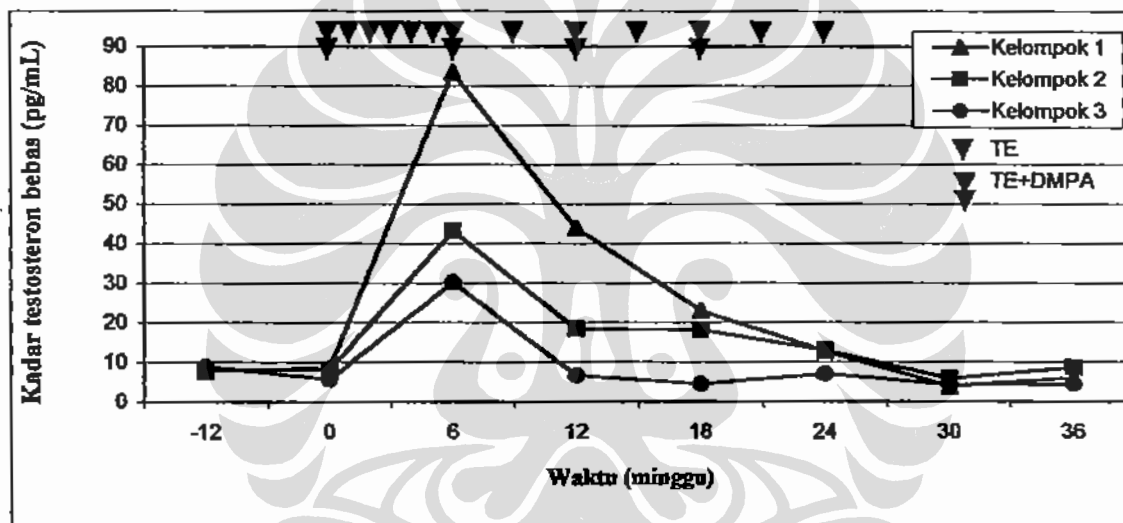
TABEL XXV Lanjutan

Variabel (k _{cw})	(2x-12) 8,1420	(2x0) 8,1069	(2x6) 43,222	(2x12) 18,393	(2x18) 18,180	(2x24) 13,017	(2x30) 5,814	(2x36) 8,6404
(2x-12)	-							
(2x0)	0,9947	-						
(2x6)	0,0000	0,0000	-					
(2x12)	0,0544	0,0536	0,0000	-				
(2x18)	0,0595	0,0587	0,0000	0,9679	-			
(2x24)	0,3584	0,3550	0,0000	0,3114	0,3309	-		
(2x30)	0,6607	0,6655	0,0000	0,0185	0,0206	0,1754	-	
(2x36)	0,9251	0,9198	0,0000	0,0671	0,0732	0,4096	0,5942	-
(3x-12)	0,8889	0,8837	0,0000	0,0741	0,0807	0,4359	0,5630	0,9636
(3x0)	0,6396	0,6444	0,0000	0,0171	0,0190	0,1663	0,9766	0,5741
(3x6)	0,0000	0,0000	0,0155	0,0257	0,0232	0,0013	0,0000	0,0001
(3x12)	0,7750	0,7801	0,0000	0,0274	0,0303	0,2290	0,8783	0,7041
(3x18)	0,4956	0,4998	0,0000	0,0095	0,0107	0,1105	0,8082	0,4383
(3x24)	0,8421	0,8473	0,0000	0,0340	0,0375	0,2641	0,8105	0,7694
(3x30)	0,4681	0,4722	0,0000	0,0084	0,0094	0,1011	0,7741	0,4126
(3x36)	0,4862	0,4903	0,0000	0,0091	0,0102	0,1072	0,7965	0,4294
Variabel (k _{cw})	(3x-12) 8,8823	(3x0) 5,6585	(3x6) 30,297	(3x12) 6,6260	(3x18) 4,5265	(3x24) 7,0858	(3x30) 4,2920	(3x36) 4,4468
(3x-12)	-							
(3x0)	0,5434	-						
(3x6)	0,0001	0,0001	-					
(3x12)	0,6706	0,8552	0,0000	-				
(3x18)	0,4118	0,8309	0,0000	0,6922	-			
(3x24)	0,7348	0,7878	0,0000	0,9309	0,6295	-		
(3x30)	0,3872	0,7966	0,0000	0,6599	0,9647	0,5984	-	
(3x36)	0,4034	0,8192	0,0000	0,6812	0,9880	0,6188	0,9767	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT
*) Angka rata-rata atau nilai tengah

Di samping itu terbukti pula bahwa kadar testosteron bebas kelompok 1 dan 2, selalu lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok 3, terutama selama waktu pengamatan minggu ke 6, 12, 18 dan 24 (Tabel XXV). Selanjutnya, untuk mengetahui lebih jelas tentang kadar testosteron bebas hubungan-nya dengan kelompok pakan dan waktu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 19. Pada kelompok 1 dan kelompok 2,

kadar testosteron bebas tetap lebih tinggi sampai minggu ke 24 dibandingkan dengan minggu ke -12 dan 0. Sedangkan pada kelompok 3, kadar testosteron bebas telah normal kembali sebesar 6,626 pg/mL ($P=0,855$) pada minggu ke 12 dibandingkan dengan minggu ke -12 dan minggu ke 0 sebesar 8,882 pg/mL dan 5,658 pg/mL; keadaan ini dipertahankan sampai minggu ke 36 sebesar 4,447 pg/mL.



Gambar 19. Grafik rata-rata kadar testosteron bebas pada ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dengan demikian dapat diketahui bahwa konsentrasi testosteron bebas pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih tinggi, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah disuntik kombinasi TE dan DMPA.

2. Kadar testosteron total

Hasil pemeriksaan kadar hormon testosteron total dalam serum, pada ketiga kelompok monyet jantan, disajikan pada Tabel XXVI.

TABEL XXVI
KADAR HORMON TESTOSTERON TOTAL PADA KETIGA KELOMPOK MONYET JANTAN (*M fascicularis*) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM, SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK [TE + DMPA]

Waktu (minggu)	Kadar hormon testosteron total (ng/mL)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	7,358 ± 2,94 (4,25-12,91)	7,868 ± 3,59 (4,09-11,58)	8,210 ± 3,58 (4,83-13,98)
0	8,020 ± 3,57 (4,29-13,53)	8,092 ± 2,93 (4,31-13,45)	8,373 ± 3,64 (4,36-15,42)
6	20,040 ± 7,04 (10,71-30,51)	19,054 ± 4,48 (12,00-24,22)	16,689 ± 5,69 (9,58-25,74)
12	7,502 ± 2,66 (4,49-12,06)	7,527 ± 3,31 (3,01-12,36)	7,033 ± 2,27 (4,97-11,45)
18	5,301 ± 1,96 (4,85-8,81)	6,569 ± 2,43 (3,71-10,30)	5,403 ± 1,74 (3,61-8,76)
24	3,510 ± 2,07 (1,41-7,21)	7,098 ± 4,29 (3,59-16,89)	8,895 ± 4,12 (4,75-16,46)
30	2,771 ± 1,16 (1,06-4,81)	4,737 ± 1,30 (3,20-7,02)	5,838 ± 2,18 (3,04-8,62)
36	3,222 ± 2,64 (1,05-8,31)	4,058 ± 2,11 (1,09-7,94)	7,239 ± 2,35 (4,11-12,51)

Keterangan : 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (X terendah - X tertinggi)
2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
4. Kelompok 3: Lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Uji sidik ragam dari data di atas (Lampiran A.12), terlihat bahwa tidak ada beda nyata antar variabel kelompok pakan ($P=0,3526$), tetapi menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P=0,000$) pada variabel waktu pengamatan, demikian juga interaksi antara

variabel waktu pengamatan dengan kelompok pakan ($P=0,0029$). Selanjutnya dilakukan uji BNT, untuk mengetahui pengaruh waktu pengamatan terhadap perubahan kadar testosteron total (Tabel XXVII).

TABEL XXVII
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU TERHADAP
KADAR TESTOSTERON TOTAL

Waktu (minggu)	Probabilitas hasil uji BNT [@]							
	(-12) 7,8123*	(0) 8,1817*	(6) 18,5943*	(12) 7,3539*	(18) 5,7576*	(24) 6,5009*	(30) 4,4489*	(36) 4,8397*
(-12)	-							
(0)	0,6439	-						
(6)	0,0000	0,0000	-					
(12)	0,5445	0,2859	0,0000	-				
(18)	0,0071	0,0017	0,0000	0,0357	-			
(24)	0,0840	0,0290	0,0000	0,2600	0,3260	-		
(30)	0,0000	0,0000	0,0000	0,0002	0,0846	0,0072	-	
(36)	0,0001	0,0000	0,0000	0,0010	0,2256	0,0289	0,6053	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT

*) Angka rata-rata atau nilai tengah

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa rata-rata kadar testosteron total dari ketiga kelompok mula-mula meningkat secara nyata ($P=0,000$) yaitu dari rata-rata 7,8123 ng/mL pada minggu ke -12 menjadi rata-rata 18,5943 ng/mL pada minggu ke 6. Pada minggu ke 12, kadar testosteron total cenderung menurun menjadi 7,3539 ng/mL kadar ini tidak berbeda nyata ($P=0,5445$) bila dibandingkan pada minggu ke -12 maupun minggu ke 0 ($P=0,2859$). Kadar testosteron total rata-rata kemudian menurun di bawah normal mulai minggu ke 18 ($P=0,0071$) sampai minggu ke 36 ($P=0,0001$). Dengan kata lain kadar testosteron total belum pulih kembali sampai akhir penelitian.

Untuk mengetahui secara khusus pada kelompok mana dari tiga kelompok monyet tersebut dimana kadar testosteron totalnya belum pulih kembali, selanjutnya lihat hasil uji BNT interaksi variabel kelompok pakan dengan waktu pengamatan (Tabel XXVIII).

Hasil uji BNT di bawah ini, memberikan gambaran bahwa pada kelompok monyet yang diberi pakan 1 dan pakan 2 masih tetap berbeda nyata pada minggu ke 36

TABEL XXVIII
HASIL UJI BNT INTERAKSI KELOMPOK PAKAN DAN WAKTU
PENGAMATAN TERHADAP KADAR TESTOSTERON TOTAL

Variabel (kxw)	Probabilitas hasil uji BNT ^a							
	(1x-12)	(1x0)	(1x6)	(1x12)	(1x18)	(1x24)	(1x30)	(1x36)
	7,3584*	8,0201	20,04	7,5019	5,3005	3,5102	2,7714	3,2216
(1x-12)	-							
(1x0)	0,6134	-						
(1x6)	0,0000	0,0000	-					
(1x12)	0,9127	0,6923	0,0000	-				
(1x18)	0,1172	0,0389	0,0000	0,0939	-			
(1x24)	0,0036	0,0007	0,0000	0,0025	0,1726	-		
(1x30)	0,0006	0,0001	0,0000	0,0003	0,0546	0,5727	-	
(1x36)	0,0018	0,0003	0,0000	0,0012	0,1135	0,8255	0,7312	-
(2x-12)	0,6971	0,9075	0,0000	0,7797	0,0510	0,0010	0,0001	0,0005
(2x0)	0,5756	0,9563	0,0000	0,6524	0,0340	0,0005	0,0001	0,0002
(2x6)	0,0000	0,0000	0,4518	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(2x12)	0,8975	0,7065	0,0000	0,9847	0,0902	0,0024	0,0003	0,0011
(2x18)	0,5466	0,2684	0,0000	0,4763	0,3333	0,0203	0,0041	0,0112
(2x24)	0,8421	0,4813	0,0000	0,7574	0,1710	0,0066	0,0011	0,0034
(2x30)	0,0464	0,0128	0,0000	0,0358	0,6671	0,3492	0,1344	0,2479
(2x36)	0,0124	0,0027	0,0000	0,0091	0,3432	0,6757	0,3264	0,5232
(3x-12)	0,5155	0,8845	0,0000	0,5886	0,0272	0,0004	0,0000	0,0002
(3x0)	0,4386	0,7873	0,0000	0,5059	0,0198	0,0002	0,0000	0,0001
(3x6)	0,0000	0,0000	0,0111	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(3x12)	0,8036	0,4511	0,0000	0,7202	0,1868	0,0077	0,0013	0,0039
(3x18)	0,1365	0,0468	0,0000	0,1102	0,9373	0,1493	0,0455	0,0968
(3x24)	0,2413	0,5041	0,0000	0,2880	0,0065	0,0001	0,0000	0,0000
(3x30)	0,2465	0,0968	0,0000	0,2048	0,6813	0,0766	0,0200	0,0468
(3x36)	0,9277	0,5513	0,0000	0,8412	0,1397	0,0048	0,0007	0,0024

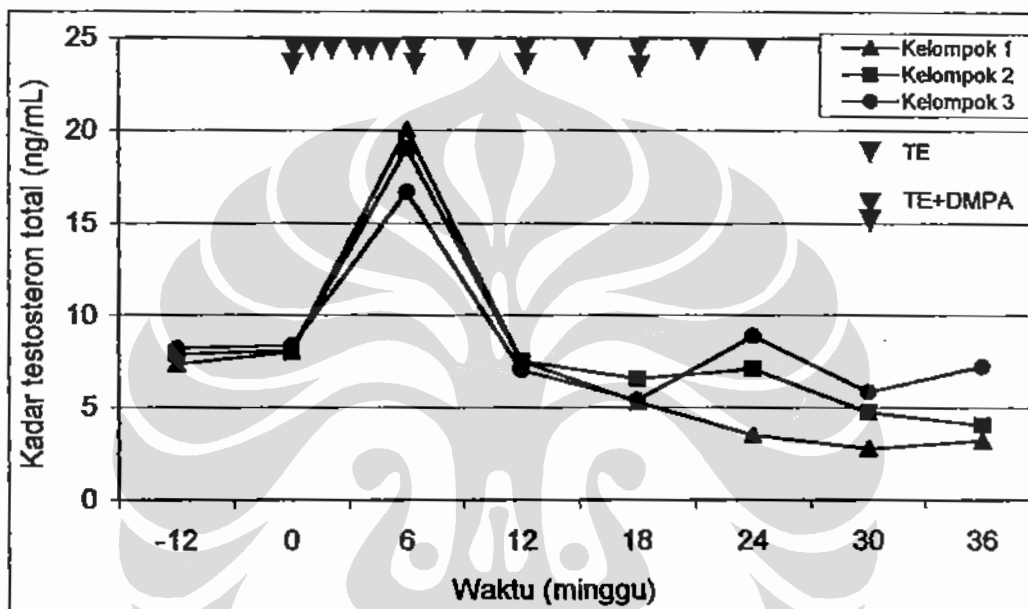
Tabel XXVIII Lanjutan ...

Variabel (pxw)	(2x-12) 7,8681	(2x0) 8,0917	(2x6) 19,054	(2x12) 7,5270	(2x18) 6,5688	(2x24) 7,0975	(2x30) 4,7372	(2x36) 4,0580
(2x-12)	-							
(2x0)	0,8644	-						
(2x6)	0,0000	0,0000	-					
(2x12)	0,7944	0,6663	0,0000	-				
(2x18)	0,3216	0,2456	0,0000	0,4646	-			
(2x24)	0,5563	0,4480	0,0000	0,7429	0,6844	-		
(2x30)	0,0176	0,0110	0,0000	0,0341	0,1629	0,0726	-	
(2x36)	0,0040	0,0023	0,0000	0,0086	0,0563	0,0211	0,6040	-
(3x-12)	0,7938	0,9278	0,0000	0,6019	0,2109	0,3958	0,0085	0,0017
(3x0)	0,6996	0,8296	0,0000	0,5182	0,1692	0,3304	0,0059	0,0011
(3x6)	0,0000	0,0000	0,0728	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(3x12)	0,5237	0,4191	0,0000	0,7059	0,7231	0,9605	0,0807	0,0240
(3x18)	0,0609	0,0411	0,0000	0,1060	0,3739	0,1967	0,6110	0,3048
(3x24)	0,4331	0,5396	0,0000	0,2967	0,0768	0,1708	0,0017	0,0002
(3x30)	0,1222	0,0864	0,0000	0,1981	0,5770	0,3368	0,4008	0,1750
(3x36)	0,6313	0,5154	0,0000	0,8262	0,6085	0,9135	0,0571	0,0159
Variabel (kxw)	(3x-12) 8,2103	(3x0) 8,3734	(3x6) 16,689	(3x12) 7,0328	(3x18) 5,4034	(3x24) 8,8952	(3x30) 5,8383	(3x36) 7,2396
(3x-12)	-							
(3x0)	0,9008	-						
(3x6)	0,0000	0,0000	-					
(3x12)	0,3690	0,3065	0,0000	-				
(3x18)	0,0331	0,0242	0,0000	0,2143	-			
(3x24)	0,6010	0,6903	0,0000	0,1560	0,0082	-		
(3x30)	0,0713	0,0540	0,0000	0,3621	0,7398	0,0204	-	
(3x36)	0,4588	0,3870	0,0000	0,8745	0,1619	0,2070	0,2852	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT *) Angka rata-rata atau nilai tengah;
k, kelompok; w, waktu

dibandingkan minggu ke -12 ($P=0,0018$) dan ($P=0,0040$) maupun minggu ke 0 ($P=0,0003$) dan ($P=0,0023$); akan tetapi pada kelompok monyet yang diberi pakan 3 tidak berbeda nyata pada minggu ke 36 dibandingkan dengan minggu ke -12 ($P=0,4588$) dan minggu ke 0 ($P=0,3870$). Dengan demikian terlihat bahwa kadar testosteron total meningkat dan mencapai kadar tertinggi pada minggu ke 6 dan cenderung menurun

kembali sampai minggu ke 30. Walaupun demikian pada kelompok 1 dan 2 sampai minggu ke 36 belum pulih kembali, sedang kelompok 3 telah pulih kembali.



Gambar 20. Grafik rata-rata kadar testosteron total pada ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari gambar ini terlihat bahwa, kadar testosteron total meningkat sangat nyata dari rata-rata 7,81 ng/mL pada minggu ke -12 menjadi 18,59 ng/mL pada minggu ke 6, tetapi pola peningkatan ini tidak berbeda antar ketiga kelompok monyet perlakuan. Hal ini dapat terlihat bahwa pada minggu ke 6 tersebut dimana kadar testosteron total meningkat sangat nyata dibandingkan kadarnya sebelum injeksi kombinasi TE dengan

DMPA, tetapi tidak berbeda nyata antara kelompok 1 sebesar 20,04 ng/mL, kelompok 2 sebesar 19,05 ng/mL dan pada kelompok 3 kadar testosteron total tersebut adalah 16,68 ng/mL.

3. Kadar Estradiol

Hasil penghitungan kadar hormon estradiol, pada ketiga kelompok monyet jantan, disajikan dalam Tabel XXIX.

TABEL XXIX
KADAR HORMON ESTRADIOL PADA KETIGA KELOMPOK MONYET
(Macaca fascicularis) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM
 SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Kadar hormon estradiol (pg/mL)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	4,547 ± 2,41 (2,91-9,40)	6,325 ± 3,35 (1,40-9,68)	5,683 ± 3,39 (1,05-9,80)
0	3,655 ± 2,97 (1,18-9,14)	3,514 ± 2,37 (0,86-8,02)	5,559 ± 2,72 (2,33-10,60)
6	21,337 ± 8,67 (11,18-36,86)	20,324 ± 11,03 (7,66-39,83)	17,024 ± 8,95 (6,25-37,91)
12	1,944 ± 2,22 (0,45-7,85)	1,026 ± 2,13 (0,02-6,96)	2,537 ± 1,38 (0,66-4,37)
18	2,163 ± 2,36 (0,37-7,32)	1,353 ± 1,36 (0,37-4,50)	2,213 ± 1,75 (0,39-5,98)
24	3,142 ± 1,81 (1,09-6,01)	4,364 ± 2,12 (1,09-7,12)	3,666 ± 1,51 (2,25-5,32)
30	3,689 ± 2,56 (1,24-9,27)	5,573 ± 2,03 (3,45-9,39)	2,969 ± 1,82 (1,66-5,99)
36	3,823 ± 2,79 (0,89-9,46)	6,036 ± 2,77 (2,16-9,79)	4,398 ± 2,56 (1,13-9,79)

Keterangan : 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (Xterendah-X tertinggi)
 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
 4. Kelompok 3: Lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dengan uji sidik ragam (Lampiran A.13), terlihat bahwa sumber variasi kelompok pakan dan interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan tidak berbeda nyata ($P=0,7267$) dan ($P=0,4562$), tetapi sumber variasi waktu pengamatan berbeda sangat nyata ($P=0,0000$).

Selanjutnya dilakukan uji BNT terhadap variabel waktu pengamatan, hasilnya disajikan dalam Tabel XXX. Kadar hormon estradiol meningkat sangat nyata ($P=0,000$) dari rata-rata (4,243 pg/mL) pada minggu ke 0 menjadi (19,562 pg/mL) pada minggu ke 6 dan tetap lebih rendah pada minggu ke 12 ($P=0,0183$) dan minggu ke 18 ($P=0,0221$). selanjutnya menurun sampai kadar dibawah rata-rata minggu ke 0, tetapi normal kembali pada minggu ke 24 ($P=0,6084$).

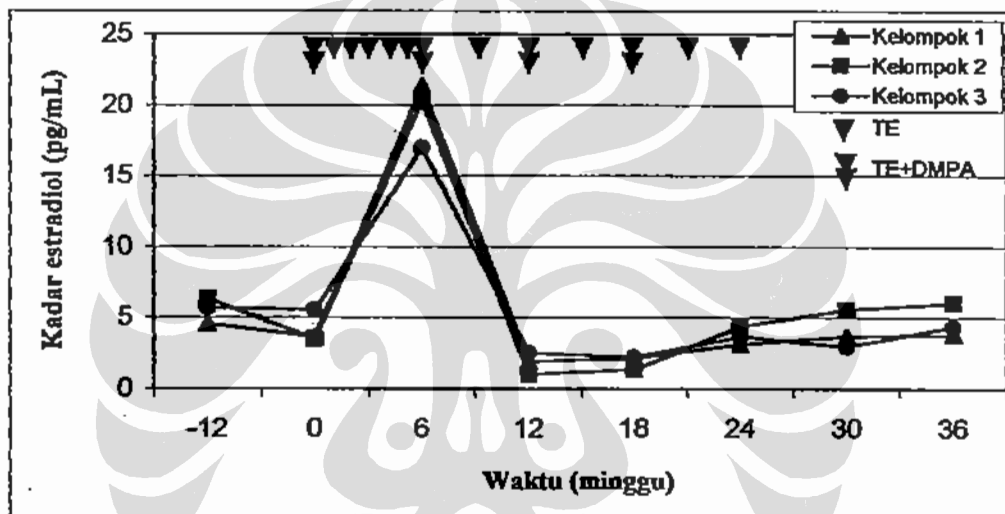
TABEL XXX
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU PENGAMATAN
TERHADAP KADAR ESTRADIOL

Probabilitas hasil uji BNT [@]								
Waktu (minggu)	(-12)	(0)	(6)	(12)	(18)	(24)	(30)	(36)
	5,5185*	4,2431	19,5616	1,8354	1,9095	3,7240	4,0774	4,7523
(-12)	-							
(0)	0,2088	-						
(6)	0,0000	0,0000	-					
(12)	0,0004	0,0183	0,0000	-				
(18)	0,0005	0,0221	0,0000	0,9416	-			
(24)	0,0776	0,6084	0,0000	0,0634	0,0744	-		
(30)	0,1558	0,8701	0,0000	0,0278	0,0333	0,7272	-	
(36)	0,4497	0,6152	0,0000	0,0043	0,0054	0,3106	0,5053	-

Keterangan: [@]) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT

^{*)} Angka rata-rata atau nilai tengah

Dari hasil uji BNT ini dapat diketahui bahwa tidak ada pengaruh yang khusus terhadap kadar estradiol pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berbeda, terutama setelah diinjeksi dengan kombinasi TE dan DMPA. Pola perubahan kadar estradiol dalam penelitian ini, dilukiskan pada Gambar 21.



Gambar 21. Grafik rata-rata kadar estradiol pada ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbedasebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Dari gambar tersebut, terlihat bahwa kadar estradiol dari ketiga kelompok monyet perlakuan meningkat pada minggu ke 6 dan turun kembali pada minggu 12 sampai kadar di bawah normal. Selanjutnya meningkat kembali sampai kadar normal pada minggu ke 24, 30 dan 36. Pola perubahan kadar estradiol antara kelompok 1, 2 dan 3 adalah sama.

4. Kadar FSH

Hasil pemeriksaan FSH (follicle stimulating hormone) disajikan pada Tabel XXXI. Hasil uji sidik ragam dari data tersebut (Lampiran A.14) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sangat nyata baik antar kelompok pakan ($P=0,0039$) dan waktu pengamatan ($P=0,0000$), untuk sumber variasi interaksi antara kelompok pakan dan waktu pengamatan berbeda nyata ($P=0,0259$).

TABEL XXXI
KADAR HORMON FSH PADA KETIGA KELOMPOK MONYET JANTAN
(Macaca fascicularis) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA
 SEBELUM SELAMA DAN SESUDAH DINSUNTIK [TE + DMPA]

Waktu (minggu)	Kadar FSH (mIU/ml)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	4.172 ± 1.35 (2,37-6,71)	3.789 ± 1.33 (2,36-6,71)	3.610 ± 1.49 (2,01-6,95)
0	3.605 ± 1.45 (2,32-6,60)	3.946 ± 0.94 (2,67-5,22)	3.354 ± 1.47 (2,02-6,34)
6	0.342 ± 0.40 (0,01-1,03)	0.424 ± 0.39 (0,09-1,09)	1.175 ± 0.68 (0,19-2,10)
12	0.469 ± 0.36 (0,11-1,02)	0.654 ± 0.29 (0,21-1,03)	1.047 ± 0.36 (0,61-1,69)
18	0.274 ± 0.34 (0,03-1,02)	0.302 ± 0.35 (0,04-1,08)	1.175 ± 0.42 (0,75-2,07)
24	0.456 ± 0.42 (0,12-1,13)	0.335 ± 0.32 (0,12-1,19)	1.123 ± 0.51 (0,33-2,01)
30	1.270 ± 0.59 (0,84-2,32)	2.044 ± 0.59 (0,84-3,03)	2.629 ± 1.02 (1,41-4,46)
36	1.895 ± 0.68 (1,29-3,11)	2.059 ± 1.18 (0,84-4,22)	2.682 ± 1.16 (1,33-5,47)

Keterangan : 1. Data \bar{X} rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (X terendah -- X tertinggi);
 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%;
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%;
 4. Kelompok 3: Lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Untuk mengetahui perbedaan antar variabel telah dilakukan uji beda nyata terkecil BNT (Tabel XXII), hasilnya menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan ($P=0,6172$) antara kelompok 1 dengan kelompok 2, tetapi antara kelompok 1 dan kelompok 3 berbeda sangat nyata ($P=0,0011$) demikian juga antar kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P=0,0331$).

TABEL XXXII
HASIL UJI BNT KELOMPOK PAKAN TERHADAP KADAR FSH

Variabel kelompok	Probabilitas hasil uji BNT [@]		
	Kelompok 1 (1,5604) [#]	Kelompok 2 (1,7692) [#]	Kelompok 3 (2,0994) [#]
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,6172*	-	-
Kelompok 3	0.0011***	0.0331**	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT; [#]) Angka rata-rata atau nilai tengah
*) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); **) Berbeda nyata ($P<0,05$); ***) Berbeda sangat nyata

TABEL XXXIII
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU PENGAMATAN
TERHADAP KADAR FSH

Waktu (minggu)	Probabilitas hasil uji BNT [@]							
	(-12) 3,8569*	(0) 3,6350	(6) 0,6469	(12) 0,7234	(18) 0,5838	(24) 0,6381	(30) 1,9808	(36) 2,4122
(-12)	-	-	-	-	-	-	-	-
(0)	0,3159	-	-	-	-	-	-	-
(6)	0,0000	0,0000	-	-	-	-	-	-
(12)	0,0000	0,0000	0,7292	-	-	-	-	-
(18)	0,0000	0,0000	0,7751	0,5276	-	-	-	-
(24)	0,0000	0,0000	0,9681	0,6994	0,8059	-	-	-
(30)	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-	-
(36)	0,0000	0,0520	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0521	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT
*) Angka rata-rata atau nilai tengah

Dengan demikian kadar rata-rata FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah. Hasil uji BNT terhadap variabel waktu pengamatan disajikan pada Tabel XXXIII, dan interaksi antar kelompok pakan dengan waktu pengamatan disajikan pada Tabel XXXIV. Waktu pengamatan pertama adalah 12 minggu sebelum disuntik kombinasi TE dan DMPA dimulai, hasil uji BNT menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan ($P=0,3159$) kadar FSH dibandingkan dengan minggu ke 0.

TABEL XXXIV
HASIL UJI BNT INTERAKSI VARIABEL KELOMPOK PAKAN
DAN WAKTU TERHADAP KADAR FSH

Variabel (KxW)	Probabilitas hasil uji BNT ⁹							
	(1x-12)	(1x0)	(1x6)	(1x12)	(1x18)	(1x24)	(1x30)	(1x36)
	4,1718*	3,6050	0,3420	0,4691	0,2744	0,4560	1,2700	1,8948
(1x-12)	-							
(1x0)	0,1397	-						
(1x6)	0,0000	0,0000	-					
(1x12)	0,0000	0,0000	0,7398	-				
(1x18)	0,0000	0,0000	0,8598	0,6110	-			
(1x24)	0,0000	0,0000	0,7658	0,9726	0,6352	-		
(1x30)	0,0000	0,0000	0,0161	0,0374	0,0099	0,0345	-	
(1x36)	0,0000	0,0000	0,0000	0,0003	0,0001	0,0002	0,1037	-
(2x-12)	0,3173	0,6315	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(2x0)	0,5548	0,3738	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(2x6)	0,0000	0,0000	0,8301	0,9064	0,6957	0,9335	0,0280	0,0002
(2x12)	0,0000	0,0000	0,4152	0,6289	0,3217	0,6048	0,1087	0,0014
(2x18)	0,0000	0,0000	0,9169	0,6626	0,9423	0,6876	0,0121	0,0001
(2x24)	0,0000	0,0000	0,9862	0,7268	0,8734	0,7527	0,0153	0,0001
(2x30)	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000	0,0001	0,0443	0,6971
(2x36)	0,0001	0,0143	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0004	0,0468
(3x-12)	0,1435	0,9887	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
(3x0)	0,0337	0,5128	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0002
(3x6)	0,0000	0,0000	0,0305	0,0664	0,0195	0,0615	0,8033	0,0611
(3x12)	0,0000	0,0000	0,0666	0,1321	0,0446	0,1236	0,5604	0,0277
(3x18)	0,0000	0,0000	0,0305	0,0664	0,0194	0,0615	0,8037	0,0612
(3x24)	0,0000	0,0000	0,0424	0,0888	0,0276	0,0826	0,7007	0,0448
(3x30)	0,0001	0,0114	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0005	0,0563
(3x36)	0,0001	0,0167	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0003	0,0407

Tabel XXXIV Lanjutan ...

Variabel (KxW)	(2x-12)	(2x0)	(2x6)	(2x12)	(2x18)	(2x24)	(2x30)	(2x36)
(2x-12)	-							
(2x0)	0,6815	-						
(2x6)	0,0000	0,0000	-					
(2x12)	0,0000	0,0000	0,5481	-				
(2x18)	0,0000	0,0000	0,7499	0,3582	-			
(2x24)	0,0000	0,0000	0,8167	0,4054	0,9306	-		
(2x30)	0,0001	0,0000	0,0000	0,0004	0,0001	0,0000	-	
(2x36)	0,0035	0,0009	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1088	-
(3x-12)	0,6415	0,3814	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0137
(3x0)	0,2754	0,1235	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0007	0,0706
(3x6)	0,0000	0,0000	0,0510	0,1747	0,0235	0,0293	0,0241	0,0001
(3x12)	0,0000	0,0000	0,1047	0,3051	0,0527	0,0641	0,0098	0,0000
(3x18)	0,0000	0,0000	0,0509	0,1746	0,0235	0,0292	0,0241	0,0001
(3x24)	0,0000	0,0000	0,0690	0,2215	0,0330	0,0407	0,0169	0,0001
(3x30)	0,0027	0,0007	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1276	0,9356
(3x36)	0,0042	0,0011	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0964	0,9527
Variabel (KxW)	(3x-12)	(3x0)	(3x6)	(3x12)	(3x18)	(3x24)	(3x30)	(3x36)
	3,6104	3,3544	1,1747	1,0471	1,1749	1,1229	2,6287	2,6823
(3x-12)	-							
(3x0)	0,5038	-						
(3x6)	0,0000	0,0000	-					
(3x12)	0,0000	0,0000	0,7388	-				
(3x18)	0,0000	0,0000	0,9995	0,7384	-			
(3x24)	0,0000	0,0000	0,8923	0,8430	0,8919	-		
(3x30)	0,0109	0,0591	0,0002	0,0001	0,0002	0,0001	-	
(3x36)	0,0161	0,0829	0,0001	0,0000	0,0001	0,0001	0,8886	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT

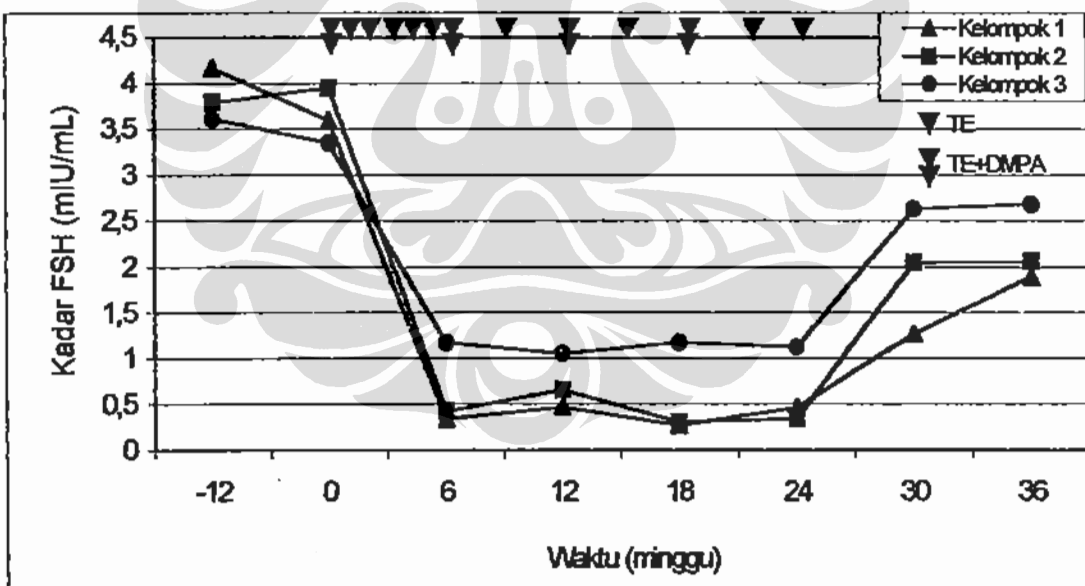
*) Angka rata-rata atau nilai tengah

Kadar FSH selanjutnya menurun sangat nyata pada minggu ke 6, 12 dan seterusnya sampai minggu ke 30 ($P=0,0000$). Walaupun demikian, kadar FSH cenderung pulih kembali pada minggu ke 36, yaitu kadar FSH pada minggu tersebut tidak berbeda nyata ($P=0,0520$) dibandingkan dengan kadar FSH pada minggu ke 0.

Hasil uji BNT interaksi kelompok pakan dengan waktu, menunjukkan bahwa hambatan supresi FSH pada ketiga kelompok perlakuan adalah berbeda terhadap interaksinya dengan waktu pengamatan (Tabel XXXIV). Hal ini menunjukkan bahwa

pada kelompok monyet yang diberi pakan 3 hambatannya lebih rendah daripada kelompok monyet yang diberi pakan 1 dan 2, terutama setelah disuntik kombinasi TE dan DMPA.

Hasil uji BNT tersebut terlihat bahwa baik pada kelompok 1 dan 2, pada minggu ke 36 kadar FSH belum pulih kembali ($P=0,000$) dibandingkan pada minggu ke -12 ($P=0,0001$) dan minggu ke 0 ($P=0,0143$); akan tetapi kadar FSH pada kelompok 3 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kadar FSH pada minggu ke 0 ($P=0,0829$). Dengan kata lain, terhadap hambatan sekresi FSH maka kelompok 3 lebih rendah dibanding kelompok 1 dan 2.



Gambar 22. Grafik rata-rata kadar FSH pada ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan hambatan tersebut terutama hubungannya dengan interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 22. Dari gambar di atas terlihat bahwa pada kelompok 1 dan 2, mempunyai pola hambatan sekresi FSH yang sama dan keduanya menurun sangat nyata ($P < 0,01$) sampai kadarnya kurang dari 1 mIU/mL pada minggu ke 6 sampai minggu ke 24; serta cenderung meningkat kembali pada minggu ke 30 dan 36. Walaupun demikian sampai minggu ke 36 kadar hormon FSH belum pulih kembali ($P = 0,000$) pada kelompok 1 dan pada kelompok 2 ($P = 0,0143$) dibandingkan dengan kadar FSH pada minggu ke 0.

Pada kelompok 3, hambatan sekresi FSH karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA adalah lebih rendah dibanding dengan kelompok 1 dan 2. Hal ini terlihat bahwa kadar FSH turun dari 3,61 mIU/mL pada minggu ke -12 menjadi 1,17 mIU/mL pada minggu ke 6; sedangkan kelompok 1 kadar FSH sangat rendah pada minggu ke 6 yaitu 0,34 mIU/mL dibandingkan 4,17 mIU/mL pada minggu ke -12. Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa hambatan sekresi FSH karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kelompok monyet yang diberi pakan lemak dan protein rendah, lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan lemak dan protein tinggi.

5. Kadar LH

Hasil penghitungan kadar LH dalam serum ketiga kelompok monyet jantan, disajikan pada Tabel XXXV. Dari data tersebut kemudian dilakukan uji sidik ragam (Lampiran A.15). Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($P = 0,0459$)

antar variabel kelompok pakan, dan berbeda sangat nyata ($P=0,0000$) antar variabel waktu pengamatan, tetapi tidak ada beda nyata ($P=0,8858$) pada interaksi variabel kelompok pakan dengan waktu pengamatan.

Selanjutnya, pada uji BNT (Tabel XXXVI) terbukti bahwa pada kelompok monyet yang diberi pakan 1 berbeda nyata ($P=0,0406$) dengan kelompok 3; demikian pula antara kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P=0,0242$), tetapi antara kelompok 1 dengan kelompok 2 tidak berbeda nyata ($P=0,8137$).

TABEL XXXV
KADAR HORMON LH PADA KETIGA KELOMPOK MONYET JANTAN
(Macaca fascicularis) YANG DIBERI PAKAN BERBEDA SEBELUM
 SELAMA DAN SESUDAH DISUNTIK KOMBINASI TE DAN DMPA

Waktu (minggu)	Kadar hormon LH (mIU/mL)		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
-12	2,279 ± 1,16 (1,02-4,09)	1,880 ± 1,04 (1,03-4,05)	2,284 ± 1,28 (1,05-5,20)
0	2,175 ± 1,36 (1,05-4,83)	2,207 ± 0,94 (1,05-4,05)	2,623 ± 1,08 (1,21-4,09)
6	0,083 ± 0,16 (0,01-0,52)	0,151 ± 0,31 (0,01-1,02)	0,815 ± 0,29 (0,02-1,05)
12	0,226 ± 0,36 (0,01-1,02)	0,195 ± 0,32 (0,01-1,01)	0,318 ± 0,33 (0,02-1,03)
18	0,260 ± 0,31 (0,11-1,02)	0,407 ± 0,39 (0,12-1,10)	0,580 ± 0,37 (0,12-1,21)
24	0,314 ± 0,34 (0,09-1,09)	0,304 ± 0,42 (0,09-1,09)	0,619 ± 0,52 (0,09-1,47)
30	0,655 ± 0,14 (0,59-1,05)	0,585 ± 0,31 (0,09-1,05)	0,845 ± 0,25 (0,61-1,09)
36	1,010 ± 0,07 (0,89-1,01)	1,038 ± 0,07 (0,89-1,10)	1,541 ± 0,07 (0,89-1,09)

Keterangan : 1. Data X rata-rata ± SD dengan n=10 yang diikuti angka (X terendah - X tertinggi)
 2. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%.
 3. Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%.
 4. Kelompok 3: Lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Untuk mengetahui pengaruh variabel waktu pengamatan, maka telah dilakukan uji BNT (Tabel XXXVII). Hasilnya menunjukkan bahwa hambatan sekresi hormon LH ternyata lebih lama, karena pada minggu ke 36 kadar LH tetap berbeda sangat nyata dibandingkan pada minggu ke -12 ($P=0,0000$), tetapi bila dibandingkan pada minggu ke 0 cenderung pulih kembali ($P=0,0520$).

TABEL XXXVI
HASIL UJI BNT VARIABEL KELOMPOK PAKAN
TERHADAP KADAR HORMON LH

Kelompok Pakan	Probabilitas hasil uji BNT		
	Kelompok 1 (0,8752) [#]	Kelompok 2 (0,8459) [#]	Kelompok 3 (1,1406) [#]
Kelompok 1	-	-	-
Kelompok 2	0,8137*	-	-
Kelompok 3	0.0406**	0.0242**	-

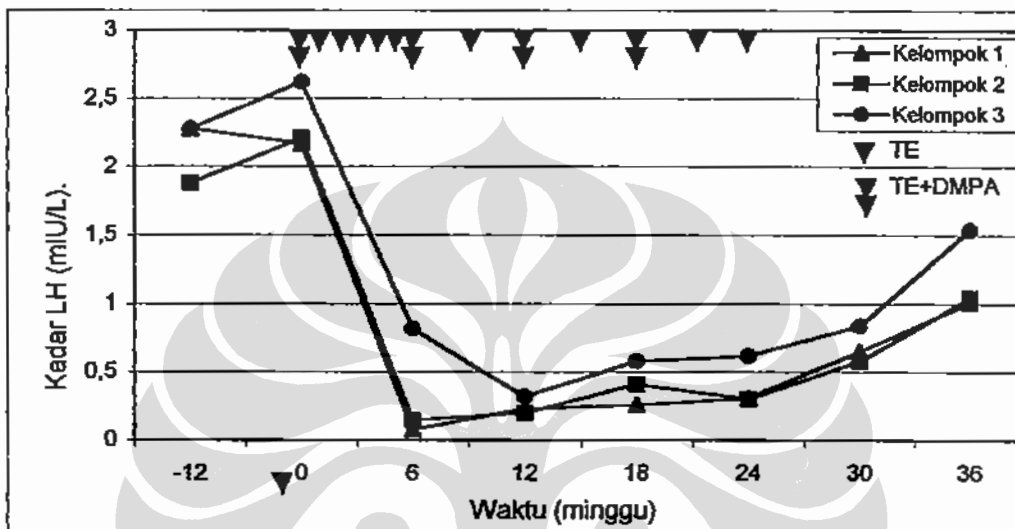
Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT; [#]) Angka rata-rata atau nilai tengah.
*) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); **) Berbeda nyata ($P<0,05$)

TABEL XXXVII
HASIL UJI BNT VARIABEL WAKTU
TERHADAP KADAR LH

Waktu (minggu)	Probabilitas hasil uji BNT [@]							
	(-12) 2,1477*	(0) 2,3349	(6) 0,3496	(12) 0,2463	(18) 0,4159	(24) 0,4125	(30) 0,6946	(36) 1,0296
(-12)	-	-	-	-	-	-	-	-
(0)	0.2372	-	-	-	-	-	-	-
(6)	0.0000	0.0000	-	-	-	-	-	-
(12)	0.0000	0.0000	0,5135	-	-	-	-	-
(18)	0.0000	0.0000	0,6752	0,2841	-	-	-	-
(24)	0.0000	0,0000	0,6911	0,2939	0,9827	-	-	-
(30)	0.0000	0,0000	0,0302	0,0050	0,0792	0,0756	-	-
(36)	0.0000	0,0520	0,0000	0,0000	0,0001	0,0001	0,0352	-

Keterangan: @) Angka dalam kolom merupakan probabilitas nilai BNT
*) Angka rata-rata atau nilai tengah

Untuk mengetahui kemungkinan hubungan yang terjadi antara perbedaan kelompok pakan dengan waktu pengamatan dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Grafik rata-rata kadar hormon LH pada ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang diberi pakan berbeda sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kelompok 1: lemak 9%, protein 13%, karbohidrat 78%; Kelompok 2: lemak 15%, protein 15%, karbohidrat 70%; Kelompok 3: lemak 35%, protein 25%, karbohidrat 40%.

Karena hasil uji sidik ragam interaksi kelompok pakan dengan waktu pengamatan tidak berbeda nyata, maka dapat dikatakan bahwa hambatan sekresi LH karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet tidak spesifik. Walaupun demikian hambatan sekresi LH cenderung lebih rendah pada kelompok 3 dibandingkan dengan kelompok 1 dan 2.

Dari Gambar 23 di bawah ini terlihat bahwa, hambatan sekresi LH pada minggu ke 6 jauh lebih rendah pada kelompok 3; yaitu kadar LH rata-rata pada kelompok 1

sebesar 2,278 mIU/mL pada minggu ke -12 turun menjadi 0,083 mIU/mL pada minggu ke 6, sedangkan kelompok 3 dari rata-rata 2,284 mIU/mL turun menjadi 0,815 mIU/mL pada minggu ke 6.

Dengan demikian dapat diketahui pula bahwa; hambatan sekresi hormon LH karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dengan DMPA pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah adalah lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi. Dengan kata lain, dapat diketahui pula bahwa kadar LH pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi terutama setelah disuntik kombinasi TE dan DMPA.

BAB V

PEMBAHASAN

A. Keadaan nutrisi dan fungsi testis

Perbedaan kadar protein dan lemak dalam penelitian ini, mempunyai pengaruh berbeda terhadap fungsi testis monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa malnutrisi berpengaruh jelek pada organ reproduksi. Inanisi (lemah karena kekurangan makanan), defisiensi vitamin, terbatasnya kalori, atau kekurangan jumlah zat-zat makanan tertentu seperti protein dapat mengganggu fungsi testis (109). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berat badan selama 12 minggu masa adaptasi meningkat sangat nyata, dan cenderung bersifat stabil selama 24 minggu masa penyuntikan TE dan DMPA, tetapi meningkat kembali selama 15 minggu masa pemulihan.

Hasil penimbangan sisa pakan, menunjukkan bahwa berat sisa pakan yang dimakan oleh kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih banyak dibandingkan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah. Sedangkan masa adaptasi selama 3 bulan sudah sesuai dengan penelitian lain sebelumnya (102). Dengan demikian asupan makanan oleh ketiga kelompok monyet adalah normal sesuai dengan kebutuhan energinya. Sehingga perbedaan pengaruh terhadap fungsi testis dalam penelitian ini telah menggambarkan adanya pengaruh interaksi antara perbedaan kadar protein dan lemak dalam pakan dengan penyuntikan kombinasi TE dan DMPA.

Ransum yang tidak cukup dapat mengganggu fungsi endokrin testis, hipofungsi sel Leydig, dan atrofi kelenjar asesori. Pada tikus yang kekurangan makanan secara kronis, kadar fruktosa di dalam semen dan asam sitrat di dalam vesika seminalis sangat rendah yang menyerupai hewan kastrasi. Atrofi kelenjar asesori ini dapat diperbaiki dengan pemberian androgen maupun gonadotropin, karena gonad menanggapi gonadotropin eksogen sedangkan kelenjar asesori menanggapi pemberian androgen (109). Dengan demikian kami berasumsi bahwa keadaan nutrisi berpengaruh terhadap biosintesis dan sekresi hormon gonadotropin. Hal ini dapat dimengerti, sebab apabila sumber energi utama karbohidrat dan lemak cukup maka protein akan dihemat dan digunakan untuk biosintesis protein struktural maupun protein fungsional.

Fungsi gonad juga dipengaruhi oleh ransum yang kekurangan protein atau asam amino tertentu. Kelaparan yang kronik atau ransum yang tidak mengandung protein, mencegah pematangan fungsi testis pada tikus-tikus muda (109). Hal serupa juga terjadi pada babi, kuda, dan sapi jantan yang mengalami keterlambatan pertumbuhan dan waktu dewasa seks (110). Volume testis pada ketiga kelompok monyet dalam penelitian ini berkurang selama penyuntikan kombinasi TE dan DMPA. Permasalahannya adalah mengapa tingkat penyusutan volume testis pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih besar, dibandingkan pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Hal ini disebabkan oleh perbedaan tingkat supresi gonadotropin FSH dan LH. Pernyataan tersebut diperkuat dari laporan hasil penelitian sebelumnya, bahwa malnutrisi menyebabkan penurunan gonadotropin (FSH dan LH) dan

ini berhubungan dengan terjadinya atrofi pada gonad (110). Dengan demikian menyusutnya volume testis pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, disebabkan terjadinya atrofi sebagai akibat dari menurunnya gonadotropin dan testosteron intra-testikuler.

B. Konsentrasi spermatozoa dan persentase azoospermia

Spermatogenesis sangat tergantung pada hormon FSH, LH dan testosteron. Hormon tersebut penting dalam mengontrol proses-proses seluler pada sel-sel target sistem reproduksi yang meliputi: aliran ion, aktivitas enzim, sintesis protein, sintesis dan sekresi hormon steroid, proliferasi dan diferensiasi sel-sel germinal, motilitas sel dan komunikasi antar sel (5,11,46,47).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet, berpengaruh terhadap jumlah spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah adalah lebih rendah, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Hal ini terlihat pula dari perbedaan persentase azoospermia di antara ketiga kelompok monyet perlakuan. Azoospermia 100% terjadi pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, sedangkan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi frekuensi timbulnya azoospermia hanya mencapai 70%. Dengan demikian hipotesis utama yang menyatakan bahwa frekuensi timbulnya azoospermia pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih sedikit, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang yang diberi pakan protein dan

lemak rendah selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA, dapat diterima.

Belum bisa dijelaskan bagaimana mekanismenya sehingga perbedaan efektivitas penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet berbeda. Walaupun demikian, jelas bahwa faktor nutrisi berpengaruh terhadap perbedaan hambatan spermatogenesis pada ketiga kelompok monyet akibat dari perbedaan tingkat supresi gonadotropin, selama disuntik kombinasi TE dan DMPA.

Pada tikus, puncak sekresi RNAm untuk protein ABP oleh sel Sertoli terjadi pada pertengahan siklus epitel seminiferus (VI-VIII). Sekresinya, tergantung dari hormon FSH (111). Dalam penelitian ini, FSH menurun sangat nyata, dengan sendirinya produksi ABP juga menurun. Protein ABP ini diperlukan untuk mendistribusikan androgen yaitu testosteron dan DHT di dalam tubulus seminiferus dan epididimis (5). Selama siklus epitel seminiferus konsentrasi normal hormon FSH diperlukan pada stadium XIII-VI, sedangkan testosteron sangat diperlukan pada stadium VII-VIII; yaitu untuk menghasilkan spermatozoa yang fungsional (5,48,112). Dengan demikian menurunnya jumlah spermatozoa dalam penelitian ini, disebabkan rendahnya hormon gonadotropin terutama FSH.

Infus hormon FSH-manusia pada kera rhesus yang dihipofisektomi, tidak berpengaruh terhadap jumlah spermatid, tetapi meningkatkan jumlah spermatogonia B1, B2, B3 dan B4 yang merupakan generasi spermatogonia A. Disimpulkan bahwa FSH diperlukan untuk memelihara spermatogenesis secara kuantitatif, melalui peningkatan

proliferasi spermatogonia B (113). Spermatogonia B selanjutnya akan berkembang menjadi spermatisit, spermatid dan spermatozoa (39,42). Selama perkembangannya di dalam tubulus seminiferus sel-sel germinal tersebut sangat tergantung dari testosteron dan FSH (41-47). Kadar hormon FSH dan LH dalam penelitian ini menurun sangat nyata, pada ketiga kelompok monyet percobaan. Dengan demikian menurunnya jumlah spermatozoa dalam penelitian ini disebabkan karena rendahnya hormon FSH dan mungkin testosteron intra-testikuler.

Penyuntikan kombinasi 200 mg TE dan 250 mg DMPA dua kali tiap 4 bulan sekali pada pria fertil, MPA meningkat 2 hari setelah penyuntikan pertama dan dipertahankan terus dan menurun sampai kadar terendah 18-20 minggu setelah injeksi kedua. Kadar FSH dan LH menurun mulai hari kedua setelah injeksi pertama dan meningkat kembali 4 minggu setelah injeksi kedua. Oligozoospermia berat terjadi mulai minggu ke 3-7 dan tidak terdapat spermatozoa gerak lurus mulai minggu ke 5 sampai minggu ke 16 (114). Pengaruh senyawa progestagen pada spermatogenesis masih menjadi pertanyaan oleh para ahli. Di samping melalui efek hambatan sekresi gonadotropin, diduga bahwa derivat progestagen bekerja antagonis dengan androgen (47). Hasil penelitian Ericson dan Dutt pada hewan domba yang disuntik dengan derivat progesteron asetat, dilaporkan tidak hanya menyebabkan terhentinya spermatogenesis melainkan juga terjadinya atrofi sel-sel Leydig, dan menurunnya kadar fruktosa; hal ini diduga karena hambatan sekresi gonadotropin (115). Apabila benar DMPA yang diberikan menyebab-

kan disfungsi sel Leydig, maka steroidogenesis terhambat dan dengan demikian biosintesis testosteron intra-testikuler sangat rendah.

Terdapat tiga pertanyaan mengenai regulasi spermatogenesis oleh pengaruh hormonal (48): Pertama, bagaimana mekanisme kerja hormon pada inisiasi dan pemeliharaan spermatogenesis; kedua, faktor apa yang dapat mempertahankan baik secara kuantitatif dan kualitatif proses spermatogenesis; ketiga, apakah hormon berfungsi hanya pada stadium yang sangat spesifik dari perkembangan sel germinal. Dibandingkan dengan hasil penelitian ini, maka ketiga masalah tersebut tidaklah menjadi persoalan karena hormon gonadotropin menurun sangat nyata. Dengan kata lain, ketiga pertanyaan tersebut dapat dijelaskan, yaitu disebabkan oleh menurunnya gonadotropin. Dengan demikian dapat dibuktikan pula bahwa FSH dan LH baik langsung atau tidak, sangat esensial dalam mempertahankan spermatogenesis.

Masih tetap menjadi pertanyaan tentang pengaruh TE dan DMPA terhadap perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia antara relawan negara berkembang dan negara maju. Hal ini diduga karena perbedaan kepekaan, besarnya efek umpan balik negatif, dan kecepatan metabolisme steroid yang ditambahkan (13). Walaupun demikian disimpulkan bahwa lamanya azoospermia rata-rata selama 12 bulan, dengan tingkat azoospermia kumulatif 65%; jelas merupakan efek pemberian kombinasi TE dan DMPA. Melalui penelitian ini telah dapat dibuktikan bahwa kadar rata-rata hormon FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi, lebih tinggi jika

dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, setelah disuntik kombinasi TE dan DMPA.

Pemberian estradiol benzoat pada tikus yang baru lahir, menyebabkan kadar gonadotropin dalam darah tidak terdeteksi, keadaan ini tidak dapat mencegah permulaan spermatogenesis dan tetap berlangsung sampai stadia spermatosit pakhiten. Apabila pemberian estradiol tersebut diteruskan, maka gagal mencapai gelombang tubulus seminiferus tahapan berikutnya. Bila diberikan testosteron maka pembelahan meiosis berlangsung kembali dan terbentuklah spermatid, tetapi gagal mencapai maturasi (116). Disimpulkan bahwa FSH dan testosteron dalam jumlah tertentu bekerja sinergis dalam memulai, mempertahankan dan memelihara spermatogenesis (47, 115,116).

Berbagai percobaan membuktikan bahwa, testosteron dapat memacu pembelahan reduksi (meiosis) dan membentuk spermatid tahap awal, tetapi tidak dapat mendukung maturasi spermatid dan pembentukan spermatozoa tanpa adanya hormon FSH. Sehingga disimpulkan bahwa testosteron intra-testikuler dan FSH bekerja sinergis dalam memulai, mempertahankan dan memelihara spermatogenesis (47).

Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berkadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda, dapat menyebabkan hambatan spermatogenesis yang berbeda pula. Dan bahwa tingkat hambatan antara ketiga kelompok monyet menjadi berbeda, hal itu disebabkan oleh perbedaan tingkat hambatan sekresi gonadotropin. Kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah tingkat hambatan sekresi gonadotropinnya lebih tinggi

dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Hal ini menyebabkan 100% azoospermia terjadi pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, dibandingkan dengan 70% azoospermia pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

Studi biokimia testis pada hewan hipofisektomi, menggambarkan adanya pengaruh hormon gonadotropin terhadap komposisi biokimia testis. Menurunnya laju respirasi testis tikus pasca radiasi dapat dikembalikan dengan pemberian gonadotropin (47). Akumulasi lipid pada tubulus seminiferus testis terjadi pasca hipofisektomi. Di samping itu, lemak netral, kolesterol ester dan diesterglisiril eter meningkat dan lemak polar menurun (117). Dari pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas biosintesis asam lemak sangat sensitif terhadap gonadotropin, hal ini mungkin sebagai implikasi kerjanya spermatogonia dan sel Sertoli. Studi sitokimia dan histokimia, membuktikan bahwa perubahan kandungan lemak pada sel Sertoli berkaitan dengan keadaan fisiologi dan patologi tertentu (47). Hal ini membenarkan pernyataan bahwa aktivitas metabolisme epitel germinal melibatkan sel Sertoli.

Sel Sertoli mempunyai fungsi nutritif pada epitel germinal, aktivitasnya bergantung pada androgen dan terutama FSH (5,48,118). Hal ini telah dibuktikan bahwa penyuntikan FSH langsung pada testis tikus menyebabkan sel Sertoli mengalami hipertrofi (47). Berpangkal pada penelitian hewan betina, FSH bekerja meningkatkan biosintesis protein dan asam nukleat pada ovarium (47), maka efek FSH pada metabolisme protein dalam testis juga sama. Penggabungan isotop ^{14}C -asam amino ke

dalam protein testis tikus meningkat setelah injeksi FSH. Meningkatnya biosintesis protein tersebut pada testis disebabkan oleh pemberian FSH (119).

Dengan demikian; metabolisme lipid, protein dan karbohidrat di dalam testis dipengaruhi oleh kedua jenis hormon gonadotropin dan androgen. Perubahan komposisi biokimia testis merupakan indikasi dari perubahan komposisi seluler testis. Oleh karena kompleksnya komposisi seluler dalam testis dan spesifisitas dari jenis sel tersebut, maka ketergantungan akan hormon menjadi lebih spesifik pula (5,47,117,119). Rendahnya kadar hormon gonadotropin ketiga kelompok monyet dalam penelitian ini, diduga dapat menyebabkan terganggunya fungsi testis sebagai organ kelenjar holokrin. Sehingga, terjadi oligozoospermia dan azoospermia.

Penurunan 10-20% testosteron intra-testikuler, dilaporkan masih dapat mempertahankan proses spermatogenesis secara kuantitatif, tetapi sebagian besar menghasilkan jumlah spermatozoa subnormal. Testosteron intra-testikuler 15% dibawah normal spermatogenesis tetap berlangsung asalkan hormon FSH tetap normal (120). Jadi, menurunnya jumlah dan kualitas spermatozoa dalam penelitian ini disebabkan oleh rendahnya FSH dan testosteron intra-testikuler.

Masalahnya adalah mengapa jumlah dan kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Perbedaan tersebut diduga karena tingkatan supresi gonadotropin terutama FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih kuat, jika dibandingkan dengan kelompok

monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok monyet disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dugaan tersebut didukung oleh hasil penelitian ini dimana konsentrasi FSH serum pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi, lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah. Di samping itu, rendahnya FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah disebabkan oleh tingginya tingkat supresi gonadotropin. Keadaan ini dapat dibenarkan karena konsentrasi testosteron bebas lebih tinggi pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah. Selanjutnya, testosteron total serum tidak berbeda nyata pada semua kelompok monyet.

Atas dasar itu, sangatlah mungkin bahwa SHBG pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi, jumlah dan kualitas ikatannya lebih besar daripada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah. Supaya lebih jelas, baca diskusi selanjutnya tentang hormon steroid dan hormon gonadotropin pada Bab IV ini.

Keadaan tersebut telah pula dibuktikan bahwa, FSH-manusia yang disuntikkan kepada kera rhesus hipofisektomi, berfungsi mempertahankan proliferasi sel spermatogonia A menjadi spermatogonia B (113). Keberadaan kedua sel induk ini, merupakan faktor penentu berlangsungnya siklus epitel seminiferus selama proses spermatogenesis (11,35,39). Bila terjadi defisiensi FSH karena pengaruh pemberian kombinasi TE dan DMPA, maka spermatogenesis tidak sempurna dan akibatnya jumlah maupun kualitas spermatozoa akan berkurang sehingga menyebabkan oligozoospermia dan atau azoospermia (5,12,13,116).

Berdasarkan studi pustaka tersebut dan dibandingkan dengan hasil penelitian ini, sementara dapat disimpulkan bahwa perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia di antara ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA itu, disebabkan karena perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat dalam pakan, sehingga menyebabkan perbedaan tingkat supresi terhadap sekresi gonadotropin (110,121) dan mungkin juga supresi terhadap biosintesis testosteron intra-testikuler.

Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa: Pertama, frekuensi timbulnya azoospermia pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih rendah, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kedua, menurunnya jumlah spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Ketiga, meningkatnya kembali jumlah spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kedua kelompok dihentikan.

C. Kualitas Spermatozoa

I. Metabolisme sel-sel spermatogenik

Selama spermatogenesis, aktivitas sel-sel spermatogenik sangat tinggi, yaitu terjadi perubahan baik morfologi dan biokimia, untuk menghasilkan spermatozoa yang

fungsional (122). Untuk mendukung aktivitas tersebut, sel-sel germinal sangat tergantung pada sumber energi.

Glukosa jelas merupakan substrat yang penting untuk kelangsungan hidup sel-sel germinal dalam testis. Terhambatnya transpot glukosa ke dalam testis menyebabkan jumlah spermatogonia menurun, absennya spermatid, dan vakuolisasi tubulus seminiferus (123,124). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa jika terjadi hambatan transpot glukosa ke dalam sel-sel germinal, maka dapat menyebabkan hambatan biosintesis protein oleh sel-sel spermatosit dan spermatid (109,110,125).

Peneliti lain menyatakan bahwa spermatosit pakhiten dan spermatid menggunakan energi bukan langsung dalam bentuk glukosa, melainkan dalam bentuk laktat dan piruvat, yang disuplai oleh sel Sertoli (126). Dengan kata lain, pengendalian untuk kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel-sel germinal oleh hormon juga dikontrol melalui sel Sertoli (5,48,118). Produksi laktat dan piruvat oleh sel Sertoli, dipengaruhi oleh FSH, yaitu melalui peningkatan kadar dan aktivitas cAMP dalam sel (127).

Untuk menjamin suplai laktat dan piruvat dari sel Sertoli, maka sangat tergantung dari kadar dan jumlah ezim laktat dehidrogenase (LDH-x). LDH merupakan enzim yang mengkatalisis transfer dua elektron dan satu ion hidrogen dari laktat ke NAD. Reaksi transfer elektron yang teratur hanya berlangsung pada bagian sel dimana terdapat LDH. Piruvat yang dalam keadaan normal merupakan hasil akhir glikolisis, dalam keadaan anaerob direduksi oleh NADH menjadi laktat. Oksidasi kembali NADH melalui

pembentukan laktat, memungkinkan glikolisis berlangsung dalam keadaan tidak ada oksigen dengan membentuk kembali NAD.

Gen untuk LDH-x puncak transkripsinya terjadi pada tahap spermatosit pakhiten dan translasinya terjadi baik pada tahap pakhiten maupun sel spermatid. Enzim ini dikontrol oleh FSH dan testosteron (122,128). Terhambatnya sekresi maupun kulaitas LDH-x karena rendahnya FSH dan testosteron intra-testikuler dapat menyebabkan menurunnya jumlah maupun kualitas spermatozoa.

Jumlah dan kualitas spermatozoa yaitu viabilitas, motilitas, morfologi, itegritas membran spermatozoa dalam penelitian ini menurun sangat nyata baik pada kelompok 1, 2 dan 3. Dengan demikian menurunnya jumlah dan kualitas spermatozoa dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh rendahnya gonadotropin LH dan FSH, sehingga metabolisme sel-sel germinal tidak sempurna. Apabila dihubungkan dengan waktu pengamatan, maka jumlah dan kualitas spermatozoa kelompok monyet yang diberi pakan lemak dan protein rendah selalu lebih rendah dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan lemak dan protein tinggi. Perbedaan ini jelas disebabkan oleh perbedaan tingkat supresi terhadap sekresi gonadotropin.

2. Pematangan spermatozoa

Spermatozoa yang dikumpulkan langsung dari testis, tidak memiliki kemampuan gerak untuk membuahi sel telur. Kemampuan fungsional spermatozoa diperoleh hanya setelah melewati epididimis (49,50). Mekanisme pengendalian pematangan spermatozoa dalam epididimis, tetap menjadi bahan diskusi yang menarik. Walaupun demikian telah

jelas bahwa, kecukupan androgen diperlukan untuk memelihara organ tersebut dalam keadaan normal (50,129). Uji khasiat suatu bahan kontrasepsi di samping bersasaran pre-testis dan testis, juga dapat diarahkan untuk mengganggu fungsi epididimis (pos-testis) sebagai tempat maturasi spermatozoa (3,47).

Setelah memasuki epitel epididimis, testosteron yang diangkut oleh APB, dimetabolisme menjadi dihidrotestosteron (DHT). DHT kemudian berikatan dengan reseptor androgen dalam sitoplasma dan masuk ke dalam inti sel untuk berikatan dengan kromatin (130), sehingga aktivitas seluler epitel epididimis juga meningkat. Pemberian testosteron propionat pada tikus, menyebabkan penurunan kadar FSH dan LH, dan menekan sampai 30 kali testosteron intra-testikuler (11). Menurunnya testosteron intra-testikuler dan APB, menyebabkan hormon DHT dalam epididimis juga menurun. Akibatnya, sel target mengalami defisiensi DHT, sehingga proses maturasi terhambat.

Banyak kasus infertilitas pada pria, yang ditandai dengan menurunnya kualitas spermatozoa, disebabkan karena tidak berfungsinya epididimis (131). Keadaan tersebut disebabkan oleh rendahnya sekresi gonadotropin dan androgen (132). Terdapat bukti bahwa tikus yang dikastrasi menyebabkan berat epididimisnya menurun dibanding kontrol; yang disertai dengan turunnya komposisi biokimia epididimis, antara lain protein total, lemak total, fosfolipid, dan RNA total (50,129). Di samping itu ada laporan bahwa aktivitas epitel epididimis tikus (murine), biosintesis dan sekresi protein sangat tergantung dari androgen (132). Hal ini menunjukkan bahwa untuk menjalankan fungsinya, epididimis sangat tergantung dari androgen dalam bentuk DHT (50,51,130).

Belum jelas diketahui tentang efek pemberian TE dan DMPA pada monyet jantan terhadap fungsi maturasi epididimis, tetapi jelas bahwa kadar hormon gonadotropin FSH, LH, dan testosteron dalam penelitian ini menurun sangat nyata. Rendahnya LH menyebabkan biosintesis testosteron intra-testikuler menurun, menurunnya FSH mungkin menyebabkan biosintesis ABP oleh sel Sertoli juga rendah. Akibatnya persyaratan kecukupan akan androgen (DHT) oleh epididimis tidak terpenuhi, sehingga mengganggu fungsi epididimis sebagai tempat maturasi spermatozoa.

2.1. Viabilitas dan motilitas spermatozoa

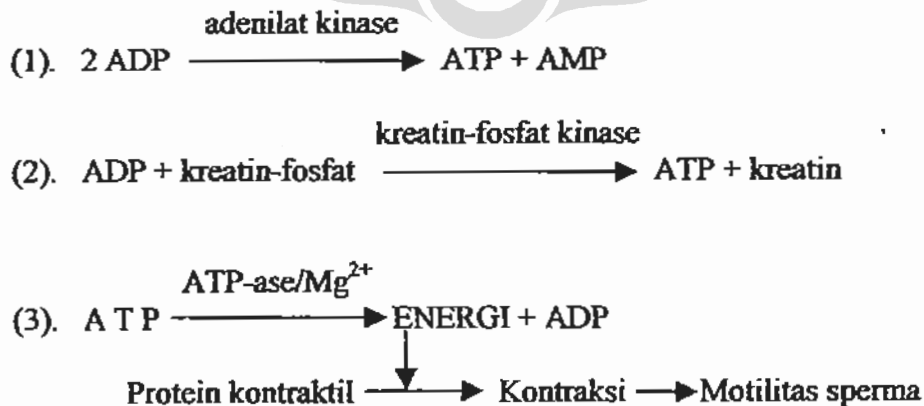
Hasil penelitian ini, terlihat bahwa spermatozoa ejakulat, baik viabilitas maupun motilitasnya menurun sangat nyata dibandingkan sebelum perlakuan penyuntikan kombinasi TE dan DMPA. Di samping itu, meskipun viabilitas spermatozoa menurun tetapi tidak serendah motilitasnya. Ini berarti, meskipun spermatozoa tersebut tetap hidup tetapi tidak memiliki kemampuan untuk bergerak. Hal ini terjadi karena pada penyuntikan $6\text{-}\alpha\text{-metil-17-}\alpha\text{-OH-progesteron}$ pada hewan domba, bekerja mengganggu fungsi kelenjar asesoris (115).

Menurunannya motilitas spermatozoa pada pria sehat yang disuntik kombinasi testosteron dan DMPA, juga telah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya (2,8,9,12-15,77). Keadaan tersebut terjadi karena gangguan selama spermatogenesis yang disebabkan oleh rendahnya sekresi gonadotropin. Di samping itu, inkubasi spermatozoa yang ditambahkan progesteron sintetik dalam media kultur, menyebabkan hambatan proses glikolisis dan motilitas spermatozoa (133).

Dengan demikian dapat diduga bahwa rendahnya FSH dan mungkin testosteron intra-testikuler dalam penelitian ini, mengakibatkan metabolisme spermatozoa terganggu, yaitu baik selama perkembangannya di dalam tubulus seminiferus testis maupun maturnya di dalam epididimis. Permasalahannya adalah pada tingkat mana dan bagaimana hambatan metabolisme sel-sel germinal tersebut terganggu.

Pergerakan atau mekanisme motilitas spermatozoa sangat rumit untuk dibahas dalam kesempatan ini. Mekanisme ini melibatkan berbagai faktor antara lain (80,134): (a), faktor mekano-kimia; (b), jenis protein kontraktile dalam flagela; (c), susunan organel sel yang menyusun sel spermatozoa.

Sumber energi untuk kontraksi protein kontraktile pada flagela spermatozoa adalah ATP. ATP ini disintesis di dalam mitokondria, dan untuk membebaskan energi kontraksi diperlukan enzim ATP-ase dan ion Mg^{2+} . Sumber ATP berasal dari glikolisis dan siklus asam sitrat pada katabolisme glukosa dan fruktosa. Mekanisme kimia kontraksi flagela spermatozoa yang menghasilkan motilitas adalah sebagai berikut (80,134):



Sejumlah enzim yang terlibat dalam glikolisis dan siklus asam sitrat pada epitel epididimis, juga bersifat ketergantungan dengan androgen (50,56). Di samping itu transport glukosa atau pengambilan glukosa oleh epitel epididimis juga merupakan faktor penentu terhadap metabolisme sel, walaupun transport glukosa dalam epitel epididimis sendiri tidak tergantung pada androgen (50).

Di samping itu, ATP merupakan sumber energi utama bagi spermatozoa, berkurang secara kuantitatif apabila ada hambatan pengambilan glukosa oleh epitel epididimis. Apabila keadaan ini terjadi sejak spermatid, maka spermatozoa yang terbentuk akan kekurangan energi sebagai akibat terhambatnya sintesis ATP (133,135). Hal serupa terjadi juga dalam keadaan defisiensi fruktosa, karena terganggunya fungsi kelenjar vesika seminalis (115,131,132).

Dengan demikian menurunnya motilitas dan viabilitas dalam penelitian ini; mungkin disebabkan oleh hambatan sintesis ATP oleh spermatid, hambatan fungsi epididimis sebagai tempat maturasi dan hambatan fungsi kelenjar asesoris lainnya. Maturasi spermatid tahap akhir sangat memerlukan FSH dan testosteron intra-testikuler (47), dan berfungsinya epididimis dan kelenjar asesori lainnya tergantung dari androgen (50,136).

Secara struktural epididimis tersusun oleh epitel sekretori dan epitel absorptif (52,137,138). Secara fungsional epitel-epitel ini sangat tergantung pada androgen. Sekret yang dihasilkan oleh epitel epididimis mencakup tiga bahan utama yaitu ion atau

elektrolit (misal: Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , PO_4^- dan Cl^-), substrat (protein, glikogen, asam sialat, asam laktat, fosfolipid, gliseril fosforilkolin, karnitin), dan enzim (54,57,139).

Apabila ketiga bahan tersebut (elektrolit, substrat, dan enzim) tidak ada di dalam lumen epididimis, maka proses maturasi spermatozoa menjadi terganggu. Gangguan fungsi ini umumnya terjadi pada keadaan dimana androgen tidak ada, terhambat, hewan kastrasi, dan efek beberapa senyawa anti-androgen (47,50).

Dengan demikian dapat diduga bahwa menurunnya fungsi epididimis sebagai tempat maturasi spermatozoa dalam penelitian ini, terjadi karena rendahnya androgen. Penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berbeda, menyebabkan hambatan sekresi FSH, LH dan testosteron total. Dengan hasil ini dapat diasumsikan bahwa menurunnya fungsi epididimis dapat terjadi karena beberapa hal: (a), produksi ABP oleh sel Sertoli rendah; (b), gangguan metabolisme substrat; (c), gangguan kesetimbangan elektrolit dalam lumen; (d), gangguan fungsi enzim 5α -reduktase; (e), gangguan fungsi reseptor androgen pada epitel epididimis.

Reseptor androgen pada epitel epididimis ditemukan baik pada sitosol maupun membran inti. Reseptor ini ditemukan paling banyak pada epitel kaput, dibanding pada korpus dan kauda epididimis (140). Hal ini memberi petunjuk bahwa ketergantungan epitel epididimis terhadap androgen berbeda antara kaput, korpus dan kauda (50).

Androgen dalam bentuk DHT merupakan modulator utama terhadap fungsi epididimis, yaitu dengan cara menginduksi inti sel untuk memulai transkripsi RNA dan sintesis protein (141-144). Protein ini kemudian diubah menjadi protein fungsional, yang

disekresi ke dalam lumen epididimis. Bila ada gangguan reseptor androgen, maka fungsi androgen sebagai induktor inti sel akan terganggu. Dalam hal ini maka diduga bahwa pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berkadar protein, karbohidrat dan lemak berbeda; disebabkan karena pengaruh menurunnya gonadotropin dan mungkin DHT yang menyebabkan kelainan fungsi reseptor.

Di dalam epididimis terdapat enzim 5α -reduktase, yang berfungsi mengubah testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT). Studi tentang ini beranggapan bahwa DHT merupakan bentuk aktif dari testosteron pada epididimis. DHT merangsang perkembangan dan aktivitas sel-sel sekretori pada kera lebih besar dibanding testosteron. DHT diperlukan dalam pengendalian fungsi epididimis sebagai tempat maturasi dan penyimpanan spermatozoa, sehingga spermatozoa berkemampuan untuk membuahi sel telur (145).

Informasi selanjutnya menyatakan bahwa biosintesis dan aktivitas enzim 5α -reduktase dikontrol sendiri oleh testosteron (145,146), dengan demikian kecukupan testosteron menjadi penentu baik kuantitas maupun kualitas enzim tersebut. Demikianlah bahwa menurunnya FSH, LH dan mungkin testosteron intra-testikuler dalam penelitian ini; menyebabkan menurunnya fungsi sel Sertoli dalam mensintesis substrat metabolisme sel-sel germinal dan sintesis ABP. Hal ini dimungkinkan karena fungsi sel Sertoli diantaranya juga dikontrol oleh androgen (118).

Permasalahannya adalah, jika suplai testosteron pada epididimis terganggu, disebabkan rendahnya ABP (50,147) maka enzim 5 α -reduktase baik kadar maupun aktivitasnya juga rendah; akibatnya DHT juga menjadi rendah. Bila keadaan ini berlangsung terus, maka fungsi epididimis terganggu dan kualitas spermatozoa juga menurun.

Larutan elektrolit cairan dalam lumen epididimis dianggap penting dalam menilai aktivitas epitel epididimis. Karena dalam lingkungan demikian ini spermatozoa mengalami maturasi secara fisiologis. Komposisi elektrolit dalam lumen berpengaruh terhadap pH. Perubahan pH sedikit saja sudah cukup untuk mengubah aktivitas suatu enzim, sebab pada umumnya enzim bekerja pada pH optimum.

Perjalanan spermatozoa selama dalam lumen epididimis mulai dari kaput sampai kauda, disebabkan karena pergerakan cairan epididimis. Pergerakan cairan bersama-sama spermatozoa ini, dipengaruhi oleh kontraksi otot polos dan kecepatan reabsorpsi cairan oleh kauda epididimis (148). Terdapat petunjuk bahwa isolat epitel kauda epididimis dari tikus yang dikastrasi (149), reabsorpsi cairan turun dari $2,10 \pm 0,1 \mu\text{L}/\text{cm}^2/30\text{menit}$ pada kontrol menjadi $0,82 \pm 0,12 \mu\text{L}/\text{cm}^2/30\text{menit}$. Dengan kata lain aktivitas reabsorpsi cairan oleh epitel kauda epididimis tergantung pada androgen.

Semakin jelas bahwa menurunnya motilitas, motilitas ke depan, dan viabilitas spermatozoa dalam penelitian ini, disebabkan oleh pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA terhadap menurunnya sekresi hormon gonadotropin dan mungkin hormon testos-teron intra-testikuler. Tingkatan supresi sekresi hormon gonadotropin FSH dan

LH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah adalah lebih kuat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Keadaan inilah yang diduga dapat menyebabkan kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih buruk, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.

2.2. Morfologi dan integritas membran spermatozoa

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa morfologi dan kualitas membran spermatozoa dari ketiga kelompok monyet menurun sangat nyata dibandingkan sebelum disuntik kombinasi TE dan DMPA. Keadaan serupa terjadi pada relawan yang diinjeksi kombinasi testosteron dan DMPA, menyebabkan menurunnya persentase bentuk normal spermatozoa (2,8,12,15,83).

Pengamatan bentuk spermatozoa abnormal di dasarkan pada bentuk abnormal primer dan sekunder (42). Bentuk abnormal primer disebabkan oleh gangguan selama proses spermiogenesis, sedangkan bentuk abnormal sekunder umumnya disebabkan oleh gangguan proses maturasi (42,150). Bentuk abnormal berpengaruh jelek terhadap gerak maju atau motilitas spermatozoa, demikian juga efeknya terhadap integritas membran spermatozoa (2,150).

Protein α -tubulin yang merupakan struktur dasar mikrotubulus dan mikrofilamen penting dalam proses spermiogenesis, yaitu penting dalam pergerakan sitoplasma ke arah belakang menuju flagel selama spermiogenesis. Dengan demikian perubahan dramatik

selama spermiogenesis ini, sangat tergantung dari mikrotubulus (151). Telah pula diketahui bahwa, gen untuk protein α -tubulin ini, berekspresi pada sel spermatid stadia awal (152). Permasalahannya adalah apakah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet dalam penelitian ini, berpengaruh terhadap sintesis protein α -tubulin, belum diketahui. Tetapi dapat diduga meningkatnya bentuk abnormal spermatozoa setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, disebabkan rendahnya sekresi gonadotropin dan mungkin testosteron intra-testikuler, sehingga biosintesis protein α -tubulin oleh spermatid terhambat. Hal ini terjadi karena pematangan spermatozoa selama spermiogenesis memerlukan hormon FSH dan androgen (47).

Keutuhan integritas membran spermatozoa dapat diketahui dengan uji *hypo-osmotic swelling* (HOS-test). Hasil uji HOS dalam penelitian ini menunjukkan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet jantan yang diberi pakan berbeda, menyebabkan kualitas integritas membran spermatozoa menjadi tidak normal atau buruk. Kualitas membran spermatozoa diduga dapat mempengaruhi kemampuan spermatozoa dalam melakukan penetrasi ke dalam ovum selama fertilisasi (2,153). Terdapat hubungan korelasi antara kualitas integritas membran spermatozoa normal atau baik dengan uji penetrasi spermatozoa ke dalam telur (153,154). Pada berbagai kasus infertilitas yang dievaluasi kerusakan membran spermatozoa diantaranya disebabkan oleh karena rendahnya gonadotropin (155,156).

Menurut Soeradi (49), kemampuan fungsional spermatozoa adalah kemampuan-nya melakukan fertilisasi. Uji fungsional spermatozoa manusia, dapat dilakukan secara *in*

vitro, misalnya dengan uji penetrasi ke dalam telur hamster tanpa zona. Hasil uji penetrasi sperma tozoa ke dalam telur hamster, dimana spermatozoa tersebut berasal dari relawan oligozoospermia karena pengaruh penyuntikan TE tunggal atau kombinasinya dengan DMPA adalah 0% (14,157). Hal ini menunjukkan adanya perubahan ultra struktur membran spermatozoa atau buruknya integritas membran. Pemberian androgen (DHT) pada kera rhesus, menyebabkan perubahan ultrastruktur membran spermatozoa (158), hal ini karena terjadi defisiensi testosteron intra-testikuler.

Uji fungsi sperma lainnya yang juga penting adalah penetrasi ke dalam getah serviks (2,107). Penyuntikan TE + DMPA dan 19NT + DMPA pada pria fertil menyebabkan berkurangnya kemampuan spermatozoa berpenetrasi ke dalam getah serviks sapi *in vitro*. Dijelaskan bahwa jarak penetrasi berkorelasi (r) dengan uji HOS, yaitu jarak 1 cm dan 2 cm $r = 0,62$ sedangkan jarak penetrasi 3 cm $r = 0,54$. Hal ini berarti kemampuan fungsional spermatozoa menurun sebanding dengan menurunnya persentase uji HOS atau karena integritas membran spermatozoa buruk (2). Hasil uji HOS dalam penelitian ini menurun sangat nyata. Menurunnya kualitas integritas membran spermatozoa akan menyebabkan kemampuan penetrasi ke dalam getah serviks juga menurun, sehingga dapat dikatakan bahwa spermatozoa tersebut memiliki kualitas yang rendah.

Sel Sertoli menghasilkan glikoprotein-2-sulfat (159), sedangkan sialil-glikoprotein disekresi oleh epitel epididimis (160); keduanya, tersebar pada permukaan membran spermatozoa. Di samping itu, hasil fraksionasi membran spermatozoa yang berasal dari epididimis ditemukan berbagai tipe polipeptida (*sperm membrane polipeptide*=SMP) dan lima macam komponen fosfolipid lainnya (161). Sel Sertoli sangat tergantung pada FSH,

sedang epitel epididimis tergantung pada androgen. Hormon FSH dan mungkin testosteron intra-testikuler pada ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA dalam penelitian, menurun sangat nyata. Dengan demikian dapat diduga bahwa kedua jenis glikoprotein permukaan membran tersebut tidak ada, sehingga menurunkan kualitas membran spermatozoa.

Menurunnya kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah, selalu lebih besar dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi. Dalam hal ini dapat dijelaskan bahwa perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat dalam pakan yang diberikan pada monyet jantan; berpengaruh terhadap efektifitas penyuntikan kombinasi TE dan DMPA terutama dalam menimbulkan penurunan jumlah dan kualitas spermatozoa. Kondisi demikian dapat terjadi karena tingkatan supresi sekresi gonadotropin pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah adalah lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi.

Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih baik, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.

D. Hormon steroid

Kadar hormon testosteron total, testosteron bebas, dan estradiol selama masa adaptasi tidak berbeda diantara ketiga kelompok monyet. Dengan demikian perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat dalam pakan yang diberikan pada ketiga kelompok monyet perlakuan, tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar hormon steroid.

Penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, menyebabkan perubahan kadar hormon steroid pada ketiga kelompok monyet perlakuan. Kadar testosteron total meningkat sangat nyata pada minggu ke 6, tetapi tidak berbeda nyata diantara ketiga kelompok. Pada manusia, lama kerja testosteron enantat eksogen adalah 8,5 hari (162). Hal ini menunjukkan bahwa injeksi TE dalam penelitian ini sangat efektif karena pada minggu ke 12 testosteron total turun kembali sama dengan minggu ke -12 atau minggu ke 0.

Mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 6, penyuntikan TE dilakukan tiap satu minggu sekali, yaitu untuk mendapatkan kadar testosteron yang tinggi dalam plasma agar lebih efektif untuk menekan sekresi gonadotropin melalui umpan balik negatif. Karena untuk tujuan ini diperlukan kenaikan testosteron 40% (6) atau 150% (163) di atas kadar fisiologis. Bila dibandingkan dengan penelitian ini maka peningkatan testosteron total sekitar 150% pada kelompok 1 dan 2, sedangkan pada kelompok 3 naik sebesar 99% di atas kadar fisiologis. Di samping itu, pada minggu ke 24 kadar testosteron total kelompok 2 dan 3 adalah 2 kali lebih tinggi daripada kelompok 1.

Belum bisa dijelaskan mengapa tingkat kenaikan testosteron total ini berbeda antar ketiga kelompok monyet perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa dengan pakan berkadar lemak lebih tinggi tetap dapat menjamin biosintesis testosateron, dan mungkin disebabkan adanya perbedaan kecepatan metabolisme dari testosteron yang ditambahkan. Pada hewan mamalia jantan, testosteron dalam tubuh akan diubah menjadi estradiol dan DHT, atau dimetabolisir menjadi metabolit androgen lainnya untuk dikeluarkan dari tubuh (5,48). Kadar estradiol dalam penelitian ini, meningkat sangat nyata pada minggu ke 6 dibandingkan pada minggu ke 0. Selanjutnya menurun sangat nyata sampai minggu ke 24. Hal ini menunjukkan bahwa ada peningkatan metabolisme terhadap testosteron untuk diubah menjadi estradiol dan atau mungkin DHT. Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa kecepatan metabolisme testosteron pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi, adalah lebih cepat dibanding dengan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah.

Pada relawan yang mula-mula disuntik 1000 mg DMPA dan berikutnya 150 mg/bulan yang dikombinasikan dengan 250 mg TE bersamaan dengan injeksi DMPA; menyebabkan testosteron total turun 41% mulai minggu ke 4 sampai minggu ke 16. Kadar estradiol juga menurun 49% pada minggu ke 4 dan sekitar 69% pada bulan ke 3. Hal ini disebabkan karena peningkatan kadar MPA dalam serum dari nol (0 ng/mL) sebelum perlakuan, menjadi 8,2 ng/mL pada minggu ke 4 (15).

Meningkatnya laju penurunan kadar testosteron total setelah minggu ke 6 dalam penelitian ini, jelas merupakan efek dari pemberian DMPA. Dari berbagai kasus infertilitas pada pria, diketahui bahwa meningkatnya kadar $17\text{-}\alpha\text{-OH}$ -progesteron itu menyebabkan terjadinya desensitisasi enzim $17\text{-}20$ desmolase sel Leydig, sehingga menyebabkan produksi atau sekresi testosteron endogen atau testosteron intra-testikuler menurun (60).

Kadar testosteron bebas selama masa perlakuan adalah berbeda nyata di antara ketiga kelompok. Hasil ini sangat menarik, karena kadar testosteron total di antara ketiga kelompok tidak berbeda nyata. Peningkatan kadar testosteron bebas minggu ke 6 pada kelompok 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 9 kali, 6 kali dan 4 kali. Testosteron bebas tetap lebih tinggi pada kelompok 1 dan 2, yang dipertahankan sampai minggu ke 24; sedangkan kelompok 3 turun menjadi sama dengan data dasar.

Perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat dalam pakan jelas merupakan salah satu faktor yang menyebabkan kadar testosteron bebas dalam serum berbeda antara kelompok 1, 2 dan 3 setelah disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dalam keadaan normal protein pengikat androgen (SBP, TeBG, SHBG) berfungsi mempertahankan kesetimbangan dan disosiasi pengikatan androgen dalam sirkulasi dengan sel target (24-29). Apabila protein pengikat tersebut di dalam plasma darah rendah, hal ini menyebabkan tingginya testosteron bebas. Dalam keadaan demikian, mungkin akan meningkatkan efektivitas umpan balik negatif ke hipofisis (24,29,30).

Dari hasil studi pustaka dapat diduga bahwa ada hubungan antara metabolisme lemak, protein dan karbohidrat dengan hormon seks. Hasil studi epidemiologi pada 30 pria sehat menunjukkan bahwa, protein pengikat androgen (SHBG) berkorelasi positif dengan HDL-c dan testosteron total, dan berkorelasi negatif dengan trigliserida dan insulin; sedangkan testosteron bebas berhubungan positif dengan insulin (32). Semmens *et al* (164) menduga bahwa hormon seks (androgen dan estrogen) mempengaruhi kadar HDL-c melalui aktivitas dua enzim utama. Enzim lipoprotein lipase dan lipase sel endotel hepar, kedua enzim ini terlibat dalam metabolisme HDL-c.

Pada kultur sel hepatoma *in vitro* (Hep G2) terbukti bahwa SHBG diproduksi oleh sel tersebut. Produksinya dirangsang oleh tiroksin dan estradiol, sedangkan hormon insulin menghambatnya (31). Demikian juga kapasitas ikatan SHBG terhadap hormon seks berkorelasi positif dengan lipoprotein (165). Pada wanita menopause, diet tinggi lemak berhubungan negatif dengan kadar insulin yaitu 64,9 pmol/L pada diet tinggi lemak dibandingkan dengan 81,4 pmol/L pada diet rendah lemak (166).

Hasil studi sebelumnya ditemukan bahwa, lokalisasi lemak tubuh bagian atas dan obesitas; berhubungan dengan meningkatnya aktivitas androgenik sebagai refleksi dari menurunnya SHBG dalam plasma dan meningkatnya testosteron bebas (167). Pada wanita premenopause yang mengalami obesitas dengan kasus hiperinsulin atau resistensi insulin, dalam keadaan demikian SHBG tetap tinggi dan testosteron bebas rendah (168). Di samping itu, dalam keadaan normal SHBG berkorelasi negatif dengan insulin, dan juga pada kultur sel hepatoma (Hep G2) penambahan insulin dalam

medium kultur menyebabkan SHBG rendah (31). Pada wanita post-menopause diet 60% karbohidrat, 25% lemak dan 15% protein; maka konsentrasi insulin dan triasilgliserol dalam darah lebih tinggi dibandingkan dengan diet 40% karbohidrat, 15% protein dan 45% lemak (166,169).

Pemberian testosteron (19-NTT) tiap minggu selama 6 minggu pada pria normal bangsa Kaukasia dengan diet rendah lemak atau tinggi karbohidrat, maka insulin lebih tinggi dan SHBG rendah (170). Dengan demikian, meningkatnya kadar testosteron bebas pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah atau karbohidrat tinggi dalam penelitian ini, mungkin disebabkan oleh tingginya insulin sehingga produksi SHBG lebih rendah dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi atau karbohidrat rendah.

Di samping perbedaan kadar protein pengikat dalam plasma, telah pula dibuktikan bahwa kapasitas ikatan (*binding capacity*) protein pengikat terhadap androgen juga berpengaruh terhadap perbedaan kadar testosteron bebas dalam plasma darah (24,28). Dalam hal ini, baik kadar maupun kapasitas ikatan suatu protein pengikat, mungkin merupakan faktor penentu efektivitas dari pemberian kombinasi TE dengan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berbeda.

Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah mempunyai testosteron bebas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi, setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.

Kadar hormon testosteron total pada kelompok 3 telah pulih kembali mulai minggu ke 12. Sedangkan pada kelompok 1 dan 2 kadar testosteron total menurun di bawah data dasar sampai minggu ke 36. Hal ini membuktikan bahwa kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah, maka injeksi kombinasi TE dan DMPA menurunkan kadar testosteron total. Sedangkan pada kelompok 3 yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi kadar testosteron total tetap normal.

Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, pria sehat yang mendapat diet 20% kalori berasal dari lemak kadar testosteron total lebih rendah dibandingkan yang diberikan diet dengan 40% kalori berasal dari lemak (87). Dengan demikian dapat diduga bahwa efek desensitisasi DMPA terhadap enzim 17-20 desmolase (60) pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah adalah lebih tinggi dibanding pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi. Jadi, penyuntikan kombinasi TE dan DMPA dalam penelitian diduga dapat menyebabkan biosintesis testosteron intra-testikuler pada kelompok 1 dan 2 lebih rendah dibandingkan kelompok 3. Sehingga sampai minggu ke 36, kadar hormon testosteron total pada kelompok 1 dan 2 lebih rendah dan belum pulih kembali.

Pada minggu ke 36, kadar hormon testosteron bebas dari ketiga kelompok monyet telah pulih kembali. Walaupun demikian kadarnya tetap lebih tinggi pada kelompok 1 dan 2, dibandingkan kelompok 3. Hal ini membuktikan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda, berpengaruh terhadap kadar testosteron

bebas dalam serum. Dengan kata lain, kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah menyebabkan kadar atau kapasitas ikatan dari protein pengikat lebih rendah dibandingkan pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi, terutama setelah kedua kelompok monyet tersebut disuntik kombinasi TE dan DMPA.

Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa konsentrasi testosteron bebas pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih tinggi, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA.

E. Hormon gonadotropin

Selama masa adaptasi, ketiga kelompok monyet penelitian diberi pakan dengan kadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda. Kadar hormon gonadotropin tidak menunjukkan perbedaan yang berarti di antara tiga kelompok monyet perlakuan. Dengan demikian sebelum penyuntikan kombinasi TE dengan DMPA dilakukan, maka pemberian pakan dengan perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat, tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar hormon gonadotropin. Hal ini tercermin adanya jumlah dan kualitas spermatozoa tetap normal, bahkan ada kecenderungan bahwa kualitas spermatozoa sedikit lebih baik pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

Selama masa perlakuan pemberian pakan dengan kadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda, terhadap ketiga kelompok monyet tetap dilanjutkan. Kadar

hormon gonadotropin FSH dan LH menurun sangat nyata selama masa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA. Menurunnya kadar FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah adalah lebih banyak dibandingkan pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Dengan demikian, setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, maka pengaruh faktor nutrisi diduga menjadi lebih dominan dibandingkan faktor genetik, terutama berpengaruh dalam mengontrol mekanisme umpan balik negatif ke hipofisis.

Pada minggu ke 6 setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, kadar hormon FSH turun sebesar 90% pada kelompok 1 dan 89% pada kelompok 2; sedangkan kelompok 3 penurunan itu lebih sedikit yaitu 65%. Demikian pula untuk kadar hormon LH, pada kelompok 1 dan 2 turun sebesar 96% dan 93%; sedangkan kelompok 3 turun sebesar 68%. Pola hambatan sekresi gonadotropin pada ketiga kelompok monyet perlakuan seperti ini, adalah hampir sama dan dipertahankan sampai minggu ke 36, walaupun demikian besarnya tingkat hambatan tetap tidak sama.

Pada monyet betina hormon progesteron endogen 98,4% terikat pada protein serum. Hormon ini juga berfungsi mengontrol sekresi hormon gonadotropin, melalui umpan balik negatif (171). Pada kontrasepsi wanita, diketahui bahwa injeksi DMPA dilakukan dengan selang 12 minggu, yang menyebabkan hambatan sekresi FSH dan LH selama 185 hari atau sekitar 12 minggu (172,173).

Uji klinik untuk memperoleh kontrasepsi pria, penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, menyebabkan hambatan maksimal sekresi FSH dan LH terjadi 2 minggu

setelah injeksi 250 mg TE dan 300 mg DMPA, tetapi cenderung pulih kembali pada bulan ke 4 dari injeksi terakhir (77). Penyuntikan 150 mg MPA pada kasus feminisasi testis, menyebabkan hambatan sekresi gonadotropin selama 35 hari (174). Penyuntikan kombinasi 200 mg TE dan 250 mg DMPA pada relawan Indonesia, menyebabkan hambatan sekresi gonadotropin mulai minggu ke 4 sampai minggu ke 24, dan meningkat kembali setelah minggu ke 24 selama masa pemulihan (12).

Pada manusia, injeksi kombinasi TE dan DMPA ini, menyebabkan hambatan sekresi FSH dan LH masing-masing sebesar hampir 95% (10). Selanjutnya, bila dibandingkan dengan penelitian lain, dengan TE tunggal pada rhesus monkey (*Macaca mulatta*) tingkat hambatannya adalah sama yaitu sebesar 76,6% untuk hormon LH dan 96,6% untuk hormon FSH (175). Injeksi 100 mg TE tunggal pada pria eugonadal menyebabkan penurunan kadar gonadotropin FSH dan LH sampai 60% terjadi pada hari ke 1 sampai hari ke 7; sedangkan dosis pemberian 200 mg TE menyebabkan penurunan secara linier sebesar 63% terjadi dari hari ke 1 sampai hari ke 9, keduanya kembali ke data dasar pada hari ke 14 (176).

Penelitian sebelumnya pada kera rhesus, menjelaskan bahwa kera yang mula-mula diberi pakan dengan total kalori 1150 kal/hari kemudian diturunkan menjadi hanya 200 kal/hari selama 24-30 hari, ternyata menyebabkan konsentrasi FSH dan LH yang beredar turun sangat nyata. Dijelaskan lebih lanjut bahwa faktor nutrisi, diduga berpengaruh terhadap pengendalian mekanisme sistem neuroendokrin terutama dalam mengontrol pelepasan hormon gonadotropin (177).

Penekanan sekresi gonadotropin oleh hipofisis dalam penelitian ini adalah karena pengaruh penyuntikan kombinasi TE dan DMPA, melalui umpan balik negatif. Perbedaan kemampuan supresi kombinasi TE dan DMPA terhadap sekresi LH dan FSH, dari ketiga kelompok monyet, mungkin disebabkan oleh dua hal (29,30): Pertama, perbedaan konsentrasi protein pengangkut (misal SHBG); Kedua, kapasitas ikatan (*binding capacity*) dari protein pengangkut.

Penelitian Winters (28) pada kerbau, kegagalan pemberian androgen untuk menekan sekresi gonadotropin (FSH dan LH) melalui umpan balik negatif tidak selalu disebabkan oleh tingginya konsentrasi TeBG (SHBG), melainkan oleh rendahnya kapasitas ikatan TeBG tersebut terhadap androgen. Kapasitas ikatan protein pengikat atau SBP terhadap androgen adalah lebih rendah pada hewan sapi muda yang diberi pakan dengan rendah kalori 6,2 Mkal dibandingkan dengan yang diberi pakan dengan tinggi kalori 16,7 Mkal (24).

Di samping itu, penyuntikan 200 mg TE tunggal tiap minggu selama 18 bulan pada 33 relawan menyebabkan 55% azoospermia dan 45% oligozoospermia. Ini disebabkan testosteron total meningkat 5 kali sedangkan testosteron bebas 10 kali pada minggu ke 16, yang menyebabkan supresi gonadotropin FSH dan LH. Dijelaskan lebih lanjut bahwa kadar testosteron total maupun testosteron bebas berbeda sangat nyata antara relawan azoospermia dengan oligozoospermia, tetapi kadar SHBG-nya tidak berbeda. Mereka menduga adanya polimorfisme sel-sel germinal atau perbedaan kepekaan poros hipotalamus-hipofisis-testis terhadap pemberian TE (178).

Dari laporan tersebut menunjukkan bahwa pemberian TE atau kombinasinya dengan DMPA pada relawan dengan ras sama, tetapi menyebabkan perbedaan tingkat hambatan spermatogenesis. Bila dikaitkan dengan hasil penelitian yang kami peroleh, maka perbedaan tersebut sangat mungkin berhubungan dengan faktor nutrisi. Hal ini dapat dijelaskan dengan perbedaan kadar testosteron bebas antar kelompok monyet. Kadar testosteron bebas kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah meningkat 10 kali, dibandingkan 6 kali pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Oleh karena kadar SHBG dan gonadotropin (FSH dan LH) pada relawan oligozoospermia maupun azoospermia tidak berbeda (178), maka adanya faktor lain yang mungkin menyebabkan perbedaan tingkat hambatan spermatogenesis akibat pemberian TE dan DMPA adalah faktor polimorfisme SHBG dan perbedaan kapasitas ikatan SHBG terhadap androgen.

Dengan demikian rendahnya sekresi gonadotropin pada ketiga kelompok monyet dalam penelitian ini, terutama setelah disuntik kombinasi TE dan DMPA dapat diduga pula melalui dua keadaan yaitu: Pertama, rendahnya FSH dan LH pada ketiga kelompok monyet perlakuan adalah melalui mekanisme umpan balik negatif. Kedua, pada kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein rendah; maka hambatan sekresi FSH dan LH lebih tinggi dibandingkan kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar lemak dan protein tinggi. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan konsentrasi dan kapasitas ikatan protein pengikat androgen, sehingga laju sinergisme antara TE dan DMPA dalam menghambat sekresi FSH dan LH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih tinggi, jika dibandingkan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

Selama masa pemulihan pemberian pakan dengan perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat, tetap dilanjutkan. Kadar FSH kelompok 3 pada minggu ke 36 adalah $2,68 \pm 1,15$ mIU/mL tidak berbeda nyata dibandingkan dengan $3,35 \pm 1,46$ mIU/mL pada minggu ke 0. Dengan demikian kadar FSH pada kelompok 3 pemulihan terjadi pada minggu ke 36, tetapi terutama pada kelompok 1 kadar FSH pada minggu ke 36 belum pulih kembali yaitu $1,89 \pm 0,68$ mIU/mL dibandingkan $4,17 \pm 1,35$ mIU/mL pada minggu ke -12. Demikian juga kadar hormon LH pada kelompok 1 dan 2 belum pulih kembali pada minggu ke 36 dibandingkan pada minggu ke -12 maupun pada minggu ke 0, tetapi pada kelompok 3 kadar LH cenderung pulih kembali lebih cepat mencapai kadar $1,541 \pm 0,07$ mIU/mL.

DMPA sebagai kontrasepsi (terutama pada wanita) dosis yang direkomendasi adalah 150 mg tiap 3 bulan, ini tidak menyebabkan infertilitas yang berkepanjangan atau bersifat reversibel. Mekanisme kerja DMPA ini dalam menghambat ovulasi adalah melalui hambatan sekresi gonadotropin (179). Demikian juga pada pria, dari berbagai uji preklinik maupun klinik, semua laporan menjelaskan bahwa kombinasi TE dan DMPA bekerja menghambat sekresi gonadotropin FSH dan LH, tetapi bersifat reversibel (12,13,15,77).

Dengan demikian apa yang kita dapat dari penelitian ini adalah sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (18,175,177), yaitu masa pemulihan terhadap kadar hormon LH dan FSH adalah 80-115 hari pasca injeksi terakhir. Hal serupa juga terjadi pada manusia yang diinjeksi kombinasi TE dengan DMPA, dimana kadar FSH dan LH

pulihan kembali mencapai sedikit di atas data dasar adalah 3-5 bulan pasca perlakuan terakhir (10,12,13).

Belum bisa dijelaskan mengapa masa pemulihan dari ketiga kelompok monyet dalam penelitian ini, berbeda-beda. Walaupun demikian, dapat diduga bahwa kadar testosteron bebas, SHBG dan kapasitas ikatan SHBG terhadap testosteron yang ditambahkan, menyebabkan perbedaan lamanya tingkat hambatan sekresi gonadotropin (28,30). Hal ini dapat dijelaskan bahwa testosteron terikat berkorelasi negatif dengan rasio protein pengikat dan testosteron bebas (28). Dijelaskan pula bahwa kapasitas ikatan SHBG atau SHBG terhadap androgen, ditentukan oleh faktor nutrisi. Semakin rendah status nutrisi (kalori) maka kapasitas ikatannya juga semakin rendah (24). Dengan demikian perbedaan masa pemulihan dari ketiga kelompok monyet dalam penelitian ini, juga disebabkan oleh perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat dalam pakan.

Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa: Pertama, konsentrasi FSH dan LH pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Kedua, meningkatnya kembali konsentrasi FSH dan LH pada serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih cepat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA dihentikan.

BAB VI

RINGKASAN DAN KESIMPULAN

A. Ringkasan

1. Pendahuluan

Terdapat perbedaan efektivitas penyuntikan testosteron enantat (TE) tunggal atau kombinasinya dengan depotmedorxy progesteron asetat (DMPA) terhadap timbulnya azoospermia antara pria Indonesia, Cina dan Kaukasia. Penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada pria Indonesia mencapai 95-100%, Cina 90-100%, sedangkan pria Kaukasia kurang dari 70%. Perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia ini, mungkin disebabkan faktor-faktor genetik dan atau lingkungan misalnya faktor nutrisi. Susunan nutrisi orang Asia umumnya tinggi karbohidrat tetapi rendah protein dan lemak, sedangkan orang Kaukasia tinggi protein dan lemak tetapi rendah karbohidrat.

Oleh karena itu kami menduga bahwa faktor nutrisi tersebut berperan dalam menentukan terjadinya perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia akibat pemberian TE atau kombinasinya dengan DMPA antara pria Kaukasia dengan pria Asia. Namun sampai sekarang belum ada penelitian yang membuktikan bahwa faktor nutrisi itulah yang menyebabkan terjadinya perbedaan frekuensi timbulnya azoospermia antara orang Kaukasia dengan orang Asia. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda pada monyet jantan

(*Macaca fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap timbulnya azoospermia.

2. Bahan dan Metoda

Penelitian ini menggunakan 30 ekor monyet jantan berumur 6-9 tahun dengan berat badan 4,4-5,2 kg. Tiga puluh monyet tersebut kemudian dibagi ke dalam tiga kelompok masing-masing 10 ekor. Kelompok 1 diberi pakan monkey-chow 9% lemak, 13% protein dan 78% karbohidrat sebagai kontrol; kelompok 2 diberi pakan model makanan Asia 15% lemak, 15% protein dan 70% karbohidrat; kelompok 3 diberi pakan model makanan Kaukasia 35% lemak, 25% protein dan 40% karbohidrat. Penelitian ini dibagi tiga periode yaitu periode adaptasi selama 3 bulan (dari minggu ke -12 sampai minggu ke 0), periode perlakuan selama 6 bulan (mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 24), dan periode pemulihan selama 3,5 bulan (minggu ke 24 sampai minggu ke 39). Tiga bulan setelah masa adaptasi, disuntikan 20 mg TE tiap satu minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 6 dan dilanjutkan tiap 3 minggu sampai minggu ke 24. Bersamaan itu, 25 mg DMPA disuntikan setiap 6 minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 18.

Semen diperoleh dengan teknik elektroejakulasi 2 kali selama masa adaptasi (minggu ke -12 dan minggu ke 0) dan tiap 3 minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 39. Sebelum dilakukan pengambilan semen dengan teknik ini, monyet terlebih dahulu dibius dengan ketamin-HCl. Plasma semen dikumpulkan dengan tabung sentifuse dan dicatat volumenya. Penetapan konsentrasi spermatozoa dan kualitas spermatozoa

dilakukan dengan metoda WHO. Sampel darah diambil melalui vena femoralis 2 kali selama masa adaptasi yaitu minggu ke -12 dan minggu ke 0, selanjutnya dilakukan tiap 6 minggu mulai minggu ke 0 sampai minggu ke 36. Kemudian ditera kadar hormonnya dengan teknik RIA (radio immuno assay), meliputi kadar hormon testosteron bebas, testosteron total, estradiol, FSH dan LH. Data yang diperoleh dianalisis dengan bantuan komputer program SPSS versi 6, yaitu uji sidik ragam (ANOVA) dua arah dan uji BNT pada taraf nyata 5%.

3. Hasil Penelitian

Pemeriksaan dengan menggunakan standar WHO, diperoleh hasil bahwa baik jumlah maupun kualitas spermatozoa pada semua kelompok monyet percobaan sebelum dan selama masa adaptasi adalah normal. Jumlah spermatozoa pada kelompok 1 dan 2 menurun secara nyata mulai minggu ke 3 dari penyuntikan pertama kombinasi TE dan DMPA, dan semua monyet dari kedua kelompok ini mencapai 100% azoospermia yang dipertahankan sampai minggu ke 30. Pada kelompok tersebut spermatozoa muncul kembali pada minggu ke 33 dan sampai penelitian ini berakhir minggu ke 39, rata-rata jumlah spermatozoa hanya mencapai ke keadaan oligospermia berat. Selanjutnya, sampai minggu ke 39 dimana penelitian ini berakhir terdapat dua ekor monyet pada kelompok 1 dan satu ekor monyet pada kelompok 2 tetap dalam keadaan azoospermia. Sebaliknya pada kelompok 3 hanya 70% monyet yang mengalami azoospermia yang terjadi pada minggu ke 24, dan rata-rata jumlah spermatozoanya 1,42 juta/mL pada minggu ke 30.

Setelah itu rata-ratanya meningkat kembali ke keadaan normozoospermia pada minggu ke 39.

Pada umumnya, diperoleh hasil bahwa kualitas spermatozoa yang meliputi viabilitas, motilitas, morfologi, dan integritas membran spermatozoa lebih buruk pada kelompok 1 dan 2 jika dibandingkan dengan kelompok 3. Demikian juga laju penurunan kualitas spermatozoanya lebih cepat pada kelompok 1 dan 2 jika dibandingkan dengan kelompok 3, sebaliknya laju pemulihan kualitasnya pada kelompok 1 dan 2 lebih lambat dibandingkan kelompok 3.

Kadar hormon FSH dan LH dalam serum menurun sangat nyata pada ketiga kelompok monyet percobaan yaitu mulai minggu ke 6 sampai minggu ke 24. Sedangkan meningkatnya kembali kadar FSH dan LH lebih cepat pada kelompok 3 dibandingkan kelompok 1 dan 2. Kadar hormon testosteron total pada ketiga kelompok tersebut tidak berbeda nyata, tetapi ketiganya meningkat nyata pada minggu ke 6 dan kembali ke keadaan semula pada ke 12 sampai minggu ke 36. Sebaliknya, kadar hormon testosteron bebas berbeda nyata di antara ketiga kelompok monyet percobaan, yaitu lebih tinggi pada kelompok 1 dan 2 jika dibandingkan dengan kelompok 3. Kadar hormon testosteron bebas pada minggu ke 6 adalah $83,587 \pm 17,17$ pg/mL pada kelompok 1 dan $43,222 \pm 19,1$ pg/mL pada kelompok 2, sedangkan kelompok 3 adalah $30,296 \pm 11,8$ pg/mL. Perbedaan tersebut berlanjut mulai minggu ke 6 sampai minggu ke 24.

Masalahnya adalah mengapa jumlah dan kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah jika dibandingkan

dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi. Perbedaan tersebut diduga karena perbedaan tingkat supresi gonadotropin terutama FSH. Pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah tingkat supresinya lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama di suntik kombinasi TE dan DMPA. Dugaan tersebut didukung oleh hasil penelitian ini, dimana konsentrasi FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

Jelaslah bahwa rendahnya FSH pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah mungkin disebabkan oleh tingginya tingkat supresi gonadotropin akibat penyuntikan kombinasi TE dan DMPA. Keadaan ini dapat dibenarkan karena hasil pemeriksaan hormon testosteron bebas dalam penelitian ini lebih tinggi pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah, sehingga tingkat supresinya melalui umpan balik negatif ke hipofisis menjadi lebih kuat. Atas dasar itu, sangatlah mungkin bahwa jumlah dan kualitas ikatan SHBG terhadap nadrogen pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih besar dari pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah.

Dengan demikian dapat dijelaskan bahwa penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada ketiga kelompok monyet yang diberi pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda, dapat menyebabkan hambatan spermatogenesis yang berbeda pula. Hal ini terbukti bahwa 100% azoospermia terjadi pada kelompok monyet yang diberi pakan

protein dan lemak rendah, dibandingkan 70% azoospermia pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi.

B. Kesimpulan

Hasil penelitian ini tentang pengaruh pemberian pakan yang berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda pada ketiga kelompok monyet jantan (*Macaca fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pengaruh pemberian pakan yang berkadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda pada ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA dapat menyebabkan timbulnya oligozoospermia dan azoospermia yang berbeda.
2. Frekuensi timbulnya azoospermia pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi lebih sedikit yaitu 70%, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah yang mencapai 100% selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dengan demikian hipotesis utama dalam penelitian ini dapat diterima.
3. Menurunnya jumlah spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih cepat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dengan demikian hipotesis penunjang ke 1 dapat diterima.
4. Meningkatnya kembali jumlah spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat, jika dibandingkan dengan kelompok

monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah penyuntikan kombinasi TE dan DMPA pada kedua kelompok dihentikan. Dengan demikian hipotesis penunjang ke 2 dalam penelitian ini dapat diterima.

5. Pengaruh pemberian pakan yang berkadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda pada ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA, dapat menyebabkan menurunnya kualitas spermatozoa yang meliputi: viabilitas spermatozoa, motilitas spermatozoa, morfologi spermatozoa, dan integritas membran normal spermatozoa.
6. Kualitas spermatozoa pada kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih buruk, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dengan demikian hipotesis penunjang ke 3 dapat diterima.
7. Pengaruh pemberian pakan yang berkadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda pada ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA, dapat menyebabkan peningkatan kadar testosteron bebas dalam serum.
8. Konsentrasi testosteron bebas dalam serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih tinggi, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dengan demikian hipotesis penunjang ke 4 dalam penelitian ini dapat diterima.

9. Pengaruh pemberian pakan yang berkadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda pada ketiga kelompok monyet yang disuntik kombinasi TE dan DMPA, dapat menyebabkan menurunnya konsentrasi hormon gonadotropin FSH dan LH dalam serum.
10. Konsentrasi FSH dan LH dalam serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih rendah, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi selama kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dengan demikian hipotesis penunjang ke 5 dapat diterima.
11. Meningkatnya kembali konsentrasi FSH dan LH dalam serum kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak rendah lebih lambat, jika dibandingkan dengan kelompok monyet yang diberi pakan protein dan lemak tinggi setelah kedua kelompok disuntik kombinasi TE dan DMPA. Dengan demikian hipotesis penunjang ke 6 dalam penelitian ini dapat diterima.

C. Saran

1. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh perbedaan kadar lemak, protein dan karbohidrat pada pakan monyet jantan yang disuntik kombinasi TE dan DMPA, dengan mempelajari beberapa parameter pengamatan lainnya, adalah :
 - (1). Mengukur konsentrasi protein pengikat androgen (SBP = *steroid binding protein*) atau SHBG (*sex hormone binding globulin*).

- (2). Menentukan besarnya kapasitas/kemampuan ikatan SHBG terhadap androgen (testosteron dan dihidrotestosteron), pada kedua kelompok monyet yang diberi pakan dengan kadar protein dan lemak berbeda.
- (3). Melanjutkan uji fungsi sperma lainnya, dengan menggunakan spermatozoa yang berasal dari monyet oligozoospermia. Misalnya, uji penetrasi getah serviks, uji reaksi akrosom, dan yang utama adalah mengawinkannya dengan monyet betina fertil.
- (4). Mengetahui pengaruhnya terhadap perkembangan sel-sel germinal selama siklus epitel seminiferus testis dan frekuensi tiap stadia spermatogenesis .
2. Sebelum TE dan DMPA dikembangkan lebih lanjut sebagai kontrasepsi pria yang efektif, perlu dilakukan penelitian pada kelompok masyarakat Indonesia atau umumnya Asia yang mengkonsumsi protein dan lemak sama dengan konsumsi orang Kaukasia (*western diet*).

SUMMARY, CONCLUSIONS, AND SUGGESTIONS

A. SUMMARY

1. Introduction

There are differences between Indonesian, Chinese, and Caucasian men in the efficacy of injectable testosterone enanthate (TE) alone or in combination with depot medroxy progesterone acetate (DMPA) to achieve azoospermia. Injections of these hormones in Indonesian men achieved 95-100% azoospermia, in Chinese men over 90%, whereas in Caucasian men less than 70%. The differences in these azoospermic effects may be due to genetic and environmental, including nutritional factors. It has been found that the Asian and Caucasian diet is a factor causing differences between the two ethnic groups.

The Asian diet is high in carbohydrate and low in fat and protein. The Caucasian diet is low in carbohydrate and high in fat and protein. Nevertheless, the role of nutrient on men's reproductive function at the moment is still poorly understood. The aim of this study is to elucidate the effects of different diets on achieving azoospermic levels in male cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) injected with the combination of TE and DMPA.

2. Material and Methods

A total of 30 male cynomolgus monkeys, 6-9 years old and 4.40-5.20 kg of body weight were used in this investigation. The thirty male cynomolgus monkeys were

divided into three groups of 10 animals each. **Group 1** was fed with monkey-chow as control group: fat 9%, protein 13% and carbohydrate 78% calorie value. **Group 2** was fed with Asian diet: fat 15%, protein 15% and carbohydrate 70% calorie value. **Group 3** was fed with Caucasian diet: fat 35%, protein 25%, and carbohydrate 40% calorie value. The investigation was divided into three periods: adaptation period for 3 month from -12 week to zero week; treatment period for 6 months from zero week to 24th week; recovery period for 3.5 month from week 24 to week 39. Three months after the adaptation period, each group was injected intra muscularly with 20 mg TE each week starting at week zero up to the sixth week. The treatment was continued every 3 weeks after the sixth week up to the twenty-fourth week. DMPA 25 mg was injected intramuscularly at week zero, and continued every 6 weeks up to the week 18.

The semen collection using electro-ejaculation technique was carried out twice during adaptation period (-12 and 0 week) and every 3 weeks in both, treatment and recovery period. Before the electroejaculation was performed all monkeys were anesthetized with ketamin-HCl. The semen was collected in gradual centrifuge tubes and the approximate volume was recorded. **Sperm count and quality of sperm** were determined according to WHO methods. Blood samples for examination of free testosterone, total testosterone, estradiol, FSH and LH levels using RIA techniques were taken from the femoral vein and performed at 6 week intervals. In this study the statistical analysis of SPSS release-6 program by two-way ANOVA and least significant difference (LSD) of 5% degree was used.

3. Results

Sperm concentration as well as sperm quality of all animals before and during the adaptation period were normal, using the WHO standard for human. Sperm concentration in both group 1 and group 2 declined sharply 3 weeks after the first injection, all animals became azoospermic (100%) at 18 week, azoospermia persisting up to week 30 or 6 weeks after discontinuation of TE and DMPA injection. In groups 1 and 2, the sperm reappeared at a very late stage of recovery period (week 33), and the mean concentration of spermatozoa reached the levels of severe oligozoospermia only when this investigation terminated after 39 weeks, and two animals of groups 1 and one animal of group 2 remained azoospermic. By contrast, in group 3 only 70% of the animals reached the azoospermic level in 24 weeks and the lower mean sperm concentration was 1.42 million/mL at week 30, after this condition the concentration increased to normozoospermia at the end of this study at 39 weeks.

In general, it was found that the sperm quality parameters (i.e.: viability, motility, morphology, and integrity of sperm membranes) in groups 1 and 2 were lower than in group 3, reaching the lowest levels at 18 through 30 weeks. The sperm quality declined more rapidly in groups 1 and 2 than in group 3. The sperm quality in the groups 1 and 2 improved very slowly, while in group 3 the improvement of sperm quality occurred faster.

The hormone of FSH and LH levels were decreased significantly in all groups from week 6 through week 24. The FSH and LH levels were increased more rapidly in groups 1 and 2 by compared to group 3. The mean of total testosterone serum levels

showed no significant difference between groups, showing an increment at 6 weeks, then decrease again at week 12 up to week 36. The mean of free testosterone serum levels was significantly different between the groups, being higher in groups 1 and 2 compared to group 3. Thus, at 6 weeks the free testosterone levels in groups 1 and 2 were 83.587 ± 17.17 pg/mL and 43.222 ± 19.1 pg/mL while free testosterone levels in group 3 was 30.296 ± 11.8 pg/mL. This difference continued until weeks 24.

B. CONCLUSIONS

Results obtained in the present research show that ...

1. The diets different in protein, fat and carbohydrate in cynomolgus monkeys injected with the combination of TE and DMPA induced different oligozoospermia and azoospermia.
2. The frequency of azoospermic levels in the group fed with high protein and fat was 70% azoospermia lower than 100% azoospermia in the group fed with low protein and fat after administration of the TE and DMPA combination. Based on the results, the main hypothesis is accepted.
3. After the administration of the TE and DMPA combination the sperm concentration decreased faster in the group fed with low protein and fat than in the group fed with high protein and fat.

4. After the administration of the TE and DMPA combination the sperm concentration recovered slower in the group fed with low protein and fat than in the group fed high protein and fat.
5. Injection of a combination of the TE and DMPA caused a decrease of spermatozoa quality, e.g. viability, motility, morphology and sperm membrane integrity in all groups.
6. After the administration of the TE and DMPA combination the sperm quality in the groups fed low protein and fat was worse than in the groups fed high protein and fat.
7. In all groups injection of the TE and DMPA combination caused increased free testosterone serum levels.
8. After the administration of the TE and DMPA combination the free testosterone serum levels in the groups fed with low protein and fat were higher than in the groups fed with high protein and fat.
9. In all groups injection of the TE and DMPA combination caused decreased of FSH and LH serum levels.
10. After the administration of the TE and DMPA combination FSH and LH serum levels in the groups fed with low protein and fat were lower than in the groups fed with high protein and fat.
11. After the administration of the TE and DMPA combination the recovery of FSH and LH serum concentrations in the groups fed with low protein and fat was slower than in the group fed with high protein and fat.

C. SUGGESTIONS

1. It is suggested that the following parameters should be investigated in further studies the influence of the different diets on the effect of TE/DMPA injection on;
 - (1). The serum concentration of the steroid binding protein (SBP or SHBG).
 - (2). The SHBG binding capacity for the androgen testosterone or dihydrotestosterone (DHT).
 - (3). The function spermatozoa obtained from oligozoospermic monkeys i.e: cervical mucus penetration test, acrosome reaction test, and matching with fertile female cynomolgus monkeys.
 - (4). To investigate the effects on germinal cell development in the stages of spermatogenesis and the frequency of spermatogenic cycle.
2. Before TE and DMPA can be developed as an effective male contraceptive, it is suggested that an investigation should be conducted studying a male Asian or Indonesian ethnic group consuming western diet.

DAFTAR PUSTAKA

1. Biro Pusat statistik. Statistik Kesejahteraan Rakyat: Fertilitas dan Keluarga Berencana Penerbit BPS, Jakarta 1993: 23-25 dan 188-195.
2. Moeloek N. Penurunan kesuburan pria pada penyuntikan testosteron enantat (TE) + DMPA dan 19 nortestosteron heksiloksifenilpropionat (19NT) + DMPA Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Jakarta 1991.
3. Bremner WJ, De Kretser DM. The prospects for new, reversible male contraceptives. *New Eng J Med* 1976; 11: 1111-17.
4. Wu FCW. Male contraception: Current status and future prospects. *Clin Endocrin* 1988; 29: 443-465.
5. Weinbauer WF, Nieschlag E. The role of testosterone in spermatogenesis. In: Nieschlag E & Behre HM (ed.): *Testosterone: Action Deficiency Substitution*. Springer-Verlag, Berlin 1990: 23-50.
6. Winters SJ, Marshal GR. Editorial. Hormonally-based male contraceptives: Will they ever be a reality?. *J Clin Endocrin Metab* 1991; 73: 464A-464B.
7. Matsumoto AM. Is high dosage testosterone an effective male contraceptive agent. *Fertil Steril* 1988; 50: 324-8.
8. Knuth UA, Yeung CH, Nieschlag E. Combination of 19NTHPP and DMPA for male contraception. *Fertil Steril* 1989; 51: 1011-18.
9. Albin J, Vittek J, Gordon GG, Altman K, Olvo J, Southern AL. On the mechanism of anti-androgenic effect of medroxy progesterone acetate for male contraception. *Endocrinology* 1973; 93: 417-22.
10. Morse HC, Horike N, Rowley MJ, Heller CG. Testosterone concentration in the testes of normal men: Effects of testosterone propionate administration. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37: 882-886.
11. Cunningham GR, Huckins C. Persistence of complete spermatogenesis in the presence of low intratesticular concentration of testosterone. *Endocrinology* 1979; 105:177-86.

12. Moeloek N (WHO). Comparison of two androgen plus DMPA for suppression to azoo spermia in Indonesian men. *Fertil Steril* 1993; 60: 1062-68.
13. Pangkahila W. Reversible azoospermia induced by androgen progestin combination regimen in Indonesian men. *Int J Androl* 1991; 14: 248-56.
14. Wu FCW, Aitken RJ. Suppression of sperm function by DMPA and TE in steroid male contraception. *Fertil Steril* 1989; 51: 691-98.
15. Frick J, Bartsch G, Weiske WH. The effect of monthly DMPA and testosterone on humanan spermatogenesis II. High initial dose. *Contraception* 1977; 15: 669-77.
16. Gui-Yuan Z (W H O). Contraceptive efficacy of testosterone induced azoospermia in normal male. *The Lancet* 1990; 336: 955-59.
17. Melo JF, Coutinho EM. Inhibition of spermatogenesis in men with monthly injections DMPA and TE. *Contraception* 1977; 15: 627-34.
18. Brenner PF, Mishel DR, Brenstein GS, Ortiz A. Study of medroxy progesterone acetate an testosterone enanthate as a male contraceptive. *Contraception* 1977; 15:679-91.
19. Adlercreutz H. Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mechanism and associations. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (201): 3-23.
20. Faji Z, Junsheng G, Hongchang C. Studies on relationship between changes in dietary patterns and health status. *Asia Pasific J Clin Nutr* 1995; 4: 294-97.
21. Muhilal. Transitions in diet and health: implication of modern lifestyles in Indonesia. *Asia Pasific J Clin Nutr* 1995; 4: 132-34.
22. Chen J. Dietary transition in China and its health consequences. *Asia Pasific J Clin Nutr* 1994 94; 3: 111-14.
23. Biro Pusat Statistik (BPS). Konsumsi kalori dan protein penduduk Indonesia. Penerbit BPS 1993: 19-35.
24. Lermite V, Terqui M. Plasma sex steroid binding protein (SBP) in mature heifers: ffects of the productive status, nutritional levels, and porcine growth hormone, and estradiol treatment. *Biol Reprod* 1991; 44: 864-70.

25. Rosner W, Pugeat MM, Chrousos GP, Khan MS. Steroid binding proteins in primate plasma. *Endocrinology* 1986; 118: 513-17.
26. Kottler ML, Tardivel-Lacombe J, Domingo M, Grenier J, Dang CD, Degrelle H. Regulation of plasma sex steroid binding protein (SBP) in adult cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) during different reproductive states. *Biol Reprod* 1988; 39: 97-103.
27. Gauthier-Wright F, Baudot N, Mauvais-Jarvis P. Testosterone binding globulin in stump-tailed monkeys (*Macaca speciosa*). *Endocrinology* 1973; 93: 1277-86.
28. Winters J, Troen P, Plant TM. Relationship between testosterone binding globulin and failure of androgen to suppress serum gonadotropin concentrations in long-term castrated adult male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Steroid Biochem* 1981; 14: 223-27.
29. Rosner W. The functions of corticosteroid-binding globulin (CBG) and sex hormone-binding globulin (SHBG): Recent advances. *Endocrin Rev* 1990; 11: 80-91.
30. Mendel CM. The free hormone hypothesis: A physiologically based mathematical model. *Endocrin Rev* 1989; 10: 232-74.
31. Plymate SR, Matej LA, Jones RE, Friedl KE. Inhibition SHBG production in the human hepatoma (Hep G2) cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrin Metab* 1988; 67: 870-74.
32. Hautanen A, Sarna S, Pelkonen R, Adlercreutz H. Serum sex hormone-binding globulin, cardiovascular risk factors, and adrenal cortisol responses to dexamethasone and corticotropin. *Metabolism* 1993; 42: 870-74.
33. Suhana N. Etika dan penggunaan hewan model untuk penelitian biomedik. Makalah di dibawakan dalam seminar: Satwa primata sebagai hewan model dalam bidang kedokteran dan farmasi. IPB Bogor, 7 Oktober, 1993: 1-11.
34. Liu X, Huang Z, Li Y, et al. The relationship between dietary factors and serum lipid in southern Chinese population samples. *Asia Pacific J Clin Nutr* 1994; 3: 115-18.
35. Steinberger E, Steinberger A. Spermatogenic function of the testes. In: *Handbook of Physiology, section 7, volume V. Male Reproductive system*. Hamilton DW and Greep RO (ed.). American Physiology Society, Washington DC 1975: 1-19.

36. Wagener GV, Simpson ME. Testicular development in the rhesus monkey. *Anat Record* 1954; 118: 231-51.
37. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 1972; 52: 198-136.
38. Clermont Y. Quantitative analysis of spermatogenesis of the rat: A revised model for the renewal of spermatogonia. *Am J Anat* 1962; 111: 111-27.
39. Fouguet JP, Dadoune JP. Renewal of spermatogonia in the cynomolgus monkey *Macaca fascicularis*. *Biol Reprod* 1986; 35: 199-207.
40. Leblon CP, Clermont Y. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by "PAS" technique. *Am J Anat* 1952; 90: 167-215.
41. Oakberg EF. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stage of the cycle of the seminiferous epithelium. *Am J Anat* 1956; 99: 507-16.
42. Clermont Y, Leblond CP. Spermiogenesis of men, monkey, ram and other mammals as shown by the "PAS" technique. *Am J Anat* 1955; 96: 229-53.
43. Clermont Y. Two classes of spermatogonial stem cells in the monkey (*Cercopithecus aethiops*). *Am J Anat* 1969; 126: 57-72.
44. Clermont Y, Leblond CP. Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey (*Macaca rhesus*). *Am J Anat* 1959; 104: 237-74.
45. Franchimont P, Chari S, Demoulin A. Hypothalamus-pituitary-testes interaction. *J Reprod Fertil* 1975; 44: 335-50.
46. Means Ar, Dedman JR, Tash JS, Tindall DJ, Welsh MJ. Regulation of the testes Sertoli cell by FSH. *Annu Rev Physiol* 1980; 42: 59-70.
47. Steinberger E. Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol Rev* 1971; 51: 1-22.
48. Rommerts FFG. Testosterone: An overview of biosynthesis, transport, metabolism and actions. In: Nieschlag E & Behre HM (ed.): *Testosterone: Action Deficiency Substitution*. Springer-Verlag, Berlin 1990: 1-22.

49. Soeradi O. Kegunaan uji fungsional spermatozoa untuk pria infertil dan fertilisasi *in vitro*. Pidato Pengukuhan Guru Besar. FKUI Jakarta 1990.
50. Brooks DE. Metabolic activity in the epididymis and its regulation by androgen. *Physiol Rev* 1981; 61: 515-55.
51. Jindal SK, Panda NJ. Maturation changes of goat spermatozoa during transit through the epididymis. *Andrologia* 1980; 12: 328-31.
52. Wong PYD, Yeung CH. Absorptive and secretory function of perfused rat cauda epididymis. *J Physiol* 1978; 275: 13-26.
53. Brooks DE, Hamilton DW, Mallek AH. Carnitine and glyceril-phosphorylcholine in the reproductive tract of the male rat. *J Reprod Fertil* 1974; 36: 141-60.
54. Riar SS, Setty BS, Kar AB. Studies on the physiological and biochemistry of mammalian epididymis: biochemical composition of epididymis. *Fertil Steril* 1973; 24: 355-63.
55. Lewin LM, Beer R, Lunenfeld B. Epididymis and seminal vesicle as a source of the carnitine in the human seminal fluid. *Fertil Steril* 1976; 27: 9-13.
56. Brooks DE. Carbohydrate metabolism in the rat epididymis: Evidence that glucose is taken up by tissue slice isolated cells by a process of facilitated transport. *Biol Reprod* 1979; 21: 19-26.
57. Jones R, Glover TD. The collection and composition of epididymal plasma from the cauda epididymis of the rabbit. *J Reprod Fertil* 1973; 34: 395-403.
58. Sharpe RM, Frase HM, Cooper I, Rommerts FFG. Sertoli-Leydig cell communication via a LH-RH like factors. *Nature* 1981; 209: 785-88.
59. Butler GE, Sellar RE, Walker RF, *et al.* Oral testosterone undecanoate in the management of delayed puberty in boys: Pharmacokinetics and effects on sexual maturation and growth. *J Clin Endocrin Metab* 1992; 75: 37-44.
60. Abbaticchio G, Nacucchi O, Giagulli VA, Giorgino R. Exploration of testes in infertile men. Relationships among serum levels of FSH, LH, 17-OH-progesterone and testosterone. *Andrologia* 1990; 22: 231-7.
61. Pierce JG, Parsons TF. Glycoprotein hormone: Structure and function. *Annu Rev Biochem* 1981; 50: 465-72.

62. Wierman ME, Rivier JE, Wang C. GnRH dependent regulation of gonadotropine subunit mRNA levels in the rat. *Endocrinology* 1989; 124: 272-8.
63. Hazum E, Conn PM. Molecular mechanism of GnRH action.I. The GnRH receptor. *Endocrin Rev* 1988; 9: 379-86.
64. Lindner J, Rivier JE, Vale WW, Pavlon SN. Regulation of pituitary glycoprotein alfa-subunit scretion after administration of LH-RH antagonist in normal men. *J Clin Endocrin Metab* 1990; 74: 1219-24.
65. Bokser L, Bajusz S, Groot K, Scally AV. Prolonged inhibition of LH and testosterone levels in the male rats with LH-RH antagonist cetrorelix SB-75. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7100-4.
66. Jockenhovel F, Bhasin S, Steiner BS, *et al.* Hormonal effects of single GNRH antagonist doses in men. *J Clin Endocrin Metab* 1988; 66: 1065-70.
67. Tenover JS, Dahl KD, Vale WW, Rivier JE, Bremner WJ. Hormonal responses to a potent GnRH antagonist in vivo: Mecanism of action. *J Clin Endocrin Metab* 1990; 71: 881-8
68. Behre HM, Klein B, Steinmeyer E, McGregor GP, Voigt K, Nieschlag E. Effective suppression of LH and testosterone by single doses of the new GnRH antagonist cetrorelix SB-75 in the normal men. *J Clin Endocrin Metab* 1992; 75: 393-8.
69. Behre HM, Nashan D, Hubert W, Nieschlag E. Depot GnRH agonist blunts the androgen-induced suppression of spermatogenesis in a clinical trial of male contraception. *J Clin Endocrin Metab* 1992; 74: 84-90.
70. Caminos-Tores R, Ma L, Snyder PJ. Testosterone induced inhibition of the LH and FSH responses to GnRH occurs slowly. *J Clin Endocrin Metab* 1977; 44: 1142-53.
71. Weinbauer GF, Marshal GR, Nieschlag E. New injectable testosterone ester maintains serum testosterone of castrated monkeys in the normal range for four months. *Acta Endocrin (Copenh)* 1986; 113; 128-32.
72. Bremner WJ, Bagatell CJ, Steiner RA. GnRH antagonist plus testosterone: A potential male contraception. *J Clin Endocrin Metab* 1990; 73: 465-9.
73. Morse HC, Horike N, Rowley MJ, Heller CG. Testosterone concentration in the testes

of normal men: effects of testosterone propionate administration. *J Clin Endocrin Metab* 1973; 37: 882-86.

74. Matsumoto AM. Is high dosage testosterone an effective male contraceptive agent. *Fertil Steril* 1988; 50: 324-8.
75. Apelo R (W H O). Multinational comparative clinical evaluation of two long-acting injectable contraceptive steroid: Norethisterone enanthate and medroxyprogesterone acetate (MPA). *Contraception* 1977; 15: 513-33.
76. Ortiz A, Hiroi M, Stanczyk FZ, Goebelsman U, Mishel DR. Serum MPA concentration and ovarian function following intramuscular injection of depo MPA. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44: 32-8.
77. Alvarez-Sanchez F, Faundes A, Brache V, Leon P. Attainment and maintenance of azoospermia with combined monthly of DMPA and TE. *Contraception* 1977; 15: 635-48.
78. Schaison G, Young J, Pholsena M, Nhoul K, Couzinet B. Failure of combined FSH-testosterone administration to initiated and/or maintain spermatogenesis in men with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrin Metab* 1993; 1545-9.
79. Mayes PA. Siklus asam sitrat-Katabolisme asetil-KoA. Dalam: *Biokimia*, edisi 17, terjemahan oleh Martin Muliawan. Penerbit Lange EGC, Jakarta 1980: 300-308.
80. Mitchell JA, Nelson L, Hafez ESE. Motility of spermatozoa. In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*. Hafez ESE (Ed.) The C.V. Mosby Co, USA 1976:83-99.
81. Eik-Nes KB. Biosynthesis and secretion of testicular steroid. In: *Handbook of Physiology*, section 7, volume V. *Male Reproductive system*. Hamilton DW and Greep RO (ed.). American Physiology Society, Wasington DC 1975: 95-115.
82. White G, Darin-Bennett A, Poulos A. Lipids of human semen. In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*. Hafez ESE (Ed.) The C.V. Mosby Co, USA 1976:144-51.
83. Pedersen H, Fawcett DW. Functional anatomy of the human spermatozoon. In: *Human Semen and Fertility Regulation in Men*. Hafez ESE (Ed.) The C.V. Mosby Co, USA 1976:65-75.

84. Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W. The control of the interaction of sex hormone-binding globulin with its receptor by steroid hormones. *J Biol Chem* 1990; 265: 6048-54.
85. Joshep DR. Structure, function, and regulation of androgen binding protein/sex hormone binding globulin. *Vitamins and Hormones* 1994; 49: 197-209.
86. Griffin PR, Kumar S, Shabanowitz J, et al. The amino acid sequence of the sexsteroid binding protein of rabbit serum. *J Biol Chem* 1989; 264: 19066-75.
87. Hamalainen E, Adlercreutz H, Puska P, Pietinen P. Diet and serum sex hormone in health men. *J Steroid Biochem* 1984; 20: 459-64.
88. Bhathena SJ, Berlin E, Judd E, et al. Hormones regulating lipid and carbohydrate metabolism in premenopausal women: Modulation by dietary lipids. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 752-7.
89. Belanger A, Locong A, Noel C, et al. Influence of diet on plasma steroid and SHBG levels in adult men. *J Steroid Biochem* 1989; 32: 829-33.
90. Gates GR, Parpia B, Campbell TC, Junshi C. Association of dietary factors and selected plasma variables with SHBG in rural chinese women. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 22-31.
91. O'dea JPK, Wieland RG, Hallberg MC, et al. Effect of dietary weight loss on sex steroid binding, sex steroids, and gonadotropins in obese postmenopausal women. *J Lab Clin Med* 1979; 93: 1004-8.
92. Armellini F, Zamboni M, Castelli S, et al. Interrelationships between intraabdominal fat and total serum testosterone levels in obese women. *Metabolism* 1994; 43: 390-5.
93. Micciolo R, Bosello O, Ferrari P, et al. The association of body fat location with haemodynamic and metabolic status in men and women age 21-60 years. *J Clin Epidemiol* 1991; 44: 591-608.
94. Seidell J, Bjorntorp P, Kvist H, et al. Visceral fat accumulation is positively associated with insulin, glucose and C-peptide levels but negatively with testosterone levels. *Metabolism* 1990; 39: 897-901.
95. Kiel DP, Baron JA, Plymate SR, Schute CG. Sex hormone and lipoprotein in men. *Am J Med* 1989; 87: 35-9.

96. Pugeat M, Crave JC, Elmidani M, *et al.* Pathophysiology of SHBG: Relation to insulin. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1991; 40: 841-9.
97. Friedl KE, Jones RE, Hannan CJ, Plymate SR. The administration of pharmacological doses of testosterone to normal men is not associated with increased insulin secretion or impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrin Metab* 1989; 68: 971-5.
98. Toscano V, Balducci R, Bianchi P, *et al.* Steroidal and non-steroidal factors in plasma SHBG regulation. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1992; 43: 431-7.
99. Bartsch W, Horst HJ, and Derwahl KM. Interrelationships between SHBG and 17- β estradiol, testosterone, e-alfa-DHT, thyroxine, and triiodothyronine in prepubertal and pubertal girls. *J Clin Endocrin Metab* 1980; 50: 1053-6.
100. Evans DJ, Hoffman RG, Kalkhoff RK, Kissebah AH. Relationship of androgenic activity to body fat topography, fat cell morphology and metabolic aberrations in premenopausal women. *J Clin Endocrin Metab* 1983; 57: 304-9.
101. Peiris AN, Mueller RA, Struve MF, Smith GA, Kissebah AH. Relationship of androgenic activity to splanchnic insulin metabolism and peripheral glucose utilization in premenopausal women. *J Clin Endocrin Metab* 1987; 64: 162-9.
102. Brousseau ME, Stucchi AF, Vespa DB, Schaefer EJ, Nicolosi RJ. A diet enriched in monounsaturated fats decreases low density lipoprotein concentrations in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) by a different mechanism than does a diet enriched in polyunsaturated fats. *J Nutr* 1993; 123: 2049-58.
103. Sudjana. *Disain dan Analisis Ekperimen*. Penerbit Tarsito, Bandung 1988: 87-129.
104. Srigandono B. Jumlah ulangan dalam percobaan. Dalam: Rancangan Percobaan. Universitas Diponegoro Press, Semarang 1981: 101-6.
105. Van Hoosier GL. Age determination (in years) by permanent tooth eruption. In: *Laboratory Animal Medicine and Science Series Nonhuman Primates*. American College of Laboratory Animal Medicine and Washington State University College of Veterinary Medicine 1977, Appendix I: 31 page.
106. Long CW. A technique for collection of semen from squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) by electro-ejaculation. *Lab Animal Care* 1967; 17: 218-21.

107. World Health Organization (WHO). Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi semen-getah servik. Diterjemahkan oleh M K Tadjudin. Balai Penerbit FKUI, Jakarta 1988.
108. Jacob TZ. Faktor Immunoendokrinologis dan Seluler Lingkungan mikro zalir Peritoneal yang Berperan pada Infertilitas Idiopatik Wanita. Disertasi. Program Pasca sarjana Universitas Indonesia, Jakarta 1990.
109. Turner CD, Bagnara JT. Endokrinologi Testis. Dalam: Endokrinologi Umum, 6th Ed., Terjemahan oleh Harsojo, Airlangga University Press 1988: 507-563.
110. Leatham JH. Nutritional influences on testicular composition and function in mammals. In: Handbook of Physiology, section 7, volume V. Male Reproductive system. Hamilton DW and Greep RO (ed). American Physiology Society, Wasington DC 1975: 225-232..
111. Lonnerberg P, Soder O, Parvinen M, Ritzen M, Persson H. Beta-nerve growth factor influences the expression of ABP mRNA in the rat testes. Biol Reprod 1992; 47: 381-8.
112. Kangasniemi M, Kaipia A, Toppari J, Perheentupa A, Huhtaniemi I, Parvinen M. Cellular regulation of follicle-stimulating hormone (FSH) binding in rat seminiferous tubules. J Androl 1990; 11: 336-43.
113. Marshall GR, Zorub DS, Plat TM. Follicle-stimulating hormone amplifies the population of differentiated spermatogonia in the hypophysectomized testosterone replaced adult rhesus monkey (*Macaca mulatta*). Endocrinology 1995; 136: 3504-11.
114. Hedman M, Gottlieb C, Svanborg K, Bygdeman M, delaTorre B. Endocrine, seminal and peripheral effects of DMPA and TE in men. Int. J Androl 1988; 11: 265-76.
115. Ericson RJ, Dutt RH. Progesterone 6-alfa-methyl-17-OH-progesterone acetate as inhibitors of spermatogenesis and accessory gland function in the ram. Endocrinology 1965; 77: 203-8.
116. Swerdloff RS, Bhasin S, Tom LKS. GnRH agonists and antagonists in male contraceptive trials. Infert Reprod Med Clin North Am 1993; 4: 115-28.
117. Nakamura M, Jensen B, Privett OS. Effects of hypophysectomy on the fatty acids and lipid classes of rat testes. Endocrinology 1968; 82: 137-42.

118. Mills NC. Androgen effects on Sertoli cells. *Int J Androl* 1990; 13: 123-34.
119. Means AR, Hall PE. Effects of FSH on protein biosynthesis in testes of the immature rats. *Endocrinology* 1967; 81: 1151-60.
120. Rommerts FFG. How much androgen is required for maintenance of spermatogenesis (Commentary). *J Endocrin* 1988; 116: 7-9.
121. Veldhuis JD, Urban RJ, Dufau ML. Evidence that androgen negative feedback regulated regulates hypothalamic GnRH impulse strength and burst-like secretion of biologically active LH in men. *J Clin Endocrin Metab* 1992; 74: 1227-35.
122. Thomas KH, Wilkie TM, Tomashefsky P, Bellve A, Simon MI. Differential gene expression during mouse spermatogenesis. *Biol Reprod* 1989; 41: 729-39.
123. Zysk JR, Pushway AA, Whistler RL, Carlton WW. Temporary sterility produced in male mice by 5-thio-D-glucose. *J Reprod Fertil* 1975; 45: 69-72.
124. Robinson R, Fritz IB. Metabolism of glucose by Sertoli cells in culture. *Biol Reprod* 1981; 24: 1032-41.
125. Nakamura M, Hall PF. Effect of 5-thio-D-glucose on protein synthesis in vitro by various types of cells from rat testes. *J Reprod Fertil* 1977; 49: 395-7.
126. Jutte NHPM, Grootegoet JA, Rommerts FFG, van der Molen HJ. Exogenous lactate is essential for metabolic activities in isolated spermatocyte and spermatid. *J Reprod Fertil* 1981; 62: 399-405.
127. LeGac F, Attramadal H, Borrebaek B, et al. Effects of FSH, isoprotrenol and cAMP on the production of lactate and pyruvate by cultured Sertoli cells. *Arch Androl* 1983; 10: 149-54.
128. Wieben EC. Regulation of synthesis of lactate dehydrogenase-X during spermatogenesis in the mouse. *J Cell Biol* 1981; 88: 492-8.
129. Brook DE. The androgenic control of the composition of the rat epididymis determined by efferent duct ligation or castration. *J Reprod Fertil* 1977; 49:383-5.
130. Hansson V, Trygstad O, French FS, et al. Androgen transport and receptor mechanism in testis and epididymis. *Nature* 1974; 250: 387-91.

131. Shaban SF. Male factor infertility. *Infert Reprod Med Clin North Am* 1995; 6: 229-56.
132. Holland MK, Orgebin-Crist MC. Characterization and hormonal regulation of protein synthesis by the murine epididymis. *Biol Reprod* 1988; 38: 487-96.
133. Hyne RV, Murdoch RN, Boettcher B. The metabolism and motility of human spermatozoa in the presence of steroid hormones and synthetic progestagens. *J Reprod Fertil* 1978; 53: 315-22.
134. Nelson L. Spermatozoan motility. In: *Handbook of Physiology, section 7, volume V Male Reproductive system*. Hamilton DW and Greep RO (ed.). American Physiology Society, Washington DC 1975: 421-36.
135. Nakamura M, Okinaga S, Arai K. Metabolism of pachytene primary spermatocyte from rat testes: Pyruvate maintenance of adenosine triphosphate levels. *Biol Reprod* 1984; 30: 1187-97.
136. Voglmayr JK. Metabolic changes in spermatozoa during epididymal transit. In: *Handbook of Physiology, section 7, volume V. Male Reproductive system*. Hamilton DW and Greep RO (ed.). American Physiology Society, Washington DC 1975: 437-52.
137. Moore HDM, Bedford JM. The differential absorptive activity of epithelial cells of rat epididymis before and after castration. *Anat Record* 1979; 193: 313-28.
138. Ramos AS, Dym M. Fine structure of the monkey epididymis. *Am J Anat* 1977; 149: 501-9.
139. Churthbert AW, Wong PYD. Electrogenic anion secretion in cultured rat epididymal epithelium. *J Physiol* 1986; 378: 335-45.
140. Roselli CE, West NB, Brenner RM. Androgen receptor and 5- α reductase activity in the ductuli efferentes and epididymis of adult rhesus macaques. *Biol Reprod* 1991; 44: 739-45.
141. Cornwall GA, Vreeburg JT, Holland MK, Orgebin-Crist MC. Interaction of labeled epididymal secretory proteins with spermatozoa after injection of ^{35}S -methionine in the mouse. *Biol Reprod* 1990; 43: 121-9.

142. Vreeburg JT, Holland MK, Cornwall GA, Orgebin-Crist MC. Secretion and transport of mouse epididymal protein after injection of ^{35}S -methionine. *Biol Reprod* 1990; 43: 113-20.
143. Bedford JM. Maturation, transport, and fate of spermatozoa in the epididymis. In: *Hand book of Physiology*, section 7, volume V. Male Reproductive system. Hamilton DW and Greep RO (ed.). American Physiology Society, Wasington DC 1975: 303-18.
144. Holland MK, Orgebin-Crist MC. Epididymal protein synthesis and secretion in strains of mice bearing single gen mutations which effect fertility. *Biol Reprod* 1988; 38: 497- 510.
145. Robaire B, Ewing LL, Zirkin BR, Irby DC. Steroid delta-5-alfa-reductase and 3-alfa hydroxysteroid dehydrogenase in the rat epididymis. *Endocrinology* 1977; 101: 1370-90.
146. DeLarminat MA, Monsalve A, Chareeau EH, Calandra RS, Blaquier JA. Hormonal regualtion of 5-alfa-reductase activity in the rat epididymis. *J Endocrinol* 1978; 79:157-65.
147. Turner TT, Roddy MS. Intraluminal androgen binding protein alters ^3H -androgen uptake by rat epididymal tubules *in vitro*. *Biol Reprod* 1990; 43: 414-9.
148. Turner TT, Gleavy JL, Harris JM. Fluid movement in the lumen of the rat epididymis: Effect of vasectomy and subsequent vasovasostomy. *J Androl* 1990; 11: 422-8.
149. Wong PYD, Yeung CH. Hormonal regulation of fluid reabsorption in isolated rat cauda epididymis. *Endocrinology* 1977; 101: 1391-7.
150. Albert M, Rossel C. Changes from puberty to adulthood in the concentration, moti-moti-lity and morphology of mouse epididymal spermatozoa. *Int J Androl* 1983; 6: 446-51.
151. Hetcht NB, Distel RJ, Yelick PC, et al. Localization of a highly divergent mammalian testicular alfa-tubulin that is not detectabel in brain. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 996- 1000.
152. Distel RJ, Kleene KC, Hecht NB. Haploid expression of a mouse testis alfa-tubulin gene. *Science* 1984; 224: 68-70.

153. Lomeo AM, Giambersio AM. "Water-test" a simple method to assess sperm membrane integrity. *Int J Androl* 1991; 14: 278-82.
154. McClure RD, Tom R. Human sperm hypo-osmotic swelling test: Relationship to sperm fertilizing ability. *Int J Fertil* 1991; 36: 360-6.
155. Shaban SF. Male factor infertility. *Infert Reprod Med Clin North Am* 1995; 6:229-56.
156. Gangi GR, Nagler HM. Clinical evaluation of the subfertile man. *Infert Reprod Med Clin North Am* 1992; 3: 299-318.
157. Wallace EM, Aitken RJ, Wu FCW. Residual sperm function in oligospermia induced by testosterone enanthate administered as a potential steroid male contraceptive. *Int J Androl* 1991; 15: 416-24.
158. Rajalakshmi M, Sukanya V, Ramakrishnan PR, Kaur J. Effect of DHT on ultrastructural changes in rhesus monkey spermatozoa. *Andrologia* 1990; 22: 144-51.
159. Roberts KP, Santulli R, Seiden J, Zirkin BR. The effect of testosterone withdrawal and subsequent germ cell depletion on transferrin and sulfated glycoprotein-2 mRNA levels in the adult rat testis. *Biol Reprod* 1992; 47: 92-6.
160. Focarelli R, Giuffrida A, Rosati F. Changes in the sialylglycoconjugate distribution on human sperm surface during in vitro capacitation: Partial purification of a 20 kDa sialylglycoprotein of capacitated spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 1995; 10: 2755-9.
161. Hall JC, Hadley J, Doman T. Correlation between changes in rat sperm membrane lipids, protein, and the membrane physical state during epididymal maturation. *J Androl* 1991; 12: 76-87.
162. Behre HM, Oberpenning F, Nieschlag E. Comparative pharmacokinetics of androgen preparations: Application of computer analysis and simulation. In: Nieschlag E & Behre HM (ed.): *Testosterone: Action Deficiency Substitution*. Springer-Verlag, Berlin 1990: 115-54.
163. Caminos-Tores R, Ma L, Snyder PJ. Testosterone-induced inhibition of the LH and FSH responses to gonadotropin-releasing hormone occurs slowly. *J Clin Endocrin Metab* 1977; 44: 1142-53.

164. Semmens J, Rouse I, Beillin LJ, Masarei JRL. Relationship of plasma HDL-cholesterol to testosterone, estradiol, and SHBG levels in men and women. *Metabolism* 1983; 32: 428-32.
165. Hamalainen E, Adlercreutz H, Ehnholm C, Puska P. Relationships of serum lipoproteins and apoproteins to sex hormone and to the binding capacity of SHBG in health Finnish men. *Metabolism* 1986; 35: 535-41.
166. Bhatena SJ, Berlin E, Judd J, *et al.* Hormones regulating lipid and carbohydrate metabolism in premenopausal women: modulation by dietary lipids. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 752-7.
167. Haffner SM, Karhapa P, Mykkanen L, Laakso M. Insulin resistance, body fat distribution, and sex hormone in men. *Diabetes* 1994; 43: 212-9.
168. Peiris AN, Mueller RA, Struve MF, Smith GA, Kissebah AH. Relationship of androgenic activity to splanchnic insulin metabolism and peripheral glucose utilization in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 162-9.
169. Jeppesen J, Schaaf P, Jones C, Zhou MY, Chen YDI, Reaven GM. Effects of low fat high-carbohydrate diets on risk factors for ischemic heart disease in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1027-33.
170. Friedl KE, Jones RE, Hannan CJ, Plymate SR. The administration of pharmacological doses of testosterone to normal men is not associated with increased insulin secretion or impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68: 971-5.
171. Braash HV, Frederiksen MC, Chatterton RT. Metabolism and pharmacokinetics of progesterone in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Steroid* 1988; 52: 279-94.
172. Jeppsson S, Johansson EDB. Medroxyprogesterone acetate, estradiol, FSH and LH in peripheral blood after intramuscular administration of depo-provera to women. *Contraception* 1976; 14: 461-9.
173. Kirton KT, Cornette JC. Return of ovulatory cyclicity following an intramuscular injection of medroxyprogesterone acetate. *Contraception* 1974; 10: 39-47.
174. Perez-Palacios G, Fernandez-Aparicio MA, Medina M, Zacarias VJ, Ulla-Aquirra A. On the mechanism of action of progestins. *Acta Endocrin* 1981; 97: 320-8.

175. Rajalakshmi M, Ramakrishnan PR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new long-acting androgen ester: Maintenance of physiological androgen levels for 4 months after a single injection. *Contraception* 1989; 40: 399-412.
176. Sokol RZ, Palacios A, Compfield L, Swerdloff RS. Comparison of the kinetics of injectable testosterone in eugonadal and hypogonadal men. *Fertil Steril* 1982; 37: 425-30.
177. Dubey AK, Cameron LJ, Steiner A, Plan TM. Inhibition of gonadotropin secretion in castrated male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) induced by dietary restriction: Analog with pubertal hiatus of gonadotropin release. *Endocrinology* 1986; 118: 518-25.
178. Anderson RA, Wu FCW. Comparison between testosterone enanthate-induced azoospermia and oligozoospermia in a male contraceptive study. II. Pharmacokinetics and pharmacodynamic of once weekly administration of testosterone enanthate. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 896-901.
179. Kipersztok S. The new progestins. *Infer Reprod Med Clin Nort Am* 1995; 6: 61-75.



Lampiran A.1. Cara membuat pakan monyet dengan kadar lemak, protein dan karbohidrat berbeda.

Pakan 1, diberikan pada monyet kelompok 1.

Pakan 2, diberikan pada monyet kelompok 2.

Pakan 3, diberikan pada monyet kelompok 3.

BAHAN DAN KOMPOSISI PAKAN MONYET

A. Bahan

1. Monkey-chow (MC)

2. Kuning Telur (KT)

3. Susu Bubuk Skim (SK)

Komposisi bahan per 100 gram:

Bahan	Energi (k cal)	Protein (gram)	Lemak (gram)	Karbohidrat (gram)
1. MC	358,73	12,40	3,65	69,07
2. KT	638,00	29,62	55,60	4,78
3. SK	358,13	34,07	0,45	54,45

B. Pakan 1

Komposisi pakan (*monkey-chow*) tiap 100 gram:

Energi (kkal)	Protein (gram)	Lemak (gram)	Karbohidrat (gram)
358,730	12,40	3,65	69,07

Komposisi Pakan 1 :

Protein = 13,8265 %

Lemak = 9,1573 %

Karbohidrat = 77,0161 %

Lampiran A.1. Lanjutan

C. Pakan 2

Bahan	Berat (gram)	Energi (kkal)	Protein (gram)	Lemak (gram)	Karbohidrat (gram)
1. MC	160	573,968	19,840	5,840	110,512
2. KT	10	63,800	2,962	5,560	0,478
3. SK	15	53,179	5,110	0,067	8,167
Total	185	691,487	27,912	11,467	119,157
	100/185	373,776	15,087	6,198	64,409

Berat campuran bahan makanan (BM) = 185,000 gram

Berat protein campuran BM = 27,912 gram

Berat lemak campuran BM = 11,467 gram

Berat karbohidrat campuran BM = 119,157 gram

Energi campuran bahan makanan = 691,487 kkal

Kandungan energi dan zat gizi makro per 100 gram Pakan 2 adalah :

Energi = 373,776 gram

Protein = 15,087 gram

Lemak = 6,198 gram

Karbohidrat = 64,409 gram

Komposisi Pakan 2 :

Protein = 16,1454 %

Lemak = 14,9239 %

Karbohidrat = 68,9279 %

D. Pakan 3.

Bahan	Berat (gram)	Energi (kkal)	Protein (gram)	Lemak (gram)	Karbohidrat (gram)
1. MC	45	161,428	5,580	1,645	31,081
2. KT	55	350,900	16,291	30,580	2,629
3. SK	90	322,317	30,663	0,405	49,005
Total	190	834,645	52,534	32,627	82,715
	100/190	439,2868	27,6494	17,1721	43,5342

Berat campuran bahan makanan (BM) = 190,000 gram

Berat protein campuran BM = 52,534 gram

Berat lemak campuran BM = 32,627 gram

Berat karbohidrat campuran BM = 82,715 gram

Energi campuran bahan makanan = 834,645 kkal

Kandungan energi dan zat gizi makro per 100 gram Pakan 3 adalah :

Energi = 439,2868 gram

Protein = 27,6494 gram

Lemak = 17,1721 gram

Karbohidrat = 43,5342 gram

Komposisi Pakan :

Protein = 25,1766 %

Lemak = 35,1817 %

Karbohidrat = 39,6407 %

Lampiran A.1. Lanjutan hasil analisis "proksimat" pakan monyet

LABORATORIUM PUSLIT PENYAKIT TIDAK MENULAR
BADAN LITBANGKES DEPARTEMEN KESEHATAN RI
Jl. Salemba 6, Jakarta Pusat

Hasil analisis tiga jenis pakan monyet tiap 100 gram :

	Analisis ke 1	Analisis ke 2	Analisis ke 3
<u>Pakan 1:</u>			
Protein (g/%)	9,63 (10,77 %)	12,40 (13,63 %)	10,22 (11,40 %)
Lemak (g/%)	3,88 (9,76 %)	3,65 (9,16 %)	3,92 (9,84 %)
Karbohidrat (g/%)	71,08 (79,47 %)	69,07 (77,02 %)	70,63 (78,77 %)
Energi (kkal)	380,62	358,73	358,68
<u>Pakan 2:</u>			
Protein (g/%)	14,81 (15,56 %)	13,98 (14,96 %)	14,43 (15,39 %)
Lemak (g/%)	6,58 (15,56 %)	6,08 (14,64 %)	6,38 (15,31 %)
Karbohidrat (g/%)	65,54 (68,88 %)	65,77 (70,39 %)	64,98 (69,30 %)
Energi (kkal)	415,78	373,72	375,06
<u>Pakan 3:</u>			
Protein (g/%)	26,88 (25,86 %)	26,45 (24,71 %)	27,54 (24,78 %)
Lemak (g/%)	16,02 (34,68 %)	17,21 (36,17 %)	17,05 (34,52 %)
Karbohidrat (g/%)	41,02 (39,46 %)	41,88 (39,12 %)	45,23 (40,70 %)
Energi (kkal)	415,78	428,21	444,53

Jakarta, 29 Oktober 1996
Pj. Kepala Laboratorium Puslit Penyakit
Tidak Menular, Badan Litbangkes
Departemen Kesehatan RI

ttd

Dr. Gertruida Sihombing, MSc.
NIP. 140010010

Lampiran A.2. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap berat badan.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	2,374098	2	1,187049	1,586267	0,223178*
2. Waktu (w)	22,608614	14	1,614901	9,821072	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	11,956868	28	0,427031	2,596999	0,000028***
Galat (k)	20,204856	27	0,748328		
Galat {w&(kx w)}	62,155296	378	0,164432		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Lampiran A.3. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap berat sisa pakan.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
4. Pakan (k)	309,7384	2	154,8692	71,3280	0,0000***
5. Waktu (w)	22,5378	6	3,7563	2,5524	0,2127*
6. Interaksi (k x w)	24,7260	12	2,0605	1,4002	0,4075*
Galat (k)	58,6224	27	2,1712		
Galat {w&(kx w)}	238,3992	162	1,4716		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Lampiran A.4. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap volume testis kanan

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	20,10	2	10,05269	0,27244	0,763587*
2. Waktu (w)	289,76	8	36,22810	14,79224	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	68,00	16	4,25209	1,73616	0,041876**
Galat (k)	996,03	27	36,89873		
Galat {w&(kx w)}	529,20	216	2,44913		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$); **) Berbeda nyata ($P < 0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Lampiran A.5. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap volume semen.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	0,014480	2	0,007240	0,20783	0,813635*
2. Waktu (w)	9,795912	14	0,699708	28,62481	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	0,418824	28	0,014958	0,61192	0,941841*
Galat (k)	0,940626	27	0,034838		
Galat {w&(kx w)}	9,239832	378	0,024444		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Lampiran A.6. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap konsentrasi spermatozoa

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	95358,8	2	47679,4	3,56228	0,042365**
2. Waktu (w)	2135736,4	14	152552,6	50,95336	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	121228,8	28	4329,6	1,44612	0,069319*
Galat (k)	361382,04	27	13384,52		
Galat {w&(kx w)}	1131720,66	378	2993,97		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$); **) Berbeda nyata ($P < 0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Lampiran A.7. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap viabilitas spermatozoa

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	31852,62	2	15926,31	18,76518	0,000008***
2. Waktu (w)	379863,54	14	27133,11	94,59675	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	18702,04	28	66793	2,32869	0,000213***
Galat (k)	22915,44	27	848,7159		
Galat {w&(kx w)}	108421,74	378	286,8292		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. ***) Berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Lampiran A.8. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap motilitas spermatozoa.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	20080,76	2	10040,38	15,2130	0,000038***
2. Waktu (w)	355779,48	14	25412,82	135,3495	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	8912,96	28	318,32	1,6954	0,016494**
Galat (k)	17819,622	27	659,9860		
Galat {w&(kx w)}	70972,1082	378	187,7569		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. **) Berbeda nyata (P<0,05); ***) Berbeda sangat nyata (P<0,01)

Lampiran A.9. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda dari ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap morfologi spermatozoa.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	34586,60	2	17293,30	16,06672	0,000025***
2. Waktu (w)	349732,74	14	24980,91	70,39731	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	17841,04	28	637,18	1,79561	0,008777***
Galat (k)	29061,261	27	1076,343		
Galat {w&(kx w)}	134135,568	378	354,856		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. ***) Berbeda sangat nyata (P<0,01)

Lampiran A.10. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap integritas membran spermatozoa

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	35008,74	2	17504,37	19,6335	0,000005***
2. Waktu (w)	372645,70	14	26617,55	105,7943	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	16275,28	28	581,26	2,3103	0,000244***
Galat (k)	24072,0039	27	891,5557		
Galat {w&(kx w)}	95103,7416	378	251,5972		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. ***) Berbeda sangat nyata (P<0,01)

Lampiran A.11. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar testosteron bebas.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	8698,708	2	4349,354	12,09056	0,000178***
2. Waktu (w)	52500,539	7	7500,077	53,46883	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	16207,058	14	1157,647	8,25299	0,000000***
Galat (k)	9712,7532	27	359,7316		
Galat {w&(kx w)}	26511,0489	189	140,2701		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. ***) Berbeda sangat nyata (P<0,01)

Lampiran A.12. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar testosteron total.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	66,378	2	33,1898	1,08359	0,352644*
2. Waktu (w)	4276,689	7	610,9556	71,45521	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	297,280	14	21,2343	2,48349	0,002970***
Galat (k)	826,998	27	30,62956		
Galat {w&(kx w)}	1615,985	189	8,55019		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Lampiran A.13. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar estradiol.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	15,7356	2	7,8678	0,32299	0,726741*
2. Waktu (w)	6931,1662	7	990,1666	64,51537	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	214,6088	14	15,3292	0,99879	0,456228*
Galat (k)	657,7005	27	24,35928		
Galat {w&(kx w)}	2900,7266	189	15,34776		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P>0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P<0,01$)

Lampiran A.14. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar FSH serum.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	11,81916	2	5,90958	6,82925	0,003980***
2. Waktu (w)	399,68453	7	57,09779	78,16953	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	19,69422	14	1,40673	1,92587	0,025962**
Galat (k)	23,364018	27	0,865334		
Galat {w&(kx w)}	138,052215	189	0,730435		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. **) Berbeda nyata ($P < 0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Lampiran A.15. Tabel uji sidik ragam pengaruh pemberian pakan berkadar protein, lemak dan karbohidrat berbeda ketiga kelompok monyet (*M fascicularis*) yang disuntik kombinasi TE dan DMPA terhadap kadar LH serum.

Sumber variasi	JK	DB	KT	F _(hitung)	Probabilitas (P)
Perlakuan:					
1. Pakan (k)	4,2171	2	2,10856	3,46120	0,045903**
2. Waktu (w)	145,6160	7	20,80229	55,62168	0,000000***
3. Interaksi (k x w)	2,9860	14	0,21329	0,57029	0,885870*
Galat (k)	16,4484	27	0,609200		
Galat {w&(kx w)}	70,6852	189	0,373996		

Keterangan: JK, jumlah kuadrat; DB, derajat bebas; KT, kuadrat tengah; k, kelompok pakan; w, waktu pengamatan. *) Tidak berbeda nyata ($P > 0,05$); **) Berbeda nyata ($P < 0,05$); ***) Berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)



Lampiran B.1. Sisa pakan (gram) setelah diberikan pakan sebanyak 2 X 85 gram tiap hari selama 90 hari masa adaptasi:

Tabel 1. Sisa pakan kelompok 1 yang diberi pakan 1 berkadar 13% Protein, 9% Lemak, dan 78% Karbohidrat

Hari	Nomor Kandang / Nomor Individu									
	3	6	10	14	22	24	25	26	27	30
1	15,2	11,5	15,0	10,5	5,5	10,2	9,0	9,0	8,5	9,0
2	11,0	9,0	5,5	6,0	11,0	10,2	10,5	15,0	11,0	11,2
3	11,0	8,5	9,5	10,0	10,7	14,7	10,2	13,0	16,2	10,4
4	10,0	13,5	16,5	17,0	12,0	11,5	11,0	12,0	8,0	9,0
5	0,0	2,5	8,0	2,5	10,0	4,5	5,0	11,5	11,0	0,0
6	4,0	2,5	12,0	11,5	11,0	12,0	9,0	9,5	3,5	1,0
7	9,0	0,0	6,0	8,5	10,5	9,0	3,5	5,0	0,5	0,0
9	5,0	5,0	5,0	6,5	5,5	4,0	2,0	10,0	9,5	9,5
11	0,0	10,0	11,5	12,0	5,0	5,0	3,5	8,5	5,5	6,5
13	10,0	11,0	11,5	11,5	5,5	4,5	6,5	8,0	8,0	10,5
15	13,0	11,5	15,5	8,0	12,0	10,5	10,5	11,0	11,0	11,0
17	15,0	13,5	14,5	4,5	3,0	10,0	11,0	11,0	11,5	13,5
19	14,5	11,0	11,0	10,5	13,5	12,0	12,0	13,0	5,5	6,0
21	3,8	6,5	12,5	0,0	0,0	12,0	4,5	8,5	8,5	6,5
23	4,5	6,5	10,0	10,0	0,0	4,5	4,5	13,0	8,0	11,0
25	12,5	11,5	11,0	14,0	13,0	11,0	9,0	8,0	8,0	8,5
27	6,5	5,5	11,0	5,5	5,0	6,5	6,5	6,0	5,5	3,5
29	0,0	2,5	0,0	1,5	2,0	8,0	7,5	7,5	4,5	4,0
31	0,0	0,0	0,0	7,5	4,5	6,5	7,5	7,5	10,5	10,5
33	3,5	4,5	9,5	6,5	11,0	8,5	11,0	11,5	8,5	11,0
35	12,0	15,0	0,0	0,0	15,0	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0
37	12,0	12,5	10,0	9,5	3,5	0,0	8,0	8,5	8,5	11,5
39	10,5	10,0	10,0	14,5	11,0	11,5	13,0	13,0	12,5	14,5

Tabel 1. Sisa pakan Kelompok 1 ...

Hari ke-	Nomor Kandang / Nomor Individu									
	3	6	10	14	22	24	25	26	27	30
41	16,0	9,5	13,0	11,0	12,0	5,5	6,0	11,0	11,0	11,5
43	6,0	6,0	13,5	11,0	14,0	5,0	7,0	12,0	4,5	5,0
45	3,0	8,5	10,0	0,0	12,5	11,5	13,0	12,5	0,0	11,0
47	10,5	0,0	4,5	11,0	8,5	6,5	5,0	4,5	5,0	5,5
49	11,0	11,0	14,0	0,0	0,0	4,5	12,0	11,0	2,5	0,0
51	5,0	10,0	8,5	3,5	11,5	12,0	10,0	11,0	13,0	15,0
53	11,0	0,0	11,5	12,0	13,5	12,0	11,0	11,5	6,5	3,5
55	3,5	6,5	7,5	4,0	10,5	10,0	10,0	13,0	6,0	11,0
57	12,5	13,0	15,0	15,0	11,0	13,0	5,5	0,0	0,0	15,0
59	12,0	11,5	11,5	11,5	12,0	6,0	7,5	0,0	4,5	5,0
61	7,0	10,5	8,5	9,5	10,0	6,5	4,5	9,5	11,5	11,0
63	12,0	9,0	9,0	14,5	11,0	11,5	13,0	12,0	9,0	12,5
65	8,5	11,5	11,0	11,0	10,0	7,5	4,5	9,0	9,0	10,0
67	15,0	12,0	15,0	0,0	11,5	0,0	8,0	10,0	12,5	13,0
69	10,0	10,0	15,5	4,5	0,0	0,0	13,0	13,0	5,0	6,5
71	6,0	11,5	10,5	10,5	13,5	13,0	0,0	5,0	5,0	5,0
73	4,5	5,5	3,0	11,0	10,0	10,5	12,0	12,0	14,0	0,0
75	11,0	11,0	13,0	13,0	10,5	10,0	10,0	11,0	11,5	12,5
77	11,5	14,0	10,0	10,0	5,0	6,0	11,5	6,0	6,5	5,0
79	9,0	10,5	9,5	8,0	8,0	6,5	6,5	6,5	6,5	3,0
81	10,0	4,0	6,0	11,0	11,5	10,5	9,0	8,5	12,5	0,0
83	11,0	11,5	15,0	14,0	6,5	5,5	4,5	3,0	10,0	14,5
85	12,0	11,0	11,0	10,5	11,5	10,0	11,5	5,0	6,5	7,5
87	7,0	11,0	10,0	8,5	4,5	10,5	11,0	12,0	12,0	12,5
89	10,5	5,5	12,0	11,0	8,5	6,0	7,5	4,5	10,5	10,0
91	12,5	10,5	9,5	10,5	5,0	10,5	4,5	3,5	5,0	5,0

Tabel 2. Sisa pakan Kelompok 2 yang diberi pakan 2 berkadar 15% Protein, 15% Lemak, dan 70% Karbohidrat

Hari ke-	Nomor Kandang / Nomor Individu									
	1	2	5	7	8	9	11	12	13	15
1	15,2	11,5	18,5	13,4	11,6	12,3	12,4	13,4	12,5	12,5
2	10,3	12,5	14,5	15,6	15,8	10,4	11,2	16,9	12,8	10,7
3	13,4	9,7	9,5	10,6	12,7	11,7	12,8	12,6	15,7	12,9
4	12,6	12,8	11,8	11,5	11,5	10,5	11,8	10,0	12,0	14,6
5	16,5	12,9	18,7	12,9	13,0	12,9	15,9	11,0	12,6	10,0
6	14,3	12,6	10,0	10,5	11,0	9,8	9,9	9,5	13,5	11,5
7	9,8	10,0	7,5	9,5	10,0	9,5	9,5	9,0	10,5	9,4
9	5,6	7,8	9,5	11,6	11,5	11,5	12,0	11,0	9,5	9,5
11	11,5	10,5	9,5	9,5	8,5	7,6	7,5	5,5	9,5	8,5
13	11,0	11,0	10,0	10,5	10,5	10,5	8,5	8,5	8,5	8,0
15	12,5	9,5	10,5	11,4	11,4	11,6	9,5	7,5	8,0	7,5
17	20,0	12,5	9,0	11,0	11,0	17,5	16,0	10,0	10,5	11,0
19	10,5	8,0	7,0	5,5	5,5	9,5	10,5	11,5	9,8	9,0
21	8,0	8,5	8,5	9,0	10,5	11,5	14,6	10,8	10,9	10,5
23	12,0	11,0	9,6	9,5	9,6	9,8	9,5	11,0	12,5	15,0
25	17,5	9,4	10,0	11,8	12,0	10,0	9,8	9,5	8,5	8,0
27	12,8	12,8	12,5	9,5	9,5	8,5	7,5	6,5	9,5	12,0
29	8,6	11,5	10,0	10,5	10,5	10,5	11,6	10,9	12,0	11,5
31	7,5	7,5	8,5	9,0	9,0	9,5	9,5	9,5	9,6	9,6
33	6,5	7,5	12,0	12,0	7,5	7,5	8,0	8,0	8,0	7,5
35	11,5	12,0	14,5	13,5	12,4	15,0	12,0	10,5	10,0	9,8
37	12,8	12,5	12,6	11,0	11,0	9,6	7,5	5,5	11,5	10,0
39	5,5	6,5	9,5	5,5	10,0	11,5	11,5	10,0	10,0	10,0
41	12,0	11,0	10,5	11,5	12,0	12,0	13,0	9,5	8,5	7,5
43	7,5	7,0	11,0	11,0	12,0	12,5	9,5	9,2	9,0	11,0
45	0,0	10,5	9,5	8,0	6,5	8,5	8,5	8,5	8,5	10,5

Tabel 2 Lanjutan ... sisa pakan kelompok 2

Hari ke-	Nomor Kandang / Nomor Individu									
	1	2	5	7	8	9	11	12	13	15
47	11,2	7,5	6,5	6,5	6,8	7,0	7,5	2,5	9,8	11,0
49	12,0	6,5	9,5	9,2	9,5	11,0	12,0	14,5	9,5	9,0
51	5,0	0,0	9,5	10,4	11,2	11,5	9,8	9,2	11,5	14,0
53	9,8	11,0	8,4	8,4	8,5	10,0	11,5	15,0	8,5	8,2
55	14,2	12,5	12,0	13,0	12,0	0,0	3,5	3,5	7,0	7,5
57	10,0	5,5	5,0	5,0	5,0	9,5	11,0	10,0	12,5	15,0
59	9,0	7,0	11,8	13,0	9,5	4,5	6,0	6,0	5,5	6,5
61	14,0	1,0	8,0	6,5	13,0	6,5	8,2	6,5	5,5	6,2
63	9,0	5,5	11,0	10,0	9,0	8,0	8,0	12,8	10,5	11,0
65	0,0	15,0	11,0	10,5	14,0	3,5	8,2	6,5	7,0	7,0
67	5,0	9,0	13,0	6,5	7,0	3,0	8,0	5,0	12,0	13,0
69	12,0	12,0	2,5	9,0	10,2	11,0	10,0	12,5	12,5	8,0
71	13,2	5,0	6,5	7,0	12,6	9,0	9,0	9,0	6,5	0,0
73	5,0	5,0	5,0	9,0	9,5	12,0	11,0	5,0	10,0	10,5
75	12,0	5,0	7,5	11,2	10,5	10,0	4,5	9,5	9,0	10,5
77	12,0	12,5	12,0	4,5	0,0	0,0	9,0	9,5	10,5	10,5
79	12,0	4,5	6,0	8,0	3,5	10,5	11,8	9,0	11,5	2,5
81	4,5	0,0	9,0	13,0	0,0	11,0	8,0	7,8	5,0	5,5
83	6,5	13,5	12,0	11,5	14,5	6,5	8,0	7,5	11,0	13,0
85	14,0	15,0	12,5	13,5	5,5	5,5	9,5	9,5	5,5	3,5
87	4,5	9,2	10,5	3,5	3,5	12,0	10,5	13,5	15,0	11,8
89	10,5	9,0	9,0	9,5	5,0	5,3	4,5	9,0	6,5	10,5
91	11,5	12,0	8,5	13,5	12,5	7,0	9,0	10,0	9,5	11,0

Tabel 3. Sisa pakan Kelompok 3 yang diberi pakan 3 berkadar 25% Protein, 35% Lemak, dan 40% Karbohidrat

Hari ke-	Nomor Kandang / Nomor Individu									
	4	16	17	18	19	20	21	23	28	29
1	17,5	21,0	22,5	20,0	19,5	19,0	25,5	21,5	28,0	22,0
2	14,0	15,5	15,0	25,5	28,0	20,5	24,0	19,5	20,0	17,0
3	18,2	20,5	21,8	20,0	21,0	24,5	19,8	23,0	25,5	24,5
4	23,0	28,0	22,0	26,5	21,5	11,0	18,0	21,0	22,0	10,0
5	24,5	22,5	20,5	20,0	22,0	24,5	18,5	20,0	18,6	16,0
6	15,0	23,5	24,0	20,5	22,0	18,5	21,5	24,5	23,5	20,0
7	19,5	20,0	24,5	19,5	24,0	20,0	24,5	22,0	24,2	29,0
9	17,0	22,5	17,5	22,5	21,0	22,5	24,0	18,0	20,5	15,5
11	11,5	18,0	20,0	13,5	20,5	14,0	18,5	20,5	15,4	16,5
13	20,2	12,4	11,5	14,5	12,6	17,5	17,0	22,2	21,0	16,0
15	14,5	13,5	20,2	13,2	12,5	17,0	15,0	22,0	18,5	16,5
17	12,0	19,0	24,0	22,5	17,5	15,5	15,2	15,5	18,5	19,0
19	20,0	20,5	21,0	21,0	20,5	22,5	19,5	13,5	21,0	20,0
21	14,5	11,5	15,6	22,5	20,0	20,0	21,0	21,5	22,2	20,5
23	21,5	22,0	22,5	20,0	21,0	23,2	23,5	24,5	20,5	20,0
25	19,0	21,0	20,0	20,0	19,5	19,5	19,2	20,0	20,0	19,5
27	15,5	15,5	21,0	15,0	16,2	21,0	20,0	15,5	15,5	18,0
29	20,5	16,5	17,5	16,0	18,0	18,0	18,5	15,0	15,5	17,0
31	24,5	22,0	18,5	10,5	18,5	22,2	23,5	23,0	20,0	20,0
33	22,2	12,5	11,0	12,5	22,0	23,0	20,5	20,5	18,5	9,5
35	15,0	11,5	9,5	22,0	21,0	17,5	18,0	21,0	18,0	10,5
37	15,0	18,0	22,0	21,0	20,0	18,0	18,5	19,0	18,0	12,5
39	12,5	23,0	22,0	21,0	20,0	19,5	19,2	17,5	10,0	10,5
41	24,0	21,5	19,5	18,0	18,5	17,2	17,8	17,8	22,0	20,0
43	20,0	11,5	21,0	12,0	12,5	22,5	20,0	20,0	22,0	21,5

Tabel 3. Lanjutan ... sisa pakan Kelompok 3 ...

Hari ke-	Nomor Kandang / Nomor Individu									
	4	16	17	18	19	20	21	23	28	29
45	21,5	10,0	10,5	15,5	13,0	13,2	17,5	16,5	16,2	16,0
47	12,0	19,0	20,5	13,4	14,5	14,5	21,0	14,5	19,0	20,0
49	19,0	11,0	11,5	16,0	21,0	22,0	17,5	18,0	18,2	10,0
51	8,5	21,0	21,5	12,2	13,0	20,0	20,0	22,0	21,0	21,5
53	21,0	7,5	17,0	9,0	8,5	12,0	14,0	21,0	14,5	16,5
55	16,5	16,5	15,0	15,0	9,5	9,0	10,2	10,0	16,0	16,0
57	9,0	11,5	12,5	12,0	12,5	13,2	13,5	10,0	10,0	10,0
59	10,2	11,5	11,0	9,5	6,5	5,5	13,0	10,5	10,5	11,5
61	10,0	10,0	10,0	21,0	20,0	20,0	20,0	20,5	20,0	21,0
63	12,0	12,0	12,0	17,5	17,5	18,2	16,2	21,0	21,5	17,5
65	15,5	8,5	16,5	18,0	18,0	9,5	10,0	13,0	14,0	14,0
67	13,0	13,5	16,5	20,0	20,5	20,0	15,0	14,5	14,0	13,5
69	13,0	9,0	10,0	19,5	15,0	15,0	7,5	10,0	22,0	24,0
71	21,0	22,0	19,5	19,5	20,5	25,0	14,5	23,0	22,0	21,5
73	10,5	13,5	19,0	20,0	20,0	20,0	21,0	15,0	9,0	9,2
75	12,0	17,0	8,0	8,5	14,5	14,0	21,0	15,5	19,5	17,0
77	14,0	20,0	21,0	19,0	17,0	14,5	13,0	11,5	10,5	11,0
79	22,0	10,0	10,5	21,0	22,0	9,0	15,0	15,5	10,5	11,8
81	12,0	18,0	10,0	21,0	13,5	14,5	15,5	15,0	13,2	20,5
83	7,5	21,0	9,5	11,2	11,8	14,0	9,0	10,0	10,0	12,0
85	14,5	17,0	8,0	17,0	11,0	21,0	22,5	20,5	8,5	9,0
87	20,5	13,5	13,0	13,0	12,0	11,0	11,5	17,0	16,5	13,0
89	21,0	13,5	19,0	20,0	22,0	22,0	21,5	17,5	14,5	13,0
91	15,5	19,0	20,0	20,5	8,5	11,2	21,0	9,0	15,5	15,0

Lampiran B.2. Data lengkap berat badan ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data berat badan monyet (kg) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	5,05	6,20	6,95	6,75	6,15	6,20	5,30	5,25
	4,45	4,80	5,05	5,40	5,60	5,35	4,30	4,50
	5,20	6,00	5,90	6,00	5,80	6,00	5,20	5,20
	5,00	5,40	5,45	5,70	5,65	5,00	4,85	5,10
	4,55	5,25	4,90	5,85	5,80	4,95	4,70	5,00
	5,00	5,15	5,40	5,55	5,40	4,95	4,60	4,75
	4,50	5,75	6,50	5,30	5,20	5,50	4,85	4,85
	4,50	5,85	6,75	5,20	5,60	5,00	4,40	4,50
	4,65	4,85	4,75	4,90	4,85	5,00	4,40	4,30
	4,45	5,25	5,67	6,20	5,95	5,35	4,30	4,85
Rata-rata	4,74	5,45	5,73	5,68	5,60	5,53	5,39	4,92
SD	0,29	0,47	0,77	0,54	0,37	0,46	0,59	0,26
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	5,10	5,10	5,20	4,95	5,00	5,25	5,50	
	5,20	4,95	5,20	5,30	5,00	5,00	4,95	
	5,10	5,10	5,05	5,00	5,00	5,20	5,40	
	5,20	5,00	4,95	5,00	5,00	5,50	6,00	
	5,15	4,90	4,60	4,60	5,00	5,25	5,60	
	4,70	5,00	4,90	4,95	5,20	5,50	6,00	
	4,85	4,90	5,00	5,00	5,50	5,45	5,90	
	4,75	5,00	5,00	5,25	5,60	6,00	6,15	
	4,30	4,65	5,00	4,95	5,25	5,00	5,45	
	4,90	5,00	4,95	5,00	5,80	5,50	5,50	
Rata-rata	5,10	5,01	4,99	5,00	5,24	5,36	5,65	
SD	0,33	0,08	0,17	0,19	0,29	0,29	0,36	

Tabel 2. Data berat badan monyet (kg) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke								
	-12	0	3	6	9	12	15	18	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	5,00	5,55	5,65	5,45	5,15	4,80	4,80	4,70	
	4,50	5,00	5,90	6,20	6,20	6,00	6,00	5,70	
	4,40	4,75	5,05	5,70	5,20	5,20	5,20	5,00	
	5,00	5,20	5,50	5,75	5,70	5,40	5,40	5,30	
	5,00	5,00	4,95	5,80	5,70	5,50	5,50	5,45	
	4,55	5,00	4,90	5,40	5,40	5,30	5,30	5,30	
	4,50	4,85	5,10	5,10	4,90	4,70	4,75	4,50	
	4,55	5,10	5,10	5,70	5,30	5,00	5,00	5,00	
	5,00	5,10	5,10	5,20	5,00	4,90	4,90	4,85	
	4,65	5,95	6,20	6,20	5,90	5,60	5,60	5,50	
	Rata-rata	4,71	5,15	5,35	5,65	5,45	5,74	5,85	5,53
	SD	0,25	0,35	0,44	0,37	0,42	0,65	0,63	0,73
Kelompok 2									
	21	24	27	30	33	36	39		
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	4,80	4,70	5,00	4,95	5,20	5,40	5,55		
	5,70	6,00	6,00	6,50	6,60	6,50	6,40		
	5,20	5,15	4,90	4,70	5,10	5,40	5,60		
	5,50	5,35	5,50	5,35	5,20	5,20	5,60		
	5,50	5,80	5,50	5,40	5,10	5,20	5,35		
	5,20	5,20	5,10	5,00	5,00	4,90	5,25		
	4,70	4,75	4,75	4,60	4,95	5,00	4,75		
	5,15	4,90	5,05	5,00	4,75	5,00	5,00		
	4,90	4,80	4,75	5,00	4,95	5,10	5,00		
	5,30	5,60	5,10	4,90	5,00	5,00	4,95		
	Rata-rata	5,19	5,28	5,16	5,18	5,18	5,27	5,40	
	SD	0,32	0,43	0,39	0,51	0,71	0,46	0,45	

Tabel 3. Data berat badan monyet (kg) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	5,00	5,00	4,85	5,20	5,60	5,55	5,40	5,65
	4,95	5,30	5,20	5,85	5,80	5,60	5,60	5,60
	5,25	5,85	5,95	6,10	6,30	6,40	5,90	6,10
	5,05	5,60	4,95	5,25	5,50	5,50	5,20	5,30
	4,50	4,85	5,05	5,25	5,22	5,00	4,80	4,80
	4,35	5,15	5,95	6,00	5,10	5,90	5,35	5,80
	4,55	5,10	4,80	5,50	5,70	5,30	5,20	5,20
	5,20	5,05	5,50	5,90	5,90	5,45	5,25	5,35
	4,45	4,85	5,20	5,30	5,30	5,00	4,80	4,80
	4,50	4,65	4,95	5,00	5,10	4,90	4,90	5,00
	Rata-rata	4,78	5,14	5,24	5,53	5,55	5,46	5,74
SD	0,34	0,36	0,43	0,39	0,39	0,45	0,62	0,63
Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	5,90	5,85	4,95	5,25	5,80	6,50	7,10	
	5,85	5,80	5,10	5,10	5,90	7,00	6,60	
	6,00	6,10	5,30	4,90	5,00	5,90	5,20	
	5,50	5,60	5,90	6,20	5,50	6,50	6,00	
	4,85	4,80	5,00	4,70	6,80	5,60	5,20	
	5,75	5,80	5,10	4,95	5,00	6,00	6,00	
	5,30	4,90	4,90	5,10	6,50	6,50	6,45	
	5,40	5,30	5,60	5,50	5,50	7,20	7,30	
	4,80	4,85	4,80	4,60	5,60	5,50	5,60	
	5,00	5,00	5,10	4,80	5,45	5,30	5,00	
	Rata-rata	5,54	5,50	5,29	5,50	5,71	6,37	6,25
SD	0,41	0,45	0,31	0,49	0,58	0,45	0,52	

Lampiran B.3. Data lengkap volume testis kanan ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data volume testis kanan (mL) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke-								
	-12	0	6	12	18	24	30	36	39
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	14,58	14,18	13,34	11,49	10,87	9,11	9,08	13,72	14,98
	10,37	10,89	11,08	11,93	9,28	10,57	11,53	10,61	11,52
	10,84	10,92	10,98	11,25	7,35	6,91	6,73	5,34	9,45
	14,45	12,05	13,09	11,61	8,81	10,06	6,25	6,24	8,95
	11,01	12,68	11,77	11,27	7,71	6,79	5,65	6,77	3,03
	8,08	7,59	8,11	8,03	6,98	5,14	5,39	5,39	6,24
	9,05	9,68	9,18	7,98	8,11	7,98	4,01	6,77	7,95
	7,81	7,71	7,75	6,50	6,98	6,73	4,23	8,92	7,39
	12,12	11,98	12,13	11,88	10,12	9,47	4,82	5,06	7,04
	9,52	10,82	9,16	8,21	9,77	7,41	4,21	5,24	8,95
	Rata-rata	10,78	10,85	10,66	10,02	8,60	8,02	6,19	7,41
SD	2,4	2,1	2,0	2,1	1,4	1,7	2,4	2,1	3,1

Tabel 2. Data volume testis kanan (mL) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke-								
	-12	0	6	12	18	24	30	36	39
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	6,38	7,55	5,78	5,98	6,04	6,45	4,62	6,21	6,25
	8,22	8,24	8,58	8,66	8,12	9,56	9,38	7,36	7,25
	5,85	5,22	5,15	4,49	4,36	4,36	2,63	6,86	5,14
	8,44	8,88	8,15	7,99	7,25	7,19	9,14	8,63	7,98
	8,81	8,42	8,88	8,73	8,42	8,44	5,13	8,95	8,20
	15,80	15,90	14,11	14,84	11,78	7,97	9,14	8,63	7,98
	13,71	13,94	13,63	11,74	11,92	13,57	9,38	9,38	9,38
	12,62	12,69	11,78	11,52	9,35	7,72	4,24	8,63	9,80
	6,25	6,95	6,04	5,29	5,97	6,72	4,39	7,98	6,86
	13,19	13,92	13,55	12,52	10,15	10,76	8,21	9,67	11,52
	Rata-rata	9,93	10,17	9,56	9,17	8,34	8,27	6,62	8,23
SD	3,6	3,6	3,4	3,4	2,5	2,6	2,6	1,1	1,8

Tabel 3. Data volume testis kanan (mL) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke-								
	-12	0	6	12	18	24	30	36	39
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	5,97	5,87	5,57	5,52	4,95	4,36	9,08	8,46	8,63
	8,51	9,45	8,97	7,59	7,45	11,99	9,16	9,61	9,35
	9,66	10,05	9,80	10,29	5,58	6,17	4,81	7,54	8,81
	10,22	10,99	10,12	10,92	11,23	11,17	7,55	10,18	9,52
	9,08	9,27	10,15	10,94	8,42	9,56	11,51	13,44	11,21
	6,98	8,02	8,21	6,24	7,05	7,96	5,41	11,85	9,97
	10,96	9,97	10,05	10,06	9,66	10,91	5,07	9,16	10,29
	9,22	9,28	9,08	9,06	8,81	9,97	7,29	8,57	9,14
	11,25	13,25	11,87	10,33	11,27	9,47	7,04	6,27	8,95
	14,58	14,92	14,12	13,71	12,21	13,57	11,85	10,67	11,23
	Rata-rata SD	9,64 2,4	10,10 2,5	9,79 2,2	9,47 2,4	8,66 2,5	9,51 2,27	7,87 2,5	9,57 2,1

Lampiran B.4. Data lengkap volume testis kiri ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data volume testis kiri (mL) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke-								
	-12	0	6	12	18	24	30	36	39
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	13,24	12,05	10,24	8,99	8,12	8,03	6,71	12,62	12,68
	12,29	11,89	12,02	12,23	10,96	9,95	9,92	8,63	9,24
	9,87	9,77	10,54	10,78	8,21	8,44	5,67	9,31	10,22
	12,61	13,90	15,21	14,81	12,68	10,37	5,86	6,73	7,98
	11,23	10,87	10,32	11,45	8,42	7,03	4,45	8,15	4,24
	9,28	9,45	9,11	7,95	6,90	6,73	4,26	4,57	6,17
	9,75	10,27	9,12	8,12	8,58	9,03	4,83	4,13	6,86
	8,12	8,45	7,23	6,85	4,97	4,37	4,59	4,16	6,06
	11,21	10,49	11,78	12,08	10,05	9,73	3,59	6,37	6,63
	10,20	10,55	10,54	10,29	9,52	6,91	5,72	6,26	9,61
	Rata-rata SD	10,78 1,6	10,77 1,5	10,61 2,1	10,36 2,4	8,84 2,1	8,06 1,8	5,56 1,7	7,09 2,6

Tabel 2. Data volume testis kiri (mL) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke-								
	-12	0	6	12	18	24	30	36	39
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	7,02	6,90	6,25	7,45	6,15	5,98	4,12	5,63	7,05
	7,98	8,05	8,11	7,01	6,95	6,43	4,89	6,06	6,66
	6,20	4,97	5,81	4,22	4,51	4,37	3,03	5,13	5,63
	8,12	9,12	8,24	8,20	5,95	4,65	4,21	4,73	5,67
	14,98	15,25	14,77	14,53	10,22	10,12	5,72	6,63	6,27
	8,32	7,87	7,65	8,53	7,65	7,03	5,14	9,35	7,36
	13,57	13,55	14,28	14,81	12,55	13,88	9,14	8,21	8,51
	11,81	12,31	12,55	12,05	9,97	8,85	9,23	9,23	7,29
	6,77	6,66	7,05	5,58	5,87	6,98	3,82	8,97	6,92
	12,21	13,85	12,05	11,91	10,47	10,28	6,28	7,39	5,41
Rata-rata	9,69	9,85	9,67	9,42	8,03	7,86	5,56	7,13	6,67
SD	3,1	3,6	3,4	3,6	2,6	2,9	2,1	1,7	0,9

Tabel 3. Data volume testis kiri (mL) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke-								
	-12	0	6	12	18	24	30	36	39
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	6,20	5,62	6,11	5,34	5,03	4,37	5,71	9,35	6,73
	8,25	8,05	8,05	9,05	8,51	10,86	11,47	10,83	9,92
	10,02	9,84	9,24	9,87	5,29	6,76	5,67	9,44	7,98
	9,35	12,05	12,41	11,23	8,05	9,73	8,11	8,45	8,63
	9,52	11,27	10,54	10,29	8,88	9,95	10,56	11,86	10,32
	7,35	7,45	6,77	6,92	7,01	6,43	4,26	8,68	7,36
	11,23	10,47	10,26	9,87	9,80	8,85	4,12	11,01	7,39
	9,32	9,28	7,99	8,91	7,99	7,59	8,23	8,15	9,35
	12,44	14,92	12,72	14,11	11,52	13,15	8,56	8,09	8,12
	13,24	12,68	13,43	14,65	12,52	10,12	9,32	7,36	11,85
Rata-rata	9,69	10,16	9,75	10,02	8,46	8,78	7,60	9,32	8,77
SD	2,2	2,7	2,5	2,8	2,4	2,5	2,5	1,7	1,6

Lampiran B.5. Data lengkap volume semen ketiga kelompok monyet

Tabel 1. Data volume semen (mL) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,18	0,25	0,30	0,32	0,72	0,55	0,66	0,82
	0,28	0,30	0,40	0,48	0,48	0,75	0,72	0,52
	0,20	0,34	0,18	0,46	0,52	0,68	0,58	0,52
	0,30	0,34	0,40	0,42	0,40	0,48	0,80	0,46
	0,48	0,45	0,45	0,50	0,50	0,80	0,58	0,40
	0,35	0,33	0,38	0,38	0,48	0,40	0,46	0,48
	0,28	0,30	0,25	0,50	0,60	1,10	0,52	0,52
	0,34	0,35	0,30	0,52	0,48	1,20	0,48	1,20
	0,38	0,35	0,45	0,50	0,48	0,96	0,90	0,38
	0,45	0,20	0,48	0,40	0,48	0,66	0,94	0,58
Rata-rata	0,324	0,321	0,359	0,448	0,514	0,758	0,664	0,588
SD	0,09	0,07	0,09	0,06	0,08	0,26	0,17	0,24
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,40	0,50	0,93	0,67	0,70	0,70	0,90	
	0,71	0,92	0,60	0,70	0,54	0,52	0,48	
	0,42	0,90	0,62	0,57	0,68	0,70	0,54	
	0,66	0,75	0,55	0,79	0,60	0,90	0,80	
	0,77	0,48	0,71	0,49	0,80	0,80	0,60	
	0,66	0,94	0,68	0,50	0,66	0,64	0,58	
	0,54	0,52	0,61	0,80	0,60	0,58	0,60	
	1,30	0,50	0,48	0,63	0,66	0,80	0,48	
	0,74	0,92	0,77	0,55	0,72	0,70	0,55	
	0,63	0,60	0,81	0,68	0,50	0,68	0,64	
Rata-rata	0,683	0,703	0,676	0,638	0,646	0,702	0,617	
SD	0,25	0,20	0,13	0,11	0,09	0,11	0,13	

Tabel 2. Data volume semen (mL) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke								
	-12	0	3	6	9	12	15	18	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	,35	,40	,35	,49	,58	,95	,58	,96	
	,25	,30	,35	,40	,38	,60	,60	,98	
	,28	,28	,40	,42	,52	,38	,74	,42	
	,30	,25	,34	,52	,60	,50	,92	,40	
	,19	,20	,25	,50	,58	,86	,88	,42	
	,25	,30	,40	,48	,58	1,20	1,20	,82	
	,17	,30	,25	,18	,68	,88	,70	,42	
	,25	,20	,19	,52	,60	,66	1,20	,98	
	,35	,15	,40	,35	,48	,84	,54	,60	
	,34	,41	,45	,30	,80	,58	,54	,82	
	Rata-rata	0,273	0,279	0,338	0,416	0,580	0,745	0,790	0,682
	SD	0,06	0,08	0,08	0,11	0,11	0,24	0,25	0,25
	Kelompok 2	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	,98	,42	,92	,92	,50	,48	,56		
	,98	,55	,70	,68	,72	,70	,70		
	,62	,38	,52	,53	,90	,80	,72		
	,50	,66	,55	,58	,48	,62	,56		
	,92	,75	,52	,71	,68	,55	,60		
	,45	,72	,52	,66	,60	,70	,62		
	,45	,70	,88	,64	,50	,80	,66		
	,58	,48	,92	,71	,60	,55	,70		
	1,00	,90	,45	,80	,60	,64	,68		
	,75	,70	,58	,46	,72	,65	,70		
	Rata-rata	0,723	0,626	0,656	0,669	0,630	0,649	0,650	
	SD	0,23	0,16	0,18	0,13	0,12	0,10	0,06	

Tabel 3. Data volume semen (mL) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke								
	-12	0	3	6	9	12	15	18	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	,35	,30	,35	,40	,80	,86	1,20	1,20	
	,28	,40	,36	,50	,48	,66	,90	,64	
	,18	,30	,28	,48	,54	,78	,78	,62	
	,20	,25	,30	,50	,60	,48	,88	,70	
	,30	,25	,35	,38	,52	,55	,48	,42	
	,18	,28	,40	,45	,50	,56	,82	,48	
	,40	,30	,35	,38	,48	,78	,40	,42	
	,27	,36	,40	,38	,58	,48	,36	,40	
	,28	,40	,35	,30	,38	,76	,48	,96	
	,25	,20	,48	,46	,50	,48	,42	,55	
	Rata-rata	0,269	0,304	0,362	0,423	0,538	0,639	0,672	0,639
	SD	0,07	0,07	0,06	0,06	0,11	0,15	0,28	0,26
	Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	1,10	,62	,98	,71	,66	,38	,66		
	,65	,70	,78	,60	,70	,70	,70		
	,79	,44	,52	,78	,48	,50	,68		
	,65	,78	,90	,92	,77	,90	,54		
	,51	,92	,82	,62	,60	,90	,50		
	,50	,70	,52	,68	,66	,80	,68		
	,62	,50	,50	,70	,44	,48	,54		
	,48	,64	,98	,54	,70	,70	,70		
	,75	,48	,72	,90	,58	,50	,72		
	,44	,58	,72	,49	,90	,70	,56		
	Rata-rata	0,649	0,636	0,744	0,694	0,649	0,656	0,628	
	SD	0,20	0,15	0,18	0,14	0,13	0,18	0,08	

Lampiran B.6. Data lengkap konsentrasi spermatozoa ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data konsentrasi spermatozoa (juta/mL) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	172,50	147,50	71,50	14,90	6,50	0,00	0,00	0,00
	43,50	57,00	32,50	4,70	0,60	0,70	0,00	0,00
	235,00	217,50	73,75	8,90	2,10	0,00	0,00	0,00
	440,00	472,50	180,00	45,50	0,70	1,20	0,90	0,00
	287,00	302,50	22,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	50,50	87,00	17,50	6,20	0,40	0,00	0,00	0,00
	131,00	165,00	43,75	1,20	0,00	0,00	0,00	0,00
	48,50	54,00	7,50	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
	447,50	455,00	163,75	26,60	0,40	6,80	1,90	0,00
	182,50	185,00	33,00	3,20	4,80	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	203,80	214,3	41,57	6,14	1,15	0,87	0,28	0,00
SD	150,23	151,58	28,88	5,58	1,55	2,12	0,64	0,00
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,90	3,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	1,50	22,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,90	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	3,10	12,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	7,50	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,82	3,94	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	1,25	5,02	

Tabel 2. Data konsentrasi spermatozoa (juta/mL) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	46,00	92,50	38,50	0,70	0,20	0,00	0,00	0,00
	66,50	43,50	44,25	2,50	2,00	3,00	2,30	0,00
	122,50	175,00	61,50	36,00	3,50	5,95	7,00	0,00
	484,50	452,50	141,25	17,00	9,80	0,40	0,70	0,00
	44,50	55,00	27,00	7,40	0,30	0,50	5,10	0,00
	446,00	412,50	201,50	90,00	24,00	0,00	0,00	0,00
	207,50	215,00	83,50	4,40	3,50	0,70	0,80	0,00
	163,00	167,50	151,25	60,00	0,30	0,00	0,00	0,00
	207,00	237,50	69,00	26,40	31,00	0,00	0,00	0,00
	303,00	282,50	67,00	12,80	0,40	4,90	1,30	0,00
Rata-rata	209,05	213,35	58,10	4,95	2,50	1,55	1,42	0,00
SD	157,92	139,17	39,74	4,02	2,97	2,24	2,50	0,00
Kelompok 2	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	3,50	71,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,80	71,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	1,10	0,70	24,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	57,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	21,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	1,20	11,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,70	105,50	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	1,22	10,32	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63	1,62	8,95	

Tabel 3. Data konsentrasi spermatozoa (juta/mL) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	102,50	117,50	106,25	83,00	33,00	0,70	1,20	0,00
	421,00	452,50	168,75	116,50	69,00	39,25	28,50	91,00
	332,50	267,50	240,00	47,00	55,00	41,50	19,20	2,60
	307,00	297,50	73,75	27,40	13,30	22,20	25,00	23,20
	47,00	78,00	72,50	70,00	59,00	32,75	5,20	9,80
	473,00	447,50	193,75	221,25	119,50	115,80	12,90	52,00
	52,50	71,00	68,00	24,80	17,00	5,60	1,50	0,00
	197,50	207,50	160,00	43,00	9,80	12,10	17,20	1,20
	52,50	56,50	34,75	7,60	3,40	0,00	0,00	0,00
	110,50	117,00	108,00	68,50	12,10	0,00	0,30	1,00
	Rata-rata	209,60	211,25	152,57	97,90	82,12	58,22	33,05
SD	161,89	150,43	90,16	59,62	66,85	50,44	35,87	29,89
Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,70	4,00	34,50	
	29,00	7,20	13,70	5,20	11,50	13,00	105,0	
	2,40	0,00	0,00	0,00	0,80	7,20	152,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	
	6,80	2,70	1,40	7,90	5,50	11,90	22,50	
	17,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	11,50	16,50	
	1,90	4,20	1,40	1,10	2,50	42,30	105,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,70	26,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20	15,00	
	Rata-rata	10,47	2,41	3,65	1,42	10,10	9,28	48,26
SD	14,11	5,40	7,56	2,80	22,50	12,66	52,61	

Lampiran B.7. Data lengkap persentase spermatozoa hidup ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data jumlah spermatozoa hidup (%) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	82,25	82,89	75,77	67,50	81,92	0,00	0,00	0,00
	79,70	79,89	72,72	78,57	60,00	77,35	0,00	0,00
	79,99	84,00	69,21	66,09	71,42	0,00	0,00	0,00
	85,21	80,55	79,80	63,26	58,51	63,12	62,50	0,00
	88,05	88,81	68,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	83,51	84,79	77,14	60,54	44,45	0,00	0,00	0,00
	80,45	90,21	75,53	70,21	0,00	0,00	0,00	0,00
	75,82	80,93	75,00	62,17	0,00	0,00	0,00	0,00
	81,26	87,97	71,84	78,57	48,22	54,83	54,83	0,00
	86,64	87,68	79,31	70,21	55,75	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	82,29	84,77	74,44	61,71	42,03	34,47	31,79	0,00
SD	3,66	3,73	3,96	22,55	30,88	30,72	30,38	0,00
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	55,32	61,90	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	51,68	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	51,68	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	42,25	45,45	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	56,66	
	0,00	0,00	0,00	0,00	30,35	68,42	66,66	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	62,50	69,12	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	7,26	37,25	45,97	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	15,56	27,05	25,46	

Tabel 2. Data jumlah spermatozoa hidup (%) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	78,95	80,88	73,91	73,91	68,75	0,00	0,00	0,00
	85,60	85,25	78,00	78,00	66,66	60,37	70,29	0,00
	82,31	81,28	75,00	75,00	77,35	69,29	77,45	0,00
	80,00	76,86	68,42	68,42	72,64	47,06	45,45	0,00
	79,04	80,65	65,54	65,54	73,62	41,66	47,19	0,00
	82,54	82,89	80,76	80,76	71,53	0,00	0,00	0,00
	84,84	83,78	84,04	84,04	66,01	61,81	48,15	0,00
	87,85	88,28	70,55	70,55	42,85	0,00	0,00	0,00
	89,95	83,99	74,32	74,32	73,91	0,00	0,00	0,00
	85,99	90,12	78,86	78,86	58,33	64,48	29,41	0,00
Rata-rata	83,71	83,39	74,94	66,78	67,16	19,53	11,73	0,00
SD	3,76	3,86	5,71	7,69	10,07	31,90	24,80	0,00
Kelompok 2	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	42,50	67,41	70,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	62,37	60,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	40,45	48,51	62,37	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,45	70,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40,60	50,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	33,50	46,60	70,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	61,54	70,00	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	11,64	23,17	53,54	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	18,88	30,45	22,09	

Tabel 3. Data jumlah spermatozoa hidup (%) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	80,29	81,78	82,66	73,58	76,19	60,22	59,79	0,00
	75,88	85,12	74,86	75,00	79,00	71,92	76,61	79,79
	90,11	90,68	70,38	75,72	75,96	78,22	77,98	59,80
	82,97	79,80	78,57	69,56	62,74	78,84	76,92	54,22
	89,85	89,98	73,40	88,34	76,23	83,76	60,00	51,72
	88,11	83,59	76,00	78,64	76,47	68,32	76,19	58,58
	84,78	82,88	82,14	64,55	73,91	65,68	62,50	0,00
	83,06	86,00	69,52	75,49	66,66	47,06	54,83	52,50
	79,41	90,50	79,13	70,10	75,00	0,00	0,00	0,00
	77,73	80,60	77,45	73,40	70,00	0,00	44,44	59,14
Rata-rata	83,22	85,09	76,41	74,44	73,21	55,40	58,93	41,58
SD	4,99	4,10	4,48	6,29	5,12	31,01	23,59	29,74
Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	63,11	60,00	
	40,90	51,25	40,00	57,89	49,50	70,25	74,46	
	39,21	0,00	0,00	0,00	39,55	60,00	66,47	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	
	53,39	40,57	35,20	52,60	50,52	70,25	71,91	
	42,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	55,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	51,25	55,65	59,69	
	40,00	42,55	35,20	50,25	52,25	60,80	71,52	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	61,90	64,05	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	73,68	74,46	
Rata-rata	21,64	13,44	11,04	16,07	27,64	51,56	64,76	
SD	23,13	21,80	17,82	25,95	24,48	27,73	8,49	

Lampiran B.8. Data lengkap persentase spermatozoa motil ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data jumlah spermatozoa motil (%) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	80,00	78,89	71,32	69,12	76,92	0,00	0,00	0,00
	78,99	79,09	65,38	76,59	56,66	42,85	0,00	0,00
	78,64	82,78	62,71	38,20	61,90	0,00	0,00	0,00
	74,57	72,85	72,22	57,14	52,50	58,33	33,33	0,00
	80,63	88,05	66,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	79,41	77,88	74,28	64,51	42,51	0,00	0,00	0,00
	71,42	85,12	77,14	59,60	0,00	0,00	0,00	0,00
	68,05	79,00	66,66	51,68	0,00	0,00	0,00	0,00
	77,66	87,88	77,86	68,42	28,57	37,35	42,11	0,00
	85,71	83,98	72,72	68,75	34,41	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	77,51	81,55	70,69	55,40	35,35	23,89	15,95	0,00
SD	5,00	4,85	5,13	22,28	27,94	21,49	15,48	0,00
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	48,46	55,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	30,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	29,50	40,00	56,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	7,50	40,00	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,85	65,00	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	4,06	17,13	46,95	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	7,01	22,23	20,82	

Tabel 2. Data jumlah spermatozoa motil (%) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	77,11	78,32	70,13	57,14	50,00	0,00	0,00	0,00
	84,16	80,12	63,13	68,00	60,00	46,66	21,73	0,00
	67,44	80,19	72,22	31,94	45,71	42,89	34,28	0,00
	73,23	73,99	68,76	51,76	68,36	23,31	14,28	0,00
	70,76	70,89	64,81	43,24	33,33	40,00	41,17	0,00
	80,98	82,17	77,16	66,66	70,83	0,00	0,00	0,00
	81,77	84,33	70,05	50,00	57,14	42,85	25,00	0,00
	85,46	82,90	69,68	65,00	33,33	0,00	0,00	0,00
	87,17	82,18	69,56	66,66	51,61	0,00	0,00	0,00
	85,00	84,98	66,41	69,53	25,00	43,26	23,07	0,00
Rata-rata	79,31	80,01	69,19	56,99	49,53	13,85	7,54	0,00
SD	6,83	4,51	3,92	12,57	15,35	22,89	16,04	0,00
Kelompok 2	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	7,50	42,85	62,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	52,08	55,64	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	30,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	17,50	42,85	61,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	62,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	15,50	42,55	
	0,00	0,00	0,00	0,00	15,65	45,45	56,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	36,17	66,50	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	4,06	17,13	46,95	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	7,01	22,23	20,82	

Tabel 3. Data jumlah spermatozoa motil (%) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	78,61	76,34	80,00	61,44	63,63	28,57	27,85	0,00
	70,43	81,43	72,49	71,29	72,46	71,52	73,68	64,28
	87,20	85,56	68,75	74,46	75,96	75,30	53,13	61,53
	79,23	78,58	71,18	69,34	59,69	52,72	42,00	25,00
	87,09	89,00	64,13	76,87	71,91	64,05	25,00	28,57
	87,68	83,98	69,03	60,45	60,66	58,62	61,24	50,00
	79,50	79,89	77,94	67,74	66,47	53,57	33,33	0,00
	82,53	81,67	64,06	66,27	61,22	23,81	9,72	33,33
	78,31	84,67	77,15	68,42	33,33	0,00	0,00	0,00
	74,84	77,84	78,82	70,07	46,66	0,00	33,33	40,00
Rata-rata	80,54	81,89	72,35	68,63	61,20	42,82	35,93	30,27
SD	5,66	3,92	5,93	5,13	12,84	27,94	22,54	24,51
Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	15,50	55,00	58,00	
	37,93	44,44	35,50	35,50	60,55	61,54	72,00	
	37,50	0,00	0,00	0,00	15,50	52,77	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	30,00	
	27,50	28,81	20,50	20,50	35,23	68,42	61,54	
	41,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,50	
	0,00	0,00	0,00	0,00	15,50	15,00	45,00	
	25,00	29,05	20,50	20,50	35,50	53,00	68,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	52,94	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	66,66	66,66	
Rata-rata	16,91	10,23	7,65	9,68	17,78	42,53	56,37	
SD	18,44	17,00	12,97	15,75	20,35	26,81	13,16	

Lampiran B.9. Data lengkap persentase morfologi spermatozoa ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data jumlah spermatozoa bentuk normal (%) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	84,21	80,34	71,89	71,84	71,26	0,00	0,00	0,00
	69,58	73,78	70,49	72,54	72,11	71,52	0,00	0,00
	77,23	87,45	69,66	70,47	80,15	0,00	0,00	0,00
	68,92	77,71	71,68	69,44	69,71	56,34	61,23	0,00
	82,29	82,89	76,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	76,58	75,26	68,80	73,33	63,14	0,00	0,00	0,00
	74,44	81,00	77,25	78,21	0,00	0,00	0,00	0,00
	79,89	79,24	68,27	71,22	0,00	0,00	0,00	0,00
	71,79	82,08	70,22	76,92	60,66	55,64	56,42	0,00
	81,00	79,99	80,47	62,96	68,57	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	76,59	79,97	72,51	64,69	48,56	38,35	11,76	0,00
SD	5,34	3,89	4,09	23,11	33,90	29,84	24,83	0,00
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	59,00	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	56,42	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	52,71	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	59,00	59,00	50,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,71	
	0,00	0,00	0,00	0,00	65,00	73,39	70,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	68,96	77,00	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	12,40	26,04	47,18	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	26,17	33,87	26,49	

Tabel 2. Data jumlah spermatozoa bentuk normal (%) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	71,32	74,32	73,21	67,34	72,00	0,00	0,00	0,00
	79,43	73,23	69,34	64,81	71,51	63,15	59,43	0,00
	69,50	82,56	77,27	76,40	69,58	70,00	71,24	0,00
	81,22	79,24	71,25	67,30	87,25	71,54	48,21	0,00
	77,21	77,94	66,69	69,38	74,15	60,12	60,00	0,00
	78,89	88,46	80,29	80,80	70,35	0,00	0,00	0,00
	82,36	87,46	78,52	62,26	70,29	62,89	61,98	0,00
	79,98	77,79	71,54	71,15	70,25	0,00	0,00	0,00
	90,22	86,89	87,69	75,96	61,27	0,00	0,00	0,00
	80,11	85,34	76,51	77,08	65,24	71,25	55,78	0,00
Rata-rata	79,02	81,32	75,23	71,25	71,18	39,89	15,66	0,00
SD	5,74	5,57	6,13	6,06	6,71	34,53	31,21	0,00
Kelompok 2	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	62,50	65,14	66,66	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,62	65,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	54,25	
	0,00	0,00	0,00	0,00	60,65	66,66	65,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,52	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	58,00	66,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	60,85	60,66	63,15	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	66,00	65,00	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	18,40	33,76	46,51	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	29,63	30,32	20,21	

Tabel 3. Data jumlah spermatozoa bentuk normal (%) kelompok 3 yang diberi pakan 3sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	80,23	79,05	73,59	79,24	78,56	59,77	62,91	0,00
	76,66	80,26	77,34	78,22	81,25	78,76	65,23	65,82
	82,24	79,09	80,05	80,19	77,58	69,89	70,00	65,00
	76,31	80,78	69,24	73,33	80,63	71,45	67,54	60,00
	77,57	79,54	68,89	76,23	77,45	75,00	52,71	51,73
	89,45	82,39	84,25	74,03	73,52	68,79	69,75	59,99
	67,90	75,78	78,65	78,21	66,24	65,92	49,86	0,00
	74,00	81,52	80,26	78,78	61,54	61,56	70,00	68,21
	77,21	81,55	71,98	73,33	83,33	0,00	0,00	0,00
	81,02	79,63	82,73	70,40	73,36	0,00	27,21	30,62
Rata-rata	78,25	79,95	76,69	76,19	75,35	55,11	53,52	40,14
SD	5,64	1,85	5,47	3,24	6,88	29,59	23,09	29,65
Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	60,50	66,66	65,92	
	60,51	52,27	62,00	68,62	70,24	70,40	70,00	
	55,60	0,00	0,00	0,00	65,80	66,66	65,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	52,71	
	33,00	51,22	60,00	66,12	70,62	70,00	73,33	
	50,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	59,99	
	0,00	0,00	0,00	0,00	58,80	65,00	55,60	
	59,00	45,66	58,70	66,66	71,25	69,80	80,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	70,00	80,63	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	60,00	79,24	
Rata-rata	25,83	14,92	18,07	20,14	39,72	53,85	68,24	
SD	28,22	24,07	29,11	32,43	34,43	28,55	10,15	

Lampiran B.10. Data lengkap spermatozoa membran normal ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data jumlah spermatozoa membran normal (%) kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	86,13	84,76	78,09	62,85	60,73	0,00	0,00	0,00
	85,26	82,88	70,28	66,66	60,00	49,54	0,00	0,00
	79,17	90,90	66,34	59,81	76,19	0,00	0,00	0,00
	69,84	79,08	69,22	63,71	60,05	54,59	28,39	0,00
	89,11	90,26	73,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	89,15	86,65	67,47	69,30	58,63	0,00	0,00	0,00
	76,94	88,22	66,10	77,15	0,00	0,00	0,00	0,00
	77,54	90,01	73,68	54,21	0,00	0,00	0,00	0,00
	86,61	90,02	77,35	81,63	52,19	61,22	44,44	0,00
	78,40	87,40	73,14	79,61	49,29	0,00	0,00	0,00
Rata-rata	81,81	87,02	71,50	61,49	41,71	36,53	17,28	0,00
SD	6,36	3,81	4,31	23,35	29,61	26,76	15,81	0,00
Kelompok 1	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 1: 13% protein, 9% lemak, 78% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	21,78	50,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	43,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	42,11	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	40,17	47,55	51,68	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	35,00	33,05	42,85	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	60,00	
Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	7,52	13,57	37,96	
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	15,89	18,55	20,86	

Tabel 2. Data jumlah spermatozoa membran normal (%) kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	77,91	80,94	60,83	60,19	41,66	0,00	0,00	0,00
	78,24	79,66	80,00	78,64	53,21	56,31	38,29	0,00
	77,24	82,89	69,26	76,84	69,52	65,28	38,18	0,00
	74,44	77,76	71,71	57,14	69,38	47,06	15,38	0,00
	82,17	81,39	67,32	71,71	69,51	64,21	57,45	0,00
	82,90	90,12	72,54	73,95	68,47	0,00	0,00	0,00
	83,17	85,91	72,89	70,29	55,73	60,23	55,55	0,00
	72,00	90,09	78,44	71,42	69,23	0,00	0,00	0,00
	82,12	88,55	76,63	72,72	56,86	0,00	0,00	0,00
	85,80	89,77	67,64	63,46	40,90	62,26	15,78	0,00
	Rata-rata	79,59	84,71	71,73	69,64	59,45	35,54	12,06
SD	4,34	4,74	5,78	7,09	11,54	30,99	23,39	0,00
Kelompok 2	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 2: 15% protein, 15% lemak, 70% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	38,80	34,86	52,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	58,62	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,71	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	45,45	57,27	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	50,62	68,36	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	51,00	51,61	
	0,00	0,00	0,00	0,00	35,60	60,25	60,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,65	70,00	
	Rata-rata	0,00	0,00	0,00	0,00	11,98	34,63	31,77
SD	0,00	0,00	0,00	0,00	19,44	25,53	19,81	

Tabel 3. Data jumlah spermatozoa membran normal (%) kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan MPA.

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	3	6	9	12	15	18
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	88,31	90,27	83,33	75,21	80,95	61,59	70,00	0,00
	81,00	81,76	73,06	76,47	75,25	72,81	71,69	75,82
	81,18	80,27	74,21	76,23	78,64	71,13	64,28	47,11
	84,65	85,09	74,07	60,82	79,55	73,58	33,33	44,44
	85,77	84,09	62,26	82,24	74,56	67,14	36,84	39,13
	77,45	80,47	76,47	65,75	74,74	71,22	44,44	45,00
	90,22	91,69	75,96	72,27	61,70	67,64	47,77	0,00
	80,15	87,15	78,84	77,35	47,82	64,31	75,00	45,31
	75,16	91,66	78,64	74,48	83,33	0,00	0,00	0,00
	84,55	85,75	72,27	85,98	69,23	0,00	14,28	41,17
	Rata-rata	82,84	85,82	74,91	74,68	72,58	54,94	45,76
SD	4,72	4,34	5,53	7,26	10,69	29,20	25,35	25,44
Kelompok 3	21	24	27	30	33	36	39	
Pakan 3: 25% protein, 35% lemak, 40% karbohidrat	0,00	0,00	0,00	0,00	55,60	51,51	61,70	
	53,77	50,62	38,25	58,49	60,55	71,63	72,27	
	48,75	0,00	0,00	0,00	63,70	65,00	62,26	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	44,44	
	42,92	45,79	40,00	61,25	60,65	68,66	72,81	
	32,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	45,75	
	0,00	0,00	0,00	0,00	60,65	65,25	70,00	
	42,50	47,35	30,00	58,27	66,58	70,75	80,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	46,00	60,82	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	71,43	70,00	
	Rata-rata	22,02	14,38	10,83	17,80	36,77	51,02	64,00
SD	23,82	23,17	17,61	28,67	31,76	28,22	11,58	

Lampiran B.11. Data lengkap kadar hormon testosteron bebas ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data kadar testosteron bebas (pg/mL) monyet kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 1:	10,135	12,032	118,342	84,563	14,852	29,023	7,152	8,360
13% protein	11,701	10,712	28,198	14,733	23,711	7,712	2,750	1,735
9% lemak	11,535	13,937	154,774	71,528	25,537	15,608	1,352	12,590
78% karbohidrat	11,117	9,572	96,726	23,022	16,078	12,453	1,909	1,455
	5,127	4,788	78,948	15,344	12,755	9,807	2,449	0,558
	7,717	12,504	32,379	14,988	16,469	9,995	2,606	6,945
	5,496	6,392	155,671	85,879	35,011	12,616	7,802	4,285
	3,363	5,464	59,277	22,457	23,068	8,658	6,620	3,418
	5,224	3,327	39,687	36,401	27,608	9,965	2,259	15,630
	7,840	6,976	71,372	70,011	34,892	11,382	4,119	4,550
Rata-rata	7,925	8,570	83,587	43,892	22,998	12,722	3,902	5,953
SD	3,06	3,66	17,2	30,4	7,99	6,16	2,39	4,97

Tabel 2. Data kadar testosteron bebas (pg/mL) monyet kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 2:								
15% protein	8,213	8,324	72,652	24,561	15,362	8,195	7,221	5,095
15% lemak	11,675	9,845	35,809	14,730	27,115	12,175	1,313	1,780
70% karbohidrat	5,324	6,513	30,812	21,429	14,466	7,553	3,355	9,990
	8,856	5,149	15,827	9,122	18,560	6,178	1,749	1,992
	7,890	3,138	27,848	12,654	16,476	12,577	7,760	14,910
	7,241	5,389	25,477	14,203	10,721	11,582	2,640	10,250
	10,928	11,509	67,784	30,747	26,754	21,486	7,356	15,060
	7,100	7,798	45,541	19,766	15,404	9,978	5,795	3,012
	10,150	9,947	54,651	25,748	26,269	12,380	8,463	15,080
	4,043	13,457	55,822	10,972	10,677	28,071	12,488	9,235
Rata-rata	8,142	8,107	43,222	18,393	18,180	13,017	5,814	8,640
SD	2,39	3,16	19,10	7,15	6,35	6,75	3,53	5,39

Tabel 3. Data kadar testosteron bebas (pg/mL) monyet kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 3:	3,312	4,512	35,794	2,911	4,925	3,003	2,655	2,934
25% protein	7,401	6,697	12,944	4,144	5,898	9,937	3,332	8,634
35% lemak	8,302	5,143	30,671	5,039	4,812	7,686	4,510	5,550
40% karbohidrat	7,672	4,094	31,726	3,855	5,617	8,845	2,706	3,506
	14,367	7,054	38,184	8,613	4,515	5,453	4,836	7,244
	9,727	3,990	26,388	12,517	3,095	9,717	3,396	6,550
	8,303	5,357	54,755	7,860	4,422	7,131	6,714	2,414
	12,259	6,305	25,548	5,717	2,045	8,813	7,149	1,690
	7,708	9,902	23,659	9,866	6,648	6,205	3,869	1,676
	9,772	3,531	23,297	5,738	3,288	4,068	3,753	4,270
Rata-rata	8,882	5,658	30,296	6,626	4,526	7,085	4,292	4,447
SD	2,98	1,91	11,80	3,03	1,40	2,37	1,55	2,44

Lampiran B.12. Data lengkap kadar hormon testosteron total ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data kadar testosteron total (ng/mL) monyet kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 1:	4,251	4,793	17,427	5,877	5,354	1,572	1,152	1,615
13% protein	5,902	4,287	12,059	4,485	4,155	3,882	2,161	1,422
9% lemak	5,892	5,735	10,713	12,059	3,708	5,541	4,813	8,310
78% karbohidrat	4,769	6,310	22,913	5,675	4,300	7,212	2,582	1,795
	12,913	12,520	16,924	11,295	3,752	2,271	3,327	1,515
	5,794	10,432	27,172	9,989	8,618	1,403	1,055	6,524
	8,576	11,317	30,051	6,587	5,950	1,541	2,305	5,940
	11,901	13,527	29,357	6,605	3,505	5,958	3,729	2,233
	7,599	6,946	19,466	5,092	8,809	3,097	3,367	1,810
	5,987	4,334	14,318	7,355	4,854	2,625	3,223	1,052
Rata-rata	7,358	8,020	20,040	7,502	5,301	3,510	2,771	3,222
SD	2,94	3,57	7,04	2,66	1,96	2,07	1,16	2,64

Tabel 2. Data kadar testosteron total (ng/mL) monyet kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 2:	7,798	5,117	20,922	7,178	4,502	6,104	4,177	1,805
15% protein	4,562	5,520	21,273	5,498	7,955	5,801	3,200	2,620
15% lemak	5,283	7,558	16,577	3,009	4,359	3,764	3,215	6,154
70% karbohidrat	4,667	7,802	12,000	4,471	8,453	5,232	5,507	1,090
	11,579	4,314	16,214	4,099	6,257	6,817	4,420	7,944
	5,899	6,204	19,571	7,251	3,701	3,592	6,559	5,540
	4,094	10,716	24,217	11,514	6,200	5,087	4,781	3,329
	8,775	9,957	13,621	8,968	4,154	4,988	4,779	2,945
	11,905	13,447	19,925	10,922	10,302	12,704	7,019	4,610
	14,119	10,282	26,221	12,360	9,805	16,886	3,715	4,543
Rata-rata	7,868	8,092	19,054	7,527	6,569	7,098	4,737	4,058
SD	3,59	2,93	4,48	3,31	2,43	4,29	1,30	2,11

Tabel 3. Data kadar testosteron total (ng/mL) monyet kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 3:	6,508	5,682	21,358	6,385	7,556	15,128	3,044	7,350
25% protein	6,778	4,355	9,579	5,159	5,055	7,128	4,495	5,966
35% lemak	5,521	10,147	16,217	4,975	5,750	7,708	3,775	4,113
40% karbohidrat	4,825	7,955	24,793	6,533	6,553	5,146	6,885	5,112
	11,781	5,143	11,554	5,121	4,850	5,825	7,377	7,260
	6,710	4,756	14,058	6,209	3,867	6,640	3,147	6,406
	13,815	15,416	16,156	11,447	3,830	4,753	7,854	6,283
	7,329	9,277	16,922	8,812	4,210	8,711	8,236	12,512
	13,981	12,702	25,735	10,030	8,755	16,459	8,618	8,710
	4,855	8,301	10,517	5,657	3,608	11,454	4,952	8,684
Rata-rata	8,210	8,373	16,689	7,033	5,403	8,895	5,838	7,239
SD	3,58	3,64	5,69	2,27	1,74	4,12	2,18	2,35

Lampiran B.13. Data lengkap kadar hormon estradiol ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data kadar hormon estradiol (pg/mL) monyet kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 1:	1,140	1,182	27,214	7,845	1,205	3,682	5,074	1,430
13% protein	9,395	0,684	11,179	0,488	0,370	1,093	1,238	2,045
9% lemak	6,701	9,144	11,325	0,715	0,370	4,815	1,290	2,355
78% karbohidrat	4,049	0,685	18,290	1,506	1,037	3,966	3,278	5,600
	3,571	1,340	36,860	2,745	5,125	6,011	1,876	,890
	3,468	6,776	21,990	1,185	0,372	1,093	2,550	9,456
	6,909	6,088	31,054	2,367	7,316	2,216	6,522	6,460
	4,051	4,860	25,150	1,656	3,312	2,403	9,275	5,550
	2,907	3,870	16,405	0,448	1,312	1,093	2,677	1,612
	3,279	1,923	13,905	0,488	1,215	5,044	3,116	2,830
Rata-rata	4,547	3,655	21,337	1,944	2,163	3,142	3,689	3,823
SD	2,41	2,97	8,67	2,22	2,36	1,81	2,56	2,79

Tabel 2. Data kadar hormon estradiol (pg/mL) monyet kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 2:	5,341	3,363	7,655	,278	4,500	1,903	4,868	5,240
15% protein	8,244	3,400	14,805	,586	2,706	3,802	4,896	7,960
15% lemak	2,039	4,635	18,977	6,965	2,115	1,093	3,238	8,945
70% karbohidrat	6,695	3,325	12,986	,019	,377	2,425	9,397	4,085
	8,655	,685	20,784	,066	,370	6,283	7,476	8,920
	2,209	,684	12,945	,019	,374	6,273	6,483	2,164
	1,400	,864	25,705	,812	,533	7,116	3,732	4,650
	9,418	5,736	39,830	,255	,765	6,450	7,356	6,190
	9,688	4,436	11,644	1,240	,812	3,755	3,451	9,794
	9,569	8,016	37,905	,015	,975	4,543	4,834	2,411
Rata-rata	6,325	3,514	20,624	1,026	1,353	4,364	5,573	6,036
SD	3,35	2,37	11,03	2,13	1,36	2,12	2,03	2,77

Tabel 3. Data kadar hormon estradiol (pg/mL) monyet kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 3:	1,678	4,113	24,381	2,480	1,712	4,083	,147	1,703
25% protein	9,583	7,804	17,855	2,045	2,635	1,093	3,297	4,385
35% lemak	6,557	3,684	8,500	1,015	,875	4,642	5,531	2,955
40% karbohidrat	9,801	6,035	6,255	1,015	1,236	3,479	5,998	1,890
	8,645	9,075	17,354	4,366	3,015	4,390	2,382	8,266
	1,051	2,325	21,898	4,290	,390	3,056	3,291	1,113
	1,246	3,895	12,035	2,294	,665	2,366	1,656	3,580
	6,971	10,600	36,533	3,796	1,968	5,980	2,096	6,660
	6,883	4,275	15,025	3,410	6,312	2,253	3,864	5,915
	4,412	3,790	10,406	655	3,318	5,319	1,432	7,517
Rata-rata	5,683	5,559	17,024	2,537	2,213	3,666	2,969	4,398
SD	3,39	2,72	8,95	1,38	1,75	1,51	1,82	2,56

Lampiran B.14. Data lengkap kadar hormon FSH ketiga kelompok monyet

Tabel 1. Data kadar hormon FSH (mIU/mL) monyet kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok I	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 1:	2,798	5,543	0,038	1,105	0,043	0,188	1,067	2,134
13% protein	3,705	2,317	0,077	0,166	0,029	0,738	0,841	1,295
9% lemak	4,697	3,218	1,033	0,478	0,211	0,488	1,241	3,110
78% karbohidrat	3,997	4,173	0,619	0,617	0,471	0,115	0,841	1,505
	2,378	2,134	0,009	0,111	0,044	0,218	2,321	3,055
	4,439	3,365	1,012	0,541	1,024	1,188	2,225	1,440
	3,577	2,349	0,194	0,129	0,171	0,188	0,841	1,410
	6,708	3,159	0,318	0,302	0,671	1,134	0,841	1,307
	3,402	3,190	0,101	1,024	0,032	0,188	1,641	1,846
	6,017	6,602	0,019	0,218	0,048	0,115	0,841	1,846
Rata-rata	4,172	3,605	0,342	0,469	0,274	0,456	1,270	1,895
SD	1,35	1,45	0,40	0,36	0,34	0,42	0,59	0,68

Tabel 2. Data kadar hormon FSH (mIU/mL) monyet kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 2:	3,099	2,673	,269	,571	,655	,188	1,841	3,272
15% protein	3,665	4,190	,462	,766	,071	,179	,841	1,505
15% lemak	3,219	4,249	1,098	1,017	1,080	,188	1,841	3,810
40% karbohidrat	3,709	5,199	,079	,655	,071	,118	2,026	2,125
	6,705	5,216	,355	,289	,036	,228	1,841	1,945
	2,708	2,916	,099	,482	,277	,188	2,023	1,819
	4,754	3,287	1,084	,209	,571	1,188	1,841	,841
	2,365	3,563	,184	,592	,087	,466	3,027	4,220
	4,918	4,869	,569	1,033	,133	,323	2,721	2,915
	2,744	3,295	,042	,927	,040	,288	2,436	4,144
Rata-rata	3,789	3,946	0,424	0,654	0,302	0,335	2,044	2,059
SD	1,33	0,94	0,39	0,29	0,35	0,32	0,59	1,18

Tabel 3. Data kadar hormon FSH (mIU/mL) monyet kelompok 3 yang diberi pakan 3 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 3:	2,007	2,191	1,092	,724	2,071	,788	2,841	2,084
25% protein	2,704	2,293	2,024	1,022	1,782	1,188	4,458	2,408
35% lemak	2,044	5,195	1,015	1,017	,971	1,054	1,841	1,329
40% karbohidrat	6,954	2,039	,277	1,688	1,199	,788	1,411	2,514
	2,970	3,018	2,011	1,018	1,071	2,014	3,403	5,470
	3,858	2,018	1,009	,904	1,071	1,875	1,808	3,805
	4,109	6,342	2,098	1,628	,971	1,188	3,947	2,550
	3,789	4,239	1,018	1,138	1,013	1,188	2,282	2,068
	4,830	3,016	1,015	,614	,850	,328	1,841	2,180
	2,839	3,193	,188	,718	,750	,818	2,455	2,415
Rata-rata	3,610	3,354	1,175	1,047	1,175	1,123	2,629	2,682
SD	1,49	1,47	0,68	0,36	0,42	0,51	1,02	1,16

Lampiran B.15. Data lengkap kadar hormon LH ketiga kelompok monyet.

Tabel 1. Data kadar hormon LH (mIU/mL) monyet kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 1	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 1:	1,897	1,056	,014	,018	,120	,192	,610	1,012
13% protein	3,470	3,692	,101	,328	1,019	,105	,625	1,085
9% lemak	2,194	1,053	,015	,014	,122	,092	,610	,887
78% karbohidrat	1,020	1,052	,012	,016	,120	1,092	,610	1,052
	1,052	2,148	,009	,008	,106	,109	,619	,985
	3,872	1,052	,008	,014	,650	,662	,610	1,085
	1,025	4,837	,117	,712	,120	,092	1,050	1,012
	1,971	1,072	,024	,114	,108	,514	,610	1,012
	2,195	2,693	,013	1,016	,120	,092	,610	,887
	4,093	3,093	,516	,019	,117	,192	,592	1,085
Rata-rata	2,279	2,175	0,083	0,226	0,260	0,314	0,655	1,010
SD	1,16	1,36	0,16	0,36	0,31	0,34	0,14	0,07

Tabel 2. Data kadar hormon LH (mIU/mL) monyet kelompok 2 yang diberi pakan 2 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 2	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 2:	3,194	1,958	,013	,085	,519	1,092	,612	1,058
15% protein	1,029	1,059	,209	,009	,122	,092	,557	1,102
15% lemak	1,058	3,058	,007	,015	,120	,188	,610	1,085
70% karbohidrat	4,054	2,055	,077	,517	1,019	,105	,120	,985
	1,053	1,659	,059	,018	,612	,092	,589	1,075
	2,089	2,259	,039	1,006	,227	,110	1,050	1,102
	1,053	4,054	,055	,078	,119	,092	,610	,885
	1,257	1,858	1,022	,018	1,099	,089	,085	1,022
	2,053	3,057	,008	,099	,115	1,092	1,002	1,058
	1,959	1,053	,018	,107	,120	,092	,610	1,007
Rata-rata	1,880	2,207	0,151	0,195	0,407	0,304	0,585	1,038
SD	1,04	0,94	0,31	0,32	0,39	0,42	0,31	0,07

Tabel 3. Data kadar hormon LH (mIU/mL) monyet kelompok 1 yang diberi pakan 1 sebelum, selama dan sesudah disuntik kombinasi TE dan DMPA

Kelompok 3	Minggu ke							
	-12	0	6	12	18	24	30	36
Pakan 3:	5,202	3,054	1,051	,219	,128	,292	,610	1,085
25% protein	3,229	4,057	,934	1,029	,521	1,472	1,092	1,102
35% lemak	3,054	4,086	,358	,713	,120	1,110	1,092	1,085
40% karbohidrat	2,098	1,206	,241	,217	,620	,109	,610	,985
	2,097	2,309	1,014	,218	1,120	1,092	,610	1,075
	1,072	1,797	1,011	,019	,521	,188	1,100	1,102
	1,051	3,297	,985	,118	,221	,192	,610	,885
	2,052	3,193	,875	,517	1,212	1,115	1,060	1,022
	1,097	2,178	,669	,012	,620	,109	,610	1,058
	1,891	1,053	1,015	,115	,720	,509	1,052	1,007
Rata-rata	2,284	2,623	0,815	0,318	0,580	0,619	0,845	1,541
SD	1,28	1,08	0,29	0,33	0,37	0,52	0,25	0,07

RIWAYAT HIDUP

Nama : Sutyarso
Tempat, tanggal lahir : Gunung Kidul, 24 April 1957
Jenis kelamin : Laki-laki
Kewarganegaraan : Indonesia
Agama : Islam
Menikah dengan : Siti Latifah
Anak : 1. Amrina Izzatika (8 tahun)
2. Qorri Ayuni (5 tahun)
3. Sumayyah Annida (1 tahun)

PENDIDIKAN

1963 – 1969 : Sekolah Dasar Negeri, Sawahan Playen Gunung Kidul DIY
1970 – 1972 : Madrasah Tsanawiyah Negeri, Playen Gunung Kidul DIY
1974 – 1976 : Sekolah Menengah Atas Bhina Karya, Wonosari Gunung Kidul DIY
1980 – 1984 : Sarjana Muda Biologi, Universitas Nasional Jakarta
1980 – 1986 : Sarjana Biologi, Universitas Nasional Jakarta
1989 – 1992 : Pascasarjana (S2) Ilmu Biomedik, Universitas Indonesia Jakarta
1993 – 1994 : Peserta pendengar program doktor Ilmu Biomedik PPs UI, Jakarta
1994 – sekarang : Peserta program doktor Ilmu Biomedik PPs UI, Jakarta

PEKERJAAN

1986 – 1987 : Bagian Pemuliaan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
(Balitro), Badan Litbang Departemen Pertanian, Bandar Lampung

Sejak 1 Maret 1987 hingga sekarang bekerja di Jurusan Biologi Fakultas MIPA
Universitas Lampung, Bandar Lampung sebagai staf pengajar:

1987 – 1990 : Asisten Ahli Madya (III/a)

1990 – 1993 : Asisten Ahli (III/b)

1993 – 1997 : Lektor Muda (III/c)

PENGHARGAAN

1. Penghargaan *Sudjono Djuned Pusponegoro* dari Pengurus Besar IDI dengan predikat Terbaik Ke III dalam penulisan karya ilmiah kelompok artikel asli pada Majalah Kedokteran Indonesia (MKI) tahun 1993.
2. Penghargaan *Sudjono Djuned Pusponegoro* dari Pengurus Besar IDI dengan predikat Terbaik Ke III dalam penulisan karya ilmiah kelompok artikel asli pada Majalah Kedokteran Indonesia (MKI) tahun 1994.
3. Penghargaan *Sudjono Djuned Pusponegoro* dari Pengurus Besar IDI dengan predikat Harapan I dalam penulisan karya ilmiah kelompok tinjauan pustaka pada Majalah Kedokteran Indonesia (MKI) tahun 1995.

KEANGGOTAAN ORGANISASI PROFESI

1. Perkumpulan Biologi Indonesia (PBI)
2. Perkumpulan Masyarakat Zoologi Indonesia (MZI)

PUBLIKASI

Publikasi ilmiah sejak 1987 hingga sekarang, baru sekitar 17 karangan ilmiah yang dipublikasikan pada: *Majalah Kedokteran Indonesia, Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia, Jurnal Lingkungan dan Pembangunan, Majalah Cermin Dunia Kedokteran, Majalah Medika, dan Medical Journal of Indonesia.*