



Gambaran Histopatologi Testis Kucing Domestik Jantan (*Felis domestica*) Yang Diinduksi Bisphenol-A Peroral

(Histopathologic features of male domestic cat (*Felis domestica*) testes induced by bisphenol-A orally)

Fachira Ulfa Makmur, Fika Yuliza Purba, Dwi Kesuma Sari*

Study Program of Veterinary Medicine, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar, 90245, Indonesia

Corresponding authors: Dwi Kesuma Sari (dwiksari@vet.unhas.ac.id)

Abstrak

Infertilitas pada kucing merupakan masalah serius di kalangan komunitas pecinta hewan sejak ditemukannya banyak senyawa yang dapat mengakibatkan infertilitas di lingkungan. Salah satu senyawa yang dapat mengakibatkan infertilitas pada mamalia adalah Bisphenol-A (BPA), yang dikenal memiliki efek estrogenik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamati perubahan pada histologi testis dari kucing jantan yang diinduksi oleh BPA secara oral. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor kucing jantan yang dibagi ke dalam 4 kelompok. Kelompok 1 ditentukan sebagai control, sedangkan kelompok 2, 3 dan 4 diberikan perlakuan BPA masing-masing sebanyak 5, 10 dan 100 mg/kg berat badan selama 5 hari. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa efek estrogenik dari BPA dapat mempengaruhi sistem reproduksi kucing jantan. Efek yang ditimbulkan adalah penurunan jumlah spermatozoa, vakuolisasi dari tubulus seminiferous, degenerasi sel Leydig, degenerasi epitel-epitel tubulus, bentuk sel germinal yang ireguler, hemoragi pada jaringan interstitial dan sel-sel debris mengisi lumen dari tubulus seminiferus. Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa BPA menimbulkan kerusakan pada sistem reproduksi kucing jantan.

Kata Kunci: *histopatologi, testis, kucing, bisphenol-A (BPA), efek estrogenik*

Copyright © 2018 JRVI. All rights reserved.

Abstract

*Infertility in cat becomes a serious problem in pet community since many compounds of infertility-caused can be found widely in the environment. One of the compounds causing infertility in mammals is Bisphenol-A (BPA), which is known as an estrogenic compound. The purpose of this research is to observe the changes in testicular histology of male domestic cat (*Felis domestica*) induced by BPA orally. Sample used in this study were 24 male domestic cats divided into 4 groups, namely the group 1 as control, group 2, 3 and 4 were treated with BPA about 5, 10 and 100 mg/kg bodyweight, respectively for 5 days. The results showed that the estrogenic effect of BPA affects the reproductive system of the cat. The effects of BPA in cat included decrease in the amounts of spermatozoa, vacuolization of seminiferous tubules*

cells, degeneration of Leydig cells, degeneration of tubular epithelial cells, irregular forms of the germ, interstitial tissue hemorrhage, debris cell filled the lumen of seminiferous tubules. These results suggested that BPA can be harmful to the reproductive system of the cat.

Key words: *histopathology, testes, cats, bisphenol-A (BPA), estrogenic effect*

Copyright © 2018 JRVI. All rights reserved.

Pendahuluan

Plastik polikarbonat yang menggunakan Bisphenol-A (BPA) merupakan polimer yang sangat transparan dan memiliki beberapa keunggulan seperti lebih kuat dan tahan terhadap benturan, memiliki tingkat kecerahan plastik yang lebih baik, serta lebih mudah dibentuk pada suhu ruang. Keunggulan tersebut membuat plastik polikarbonat ini lebih disukai untuk digunakan pada kemasan makanan, botol susu, botol air, bahkan pipa-pipa saluran air. Penggunaan BPA sudah cukup luas, tidak hanya digunakan untuk kemasan pangan tetapi juga dapat digunakan sebagai bahan penambal gigi, pembuatan kepingan CD atau DVD, dan kacamata (Aschberger, 2010; Bailey *and* Hoekstra, 2010). Penggunaan BPA sebagai bahan kemasan ternyata menimbulkan dampak buruk terhadap kesehatan hewan dan manusia meskipun digunakan dalam dosis yang sangat kecil. Hal ini dikarenakan ikatan kimia yang terjadi diantara monomer BPA pada polimer plastik tidak stabil sehingga dapat menyebabkan migrasi apabila kemasan kontak dengan produk. Migrasi BPA dari kemasan polikarbonat tergantung dari waktu kontak, suhu, dan jenis makanan (Chaboud *et al.*, 2001; Lusda, 2013).

Hal inilah yang membuat beberapa negara mengambil kebijakan dengan melarang penggunaan atau peredaran produk-produk yang mengandung BPA. Di Indonesia belum ada lembaga berwenang yang melakukan uji toksisitas terhadap BPA sehingga peredaran produk yang mengandung BPA tersebut belum dilarang (Lusda, 2013). Kontaminasi BPA dari makanan kaleng untuk manusia telah diteliti, tetapi belum ada laporan yang fokus terhadap kontaminasi BPA dari makanan kaleng hewan. Hasil penelitian dari 26 sampel makanan kaleng hewan (15 sampel makanan kaleng kucing dan 11 sampel makanan kaleng anjing) yang dianalisis dengan *High-Performance Liquid Chromatography* menunjukkan bahwa terdapat konsentrasi BPA antara 13-136 ng/g di makanan kaleng kucing dan 11-206 ng/g di makanan kaleng anjing. Hasil lain penelitian tersebut menunjukkan makanan kaleng hewan kosong yang dipanaskan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit mengandung BPA dengan konsentrasi antara 7 dan 31 ng/ml (Kang, 2002).

Penelitian *in vitro* maupun *in vivo* terus dilakukan sejak penemuan Dodds *and* Lawson (1936) yang mengatakan bahwa BPA memiliki aktivitas estrogenik dalam sistem biologi. Penelitian yang dipimpin oleh Chaboud *et al.* (2001) juga menegaskan bahwa BPA menimbulkan gangguan pada hampir semua parameter yang berhubungan dengan sistem reproduksi baik jantan maupun betina pada tikus. Penelitian terakhir mengenai efek paparan bisphenol-A dilakukan oleh Gurmeet *et al.* (2014) menunjukkan bahwa tikus mengalami penurunan spermatogenesis. Dari hasil penelitian tersebut, teramati adanya kerusakan epitel tubulus termasuk kerusakan dari batas interselular dan pindahnya sel-sel germinal dari lapisan normal ke lumen tubulus seminiferus. Lebih dari itu, lamina tubulus seminiferus dan lamina epididimis berisikan dengan sel germinal yang belum matang dan sel debris.

Penelitian lain menunjukkan banyak efek yang merugikan pada tikus yang diberi paparan BPA dengan kadar tinggi. Efek tersebut termasuk cepat pubertas (Howdeshell *et al.*, 1999), mempengaruhi fenotipe dan spermatogenesis ayam jantan (Furuya *et al.*, 2006) peningkatan obesitas (Grün *and* Blumberg, 2009), komplikasi kehamilan (Berger *et al.*, 2008), cacat pada

organ reproduksi laki-laki dan perempuan (Richter *et al.*, 2007), efek pada organ prostat, dan peningkatan malignansi (Hunt *et al.*, 2009), sedangkan pengaruh bisphenol-A terhadap sistem reproduksi kucing belum pernah dilakukan padahal hal ini sangat diperlukan jika ditinjau dari besarnya kemungkinan kucing peliharaan terpapar BPA dari kemasan makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mengamati perubahan pada gambaran histologi testis kucing domestik jantan (*Felis domestica*) yang diinduksi BPA peroral. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan edukasi untuk masyarakat tentang bahaya BPA bagi hewan peliharaan.

Materi dan Metode

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kucing domestik (*Felis domestica*) jantan, berusia lebih dari 1 tahun dan dalam keadaan sehat sebanyak 24 ekor, terbagi atas 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 ekor. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol, sedangkan kelompok 2, 3 dan 4 merupakan kelompok perlakuan yang masing-masing diberikan BPA sebanyak 5, 10 dan 100 mg/kg BB per oral selama 5 hari. Bahan yang digunakan adalah BPA (Aldrich, USA) ditimbang sesuai konsentrasi 10%, yaitu 10 gram BPA dilarutkan dalam 100 ml minyak jagung (Soon Soon Oil mill, Malaysia) lalu dimasukkan ke dalam wadah kemudian disimpan pada suhu 4°C sampai akan digunakan. Sediaan BPA diberikan secara per oral satu kali sehari selama lima hari berturut-turut dengan volume sesuai perhitungan dosis masing-masing sampel. Pemeliharaan dan perlakuan sampel telah melalui persetujuan dari komisi etik Universitas Hasanuddin.

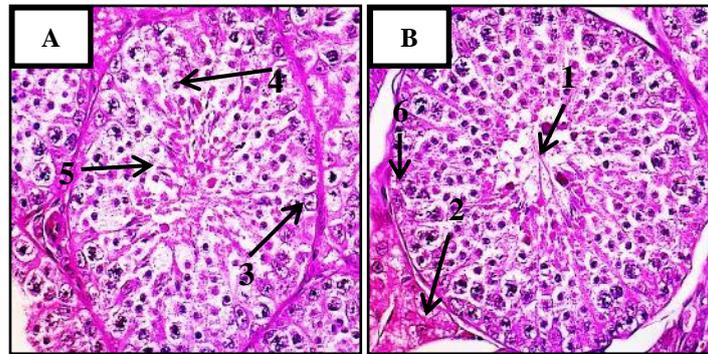
Koleksi testis dilakukan dengan metode kastrasi terbuka. Kucing dipremedikasi dengan atropine sulfat (PT. Ethica, Indonesia) dengan dosis 0,2 mg/kg BB, kemudian dianestesi dengan zoletil 50 (Virbac, France) dengan dosis 0,1 mg/kg BB. Testis difiksasi dengan larutan formalin 10% selama 2 x 24 jam dan kemudian dipindahkan ke dalam larutan alkohol bertingkat untuk proses dehidrasi dimulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% dan selanjutnya dijernihkan dalam xylol untuk proses *clearing*. Proses selanjutnya adalah pembenaman menggunakan paraffin cair dan dilakukan embedding sampel. Sampel kemudian dipotong dengan ketebalan 4 mikron dan diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin (Bacha, 2000). Sampel kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop Olympus X21 yang terhubung dengan kamera Optilab. Data dianalisis secara deskriptif dengan melihat pengaruh pemaparan BPA peroral terhadap perubahan testis kucing jantan.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh senyawa estrogenik BPA merupakan salah satu fokus penelitian tentang kelainan yang dikaitkan dengan infertilitas kucing (Toppari *et al.*, 1996; Olivia *et al.*, 2002). BPA dan derivatnya sangat mungkin terdapat pada makanan, cemilan, peralatan rumah tangga dan perlengkapan hewan kesayangan akibat dari polimerisasi BPA selama pembuatan produk-produk yang tidak sempurna dan juga terjadinya *depolimerisasi* zat BPA karena peningkatan suhu dalam penyimpanan dan proses sterilisasi (Brotons *et al.*, 1995; Olea *et al.*, 1996; Bile *et al.*, 1997).

Testis dari kelompok perlakuan induksi BPA diamati dan dibandingkan perubahannya dengan testis kelompok kontrol. Kelompok perlakuan induksi BPA mengindikasikan pelebaran bagian interseluler testis yang didukung dengan pelebaran batas antara sel-sel germinal dan sel-sel sertoli. Sel-sel germinal yang tidak matang juga terlihat pada lumen tubulus seminiferus testis. Bahkan pada dosis terendah, 2 dari 5 ekor kucing di kelompok perlakuan tidak memiliki sperma matang pada lumen tubulus seminiferusnya dan pada 3 dari 5 ekor kucing di dalam kelompok yang sama terlihat sel-sel germinal yang tidak beraturan (gambar 1 A, A1, B dan B1). Pada kucing di kelompok perlakuan BPA 100 mg/kg BB, teramati gangguan pada lumen

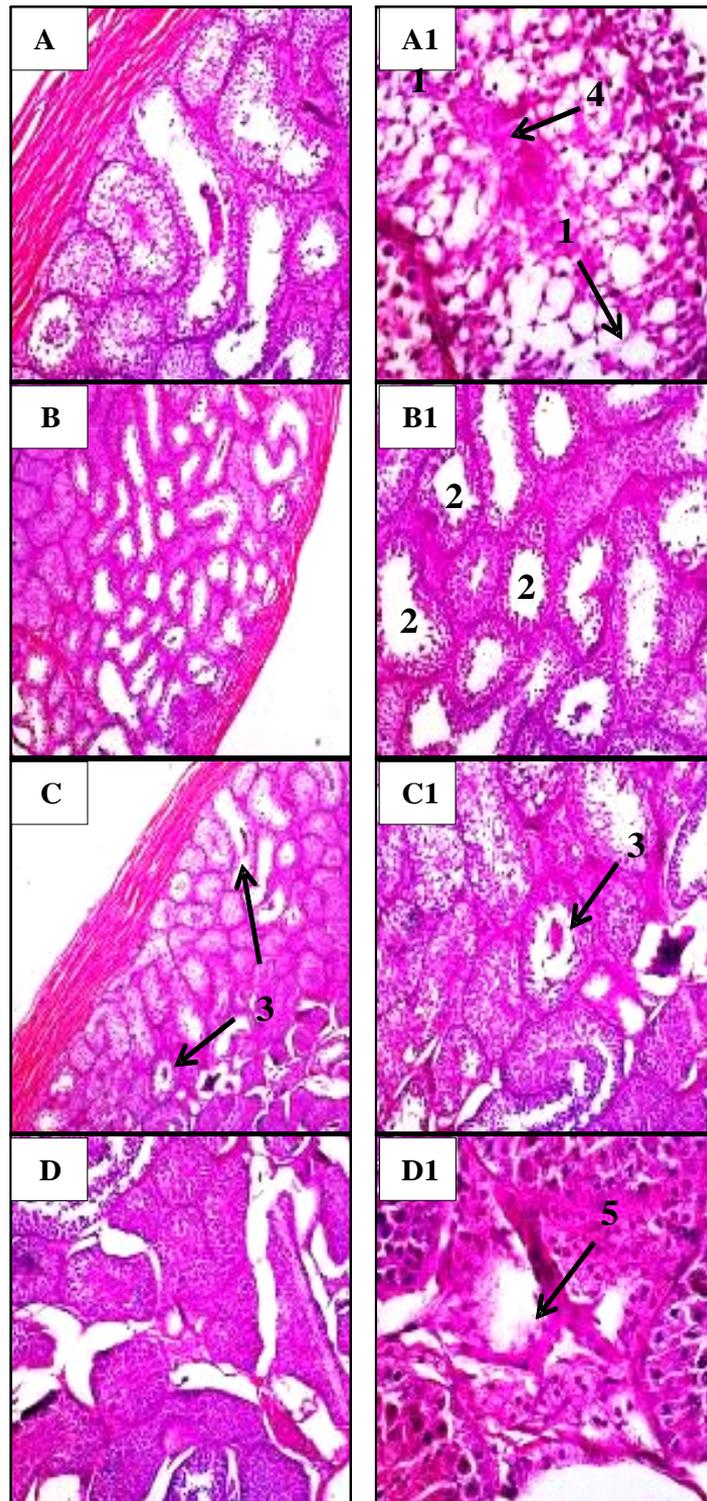
tubulus seminiferus yang dipenuhi oleh sel-sel debris dan sel-sel germinal yang tidak matang (gambar 3F). Perubahan-perubahan yang terjadi pada seluruh kelompok perlakuan amat jelas, dan berbeda dengan kelompok kontrol, seperti sperma matang yang ditemukan pada lumen tubulus seminiferus kelompok kontrol. Temuan lain dari kelompok perlakuan ini adalah lumen tubulus seminiferus yang kosong dari spermatozoa dan terpenuhi dengan sel-sel debris (gambar 2 C1 dan D).



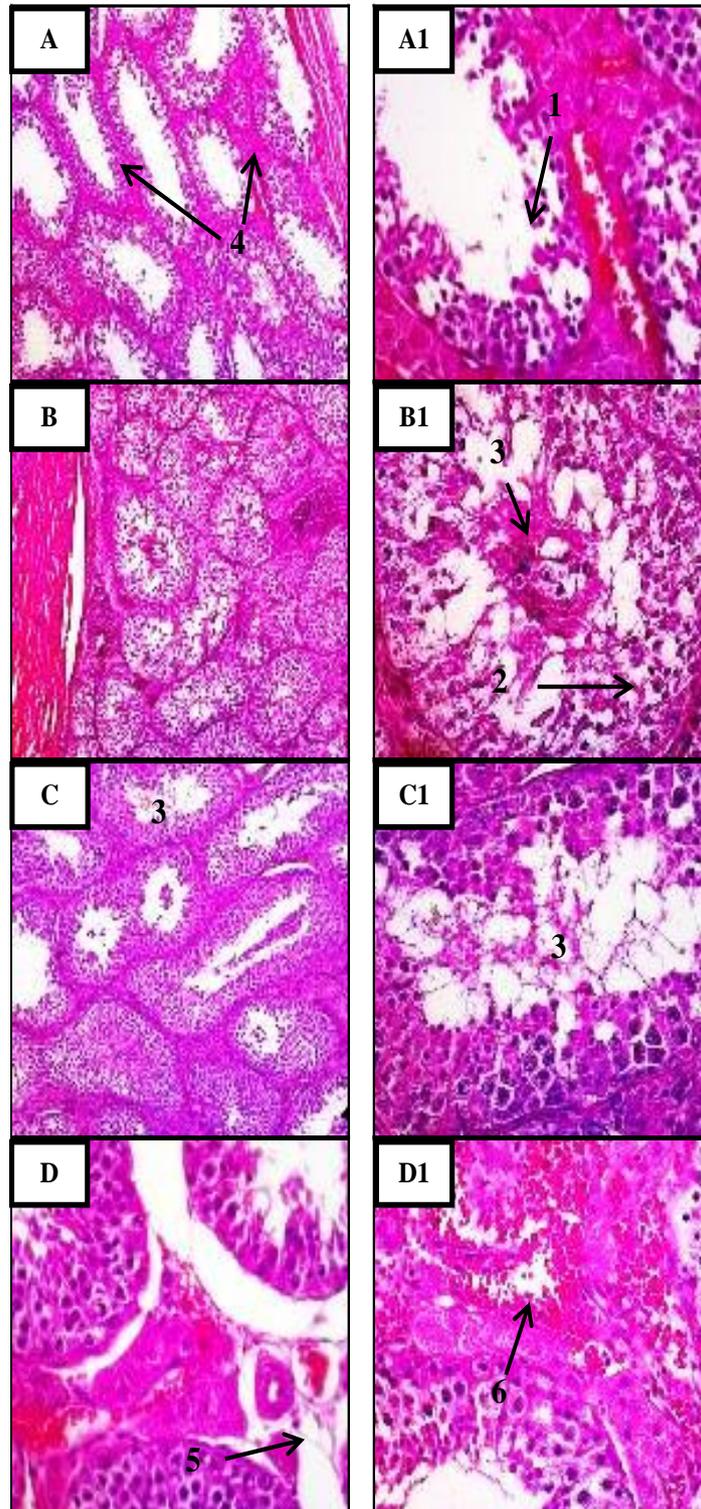
Gambar 1. Foto mikrografik dari testis kelompok kontrol (A) tubulus, tengah, 400x. (B) tubulus, tepi, 400x. Keterangan : 1, spermatozoa; 2, sel Leydig normal; 3, spermatogonia; 4, spermatid sekunder; 5, spermatid (fase pematangan); 6, sel Sertoli. Pewarnaan HE.

Perubahan histologi testis yang teramati didukung oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Vakuolisasi secara umum adalah morfologi awal yang menjadi indikator dari gangguan yang terjadi pada sel sertoli (Creasy, 2001). Vakuola mungkin terjadi pada interseluler ataupun keduanya yang diakibatkan gangguan pada keseimbangan cairan dari sel sertoli. Mikrovakuolasi dari lapisan sitoplasma sel sertoli sering terjadi akibat zat toksik (Hild *et al.*, 2001) dan beberapa akibat zat kimia yang menginduksi fosfolipidosis. Yan *et al.*, (2000) mengemukakan degenerasi sel germinal diakibatkan dari kematian sel germinal, termasuk akibat kekurangan androgen, hipoksia, agen anti-mitosis, mediator-mediator pro-apoptosis sel dan penghambatan sitokin. Kematian sel germinal juga dapat terjadi akibat gangguan fungsi sel sertoli. Degenerasi signifikan sel germinal dan nekrosis sering terjadi bersamaan adanya vakuolisasi dari epitel tubulus, lanjutan dari hilangnya rongga lapisan sel germinal dan sel sertoli (Kerr *et al.*, 1993).

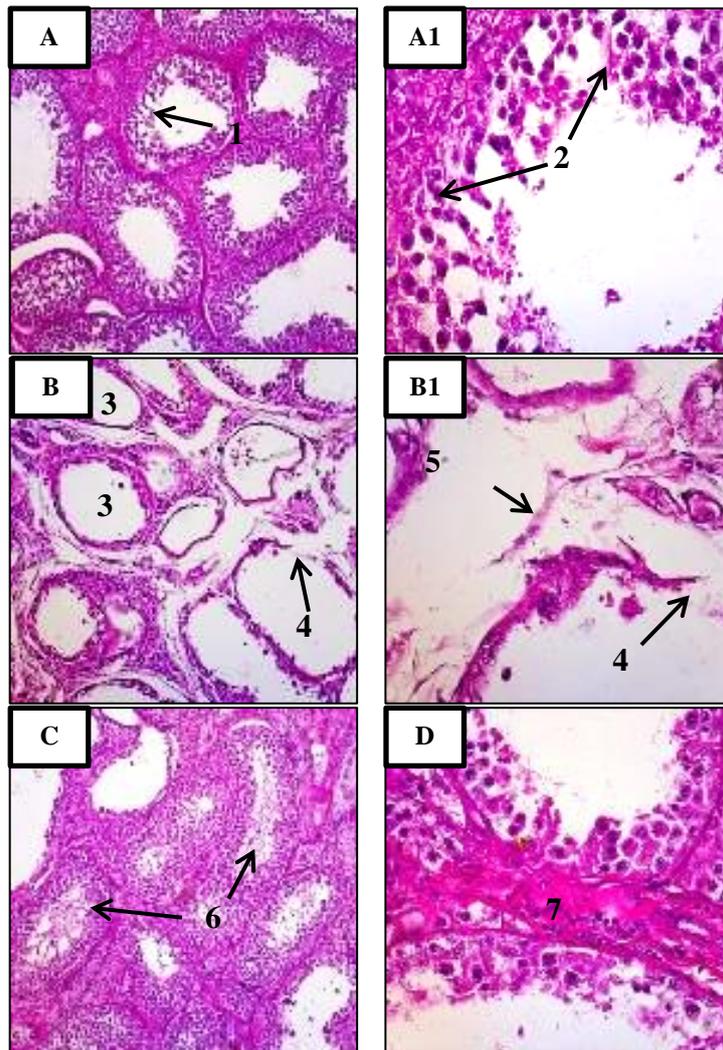
Temuan eritrosit mengindikasikan terjadinya inflamasi pada testis yang berlanjut ke fase fibrosis. Jana *and* Samanta (2006) menjelaskan bahwa fibrosis adalah deposit kolagen testis oleh fibroblast-fibroblas yang diikuti peradangan, nekrosis, atau hemoragi. Fibrosis sering merupakan hasil ikutan peradangan atau proses degenerasi yang berkaitan dengan gangguan suplai darah atau kerusakan pada barrier pembuluh darah testis. Degenerasi tubulus umumnya akibat manifestasi zat bersifat toksik pada testis (Greaves 2012a; Yuan *and* McEntee 1987). Pengaruh langsung BPA di penelitian ini pada sel leydig didukung dengan terjadinya degenerasi sel Leydig. Creasy (2012) menegaskan atropi atau degenerasi sel Leydig terjadi dikarenakan penghambatan enzim, penurunan fungsi atau kurangnya stimulasi. Administrasi estrogen, testoteron dosis tinggi atau penekanan *Luteinizing Hormone* (LH) juga dapat mengakibatkan atropi sel Leydig.



Gambar 2. Foto mikrografik dari testis kelompok BPA 5 (A-D).tubulus, tepi, 100x (A) 400x (A1). Tubulus, tepi, 40x (B), 10 (B1).Tubulus, tepi, 40x (C) 100x (C1).Tubulus, tengah, 100x (D), 400x (D1). Keterangan: 1. Vakuolisasi sel-sel germinal tubulus seminiferous; 2. Lumen tubulus kosong dari spermatozoa dan dilatasi; 3. Sel-sel germinal lepas; 4. Lumen berisi sel debris; 5. Degenerasi sel leydig. Pewarnaan HE.



Gambar 3. Foto mikrografik dari testis kelompok BPA 10 (A-D), Tubulus, tepi, 100x (A), 400x (A1).Tubulus, tepi, 100x (B), 400x (B1).Tubulus, tengah, 100x (C), 400x (C1).Tubulus, tepi, 400x (D), 400x (D1). Keterangan: 1. Vakuolisasi; 2. Sel germinal tidak beraturan; 3. lumen berisi sel debris; 4. Lumen kosong dari spermatozoa; 5. Degenerasi sel leydig; 6. Eritrosit pada jaringan intersisial.

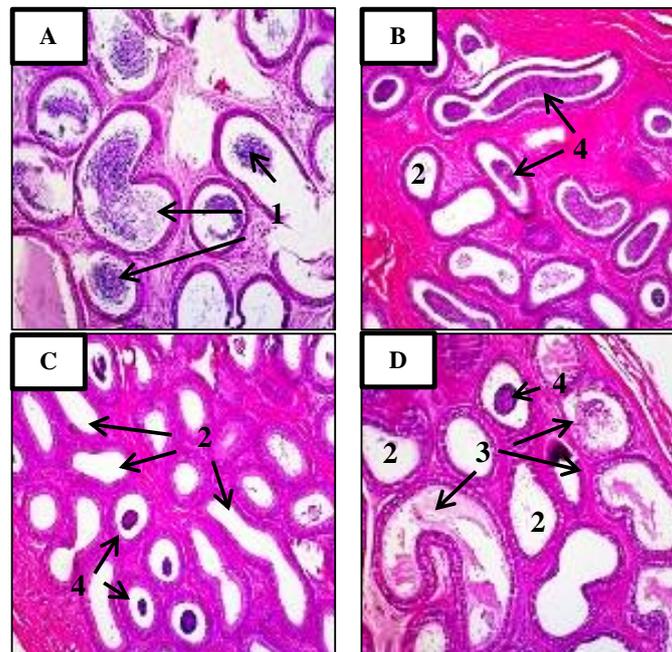


Gambar 4. Foto mikrografik dari testis kelompok BPA 100. Tubulus, tengah, 100x (A), 400x (A1). Tubulus, tengah, 100x (B), 400x (B1). Tubulus, tengah, 100x (C). Tubulus, tengah, 400x (D). Keterangan: 1. Vakuolisasi; 2. Degenerasi sel germinal; 3. Dilatasi lumen; 4. Degenerasi sel epitel tubulus; 5. Degenerasi sel leydig; 6. Lumen dipenuhi sel debris; 7. Eritrosit pada jaringan intersisial.

Estrogenisitas BPA pertama sekali dilaporkan oleh Dodds *and* Lawson (1936). Komponen BPA yang terlepas dari dinding tabung polikarbonat selama sterilisasi autoklaf cukup berpotensi menginduksi respon estrogenik dalam kultur. Potensi estrogenik BPA yang terlepas dari tabung tersebut lebih kurang $1 - 2 \times 10^{-4}$ aktivitas 17-estradiol (E2) atau dietilstilbestrol (DES) baik dalam sistem *in vitro* maupun *in vivo* (Sipatuhar *et al.*, 2007). Estrogen adalah regulator dalam proses penyerapan cairan melalui mekanisme pertukaran ion natrium klorida dan pemindahan cairan melalui suplai darah yang cukup, aktivitas estrogen dan ikutan administrasi endothelin antagonis dapat menginduksi terjadinya dilatasi tubulus. (Harneit *et al.*, 1997; Creasy, 2001; Hess, 2002;).

Penurunan jumlah spermatozoa dalam lumen umumnya merupakan hasil dari berkurangnya output spermatozoa oleh sel germinal testis yang rusak, penurunan androgen dan hasil sekunder dari hipoplasi atau agenesis testis (Radovsky *et al.*, 1999). Penurunan jumlah sperma adalah konsekuensi dari gangguan dalam testis. Jumlah sperma juga dapat berkurang dan bertambah akibat perubahan struktur dan fungsi epididimis. Beberapa zat toksik yang menyerang sistem reproduksi dapat meningkatkan atau menurunkan waktu transit menuju

epididimis (Klinefelter, 2002). Penurunan kadar androgen juga dapat menurunkan fungsi epididimis (Ezer *and* Robaire, 2002).



Gambar 5. Foto mikrografik dari epididymis kelompok kontrol, 100x (A), BPA 5, 40x (B), BPA 10, 40x (C), BPA 100, 100x (D). keterangan : 1. Lumen berisi spermatozoa; 2. Lumen kosong dari spermatozoa; 3. Lumen berisi sel debris; 4. Lumen berisi spermatozoa dan sel debris.

Tipe kerusakan jaringan testis dimulai dari tepi, hal ini menunjukkan bahwa sifat toksisitas BPA masih bersifat lokal dan selektif terhadap sel yang memiliki afinitas lebih tinggi terhadap BPA. Bisphenol-A tidak menyebabkan toksisitas sistemik yang ditunjukkan tidak berkurangnya berat badan kucing ataupun munculnya gangguan sistem tubuh yang lain. Namun demikian, BPA dapat menginduksi kerusakan yang signifikan pada jaringan testis. Kerusakan yang amat jelas terhadap sel Leydig dan sel germinal yang mengakibatkan berkurangnya produksi spermatozoa menegaskan bahwa spermatogenesis yang berlangsung dengan bantuan hormon testosteron tidak berlangsung baik akibat hambatan oleh BPA. Furuya (2002) dalam penelitiannya dengan sampel ayam jantan menunjukkan bahwa dosis BPA 200 mg menghambat pertumbuhan testis dan jengger ayam, namun tidak berpengaruh terhadap berat badan dan berat hati. Seperti yang diketahui bahwa testis dan jengger ayam membutuhkan aktivitas hormon testosteron (Balthazart, 1987).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan induksi BPA pada kucing dewasa secara konstan menunjukkan beberapa tingkatan dan gangguan pada morfologi dan fungsi testis. Bagaimanapun, tidak ada perubahan yang signifikan terhadap berat badan dan berat testis kucing. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tidak teramati perubahan berat testis hewan yang diinduksikan BPA antara 1 mg – 100 mg/kg BB (Gurmeet *et al.*, 2014). Spermatogenesis dimulai dengan diferensiasi dari spermatogonia yang mana membutuhkan aksi dari hormon testosteron. Penelitian sebelumnya induksi BPA secara signifikan menurunkan kadar testosteron dalam plasma. Hal ini menjadi dasar bahwa rendahnya kadar testosteron plasma akan mengakibatkan gagalnya spermatogenesis dan gangguan pada epitel tubulus semeniferus (Gurmeet *et al.*, 2014). Rendahnya testosteron juga bertanggung jawab untuk degenerasi sel berupa proses apoptosis dari sel-sel germinal jantan (Pentikainen *et al.*, 2000). Hal itu dapat menjelaskan kurangnya sperma matang dan adanya sel-sel debris dalam

epididimis kucing perlakuan induksi BPA (Gurmeet *et al.*, 2014). BPA berpengaruh langsung ke sel Leydig dengan menekan gen penghasil enzim yang mana dibutuhkan dalam biosintesis hormon testosteron (Akingbemi, 2004). Penelitian oleh Nakamura *et al.*, (2010) melaporkan bahwa BPA menyebabkan berkurangnya jumlah sel Leydig dimana BPA diinduksikan ke hewan selama 6 minggu dengan pemberian induksi melalui subkutaneus.

Tidak ada sampel yang mati pada kelompok perlakuan BPA 5, 10 dan 100 mg/kg BB pada penelitian ini. *No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL)* menetapkan kadar toleransi BPA adalah 50 mg/kg BB/hari, dikonfirmasi dari beberapa tes menggunakan hewan coba. Transmisi BPA melalui kontak makanan untuk manusia kurang dari 0.000118 mg/ kg BB/hari dan potensi paparan ini adalah 400 kali lebih rendah dari dosis maksimum BPA untuk manusia 0,05 mg/kg BB/hari yang ditetapkan oleh US Environmental Protection Agency, didasari oleh NOAEL. Analisis independen oleh European Commission's Scientific Committee on Food (SCF), menggunakan metode yang sama, telah mengkonfirmasi kadar BPA yang aman melalui kontak makanan. SCF memperkirakan total asupan makanan BPA dari semua sumber kontak makanan berada di kisaran,00048-0,0016 mg/kg BB/hari, yang berarti kadarnya berada di bawah toleransi asupan perhari jika dibandingkan dengankadar toleransi oleh SCF 0,01 mg/kg BB/hari (Anonim, 2003).

Berdasarkan hasil bioassay kanker paparan seumur hidup yang dilakukan oleh US National Toxicology Program, Badan Perlindungan Lingkungan AS karena 50 mg/kg BB/hari sebagai dasar untuk dosis referensi. Dosis referensi dihitung dengan membagi dosis yang dipilih dari 50 mg/kg BB/hari dengan faktor keselamatan 1000, yang menghasilkan dosis referensi dari 0,05 mg/kg BB/ hari. Hasil dari dua studi multi-generasi yang dirancang untuk mencari efek dosis rendah BPA (Ema *et al.*, 2001; Tyl *et al.*,2002) mendukung penggunaan 50 mg/kg BB/hari untuk menghitung referensi dosis. Tidak ada efek dosis rendah yang diamati dalam studi baik. Sebagai bagian dari penilaian risiko yang komprehensif tentang BPA, Uni Eropa meninjau semua data toksisitas yang tersedia, termasuk bukti untuk efek dosis rendah, dan juga menyimpulkan bahwa NOAEL adalah 50 mg/kg BB/hari (Anonim, 2003).

Perubahan pada gambaran histopatologi testis kucing domestik jantan yang diinduksi BPA peroral yakni, penurunan jumlah spermatozoa, vakuolisasi sel tubulus seminiferus, degenerasi sel Leydig, degenerasi sel epitel tubulus, sel germinal tidak beraturan, hemoragi jaringan intersisial, dan lumen tubulus semeniferus dan epididimis kosong dari spermatozoa serta dipenuhi sel debris. Dapat disimpulkan bahwa BPA dapat menginduksi kerusakan pada jaringan testis kucing.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Patologi Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin serta Laboratorium Patologi Balai Besar Veteriner Maros. Selain itu penulis juga mengucapkan terimakasih terhadap Drh. Dedy Rendrawan, M.Sc. yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang berkepentingan dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anonim. 2003. Bisphenol A. <http://www.bisphenol-a.org/about/index.html>. Diakses [27 Agustus 2015].
- Bacha Jr, William J. dan Bacha LM. 2000. Color Atlas Of Veterinary Histology, Second Edition. Lippincott Williams &Wilkins : United States Of America.
- Bailey AB dan Hoekstra EJ. 2010. *FAO/WHO Expert Meeting on Bisphenol A (BPA):*

Sources and Occurrence of Bisphenol A Relevant for Exposure of Consumers.
http://www.who.int/foodsafety/chem/chemicals/2_source_and_occurrence.pdf. [08
maret 2014].

- Balthazart J., Hendrick JC. 1978. Steroidal control of plasma luteinizing hormone, comb growth and sexual behavior in male chicks. *J. Endocrinol.* 77:149–150.
- Berger, RG., Shaw, J., de Catanzaro, D. 2008. Impact of acute bisphenol-A exposure upon intrauterine implantation of fertilized ova and urinary levels of progesterone and 17 beta-estradiol. *Reprod. Toxicol.* 26: 94-99.
- Chaboud, I., Fialkowski, O., Talsness, CE. 2001. The effects of low and high dose in utero exposure to bisphenol A on the reproductive system of male rat offspring. *Reprod. Toxicol.* 15: 589
- Creasy, DM. 2001. Pathogenesis of male reproductive toxicity. *Toxicol. Pathol.* 29: 64–76.
- Creasy, DM. 2012. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Male Reproductive System. *Toxicol. Pathol.* 40: 405-1215.
- Dodds, EC., Lawson, W. 1936. Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*, 137: 996.
- Ema, M., Fujii, S., Furukawa, M., Kiguchi, M., Ikka, T., and Harazono, A. 2001. *Reprod. Toxicol.* 15: 505-523.
- Ezer, N., and Robaire, B. 2002. Androgenic regulation of the structure and functions of the epididymis. In *The Epididymis: From Molecules to Clinical* (B. Robaire and B. T. Hinton, eds.). Kluwer Academic/ Plenum publishers, New York, NY. pp. 297–316.
- Furuya, M., Adachi, K., Kuwahara, S., Ogawa, K., Tsukamoto, Y. 2006. Inhibition of male chick phenotypes and spermatogenesis by Bisphenol-A. *Life Sciences*, 78 (15): 1767-1776. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.08.016
- Furuya, M., Sasaki, F., Hassanin, AMA., Kuwahara, S., and Tsukamoto, Y. 2002. Effects of bisphenol-A on the growth of comb and testes of male chicken. *Canadian J. Veterinary Research.* 67: 68-71.
- Grün, F., Blumberg, B., 2009. Endocrine disrupters as obesogens. *Mol. Cell. Endocrinol.* 304: 19-29.
- Gurmeet, KSS., Rosnah, I., Normadiah, MK., Das, S. and Mustafa, AM. 2014. Detrimental effects of bisphenol A on development and functions of the male reproductive system in experimental rats. *EXCLI Journal.* University of Malaya. Malaysia. Kuala Lumpur.
- Guyton AC., Hall JE. 2005. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Ed ke-11. Philadelphia: W.B Saunders Company. Terjemahan: dari *Textbook of Medical Physiology.* p: 1265-1277
- Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology.* 11th ed. Pennsylvania: Elsevier Inc; 2006. p. 1011-22.
- Harneit, S., Paust, H. J., Mukhopadhyay, AK., and Ergun, S. (1997). Localization of endothelin 1 and endothelin receptors A and B in human epididymis. *Mol. Hum. Reprod.* 3: 579–84.
- Hess, RA. 2002. *The efferent ductules: Structure and function.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY. pp. 49–80.
- Howdeshell, KL., Hotchkiss, AK., Thayer, KA., Vandenberg, JG., vom Saal, FS. 1999. Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature.* 410: 763-764.
- Hunt, PA., Susiarjo, M., Rubio, C., Hassold, T. 2009. The Bisphenol A experience: a primer for the analysis of environmental effects on mammalian reproduction. *Biol. Reprod.* 81: 807-813.
- Jana, K., and Samanta, PK. 2006. Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for nonsurgical sterilization in adult albino rats. *Contraception* 73, 289–300.
- Kerr, JB., Savage, GN., Millar, M., and Sharpe, RM. 1993. Response of the seminiferous epithelium of the rat testis to withdrawal of androgen: Evidence for direct effect upon intercellular spaces associated with Sertoli cell junctional complexes. *Cell. Tissue. Res.* 274: 153–61.

- Lusda MIK. 2013. Kajian Paparan Bisphenol-A dari Botol Susu Polikarbonat dalam ASI dan Air pada Bayi. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Maruyama, S. Fujimoto, S., Yin, H., Ito, A. 1999. Growth stimulation of a rat pituitary cell line MtT/E-2 by environmental estrogens in vitro and in vivo. *Endocrinol. J.*, 46: 513-520.
- Radovsky, A., Mitsumori, K., and Chapin, RE. 1999. Male reproductive tract in pathology of the mouse, reference and atlas. Cache River Press, Vienna. pp. 381–407.
- Tyl, RW., Myers, CB., Marr, MC., Thomas, BF., Keimowitz, AR., Brine, DR., Veselica, MM., Fail, FA, Chang, TY., Seely, JC., Joiner, RL., Butala, JH., Dimond, SS., Cagen, SZ., Shiotsuka, RN., Stropp, GD., and Waechter, JM. 2002, "Three-generation reproductive toxicity study of dietary Bisphenol A in CD Sprague-Dawley Rats," *Toxicological Sciences*. 68: 121-146.
- Yan, W., Samson, M., Jegou, B., and Toppari, J. 2000. Bcl-w forms complexes with Bax and Bak, and elevated ratios of Bax/Bcl-w and Bak/Bcl-w correspond to spermatogonial and spermatocyte apoptosis in the testis. *Mol. Endocrinol.* 14: 682–699.
- Ulrich, B., Jochen, S., Günther, H., Helmut, S., Jürgen, B., Huber, C., and Roth W. 1988. Pharmacokinetics of Meloxicam in animals and the relevance to humans. *Parmacol.* 26 (3), 576-584.