

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kriptorkismus atau yang biasa disebut dengan testis yang tidak turun merupakan salah satu kelainan yang paling umum pada hewan mamalia ataupun manusia. Kriptorkismus atau *Undescensus Testis* (UDT) menurut definisi adalah gangguan perkembangan yang ditandai dengan gagalnya penurunan salah satu atau kedua testis tidak berada pada posisi yang seharusnya didalam skrotum pada saat lahir dan tidak dapat dipindahkan secara manual ke posisi seharusnya (Suryawan *et al.*, 2017).

Cryptorchid merupakan salah satu defek kongenital yang paling umum ditemukan pada anjing dan kucing. Pada anjing prevalensi kriptorkismus dilaporkan 0.8% - 10% (Birchard and Nappier, 2008) dan 2% pada kucing (Bright, 2011). Kriptorkismus bisa ditemukan pada pure breed, mix breed maupun domestik breed (Tibary and Memon, 2001).

Selain pada anjing dan kucing, kriptorkismus juga merupakan salah satu defek kongenital paling umum yang terjadi pada manusia. Pada bayi prematur insiden kriptorkismus ditemukan sebanyak 30%, persentase ini menurun menjadi 3-5% pada bayi yang tidak prematur, kemudian pada usia 3 bulan persentase menjadi 1-3%, dan pada usia 1 tahun persentase tinggal 0,8% (Acerini *et al.*, 2009).

Kriptorkismus disebabkan oleh berbagai faktor yang menyebabkan terhambatnya proses turunnya testis ke dalam skrotum. Penyebab utama kriptorkismus adalah adanya defek sekresi androgen pada fase prenatal baik

sekunder yang disebabkan oleh stimulasi gonadotropin maupun rendahnya produksi gonadotropin plasenta sekunder (Foresta *et al.*, 2008).

Kriptorkismus menyebabkan temperatur yang tinggi pada intra-abdominal dan mempengaruhi spermatogenesis dan menginduksi hiperproduksi *reactive oxygen species* (ROS) sehingga dapat meningkatkan stress oksidatif (Babaei *et al.*, 2012, Ko *et al.*, 2014). Peningkatan stress oksidatif akhirnya menyebabkan kematian dari sel *spermatogenic*, yang mekanismenya dimana azoospermia terkait dengan kriptorkismus (Kobayashi *et al.*, 2013). Komplikasi jangka panjang dari stress oksidatif yang tidak diberi penanganan adalah transformasi ganas dari testis akibat inflamasi kronik diluar skrotum berupa seminoma (Wales *et al.*, 2003).

Sejak tingkat neoplasia pada testis meningkat, banyak penelitian telah dilakukan untuk mendiagnosis hal tersebut. Metode yang telah banyak dikembangkan salah satunya adalah teknik imunohistokimia. Secara khusus, marker imunohistokimia sudah banyak diperkenalkan untuk menetapkan diagnosis histologis dan patogenesis tumor secara akurat, salah satunya adalah PGP 9.5. *Protein Gene Product* (PGP 9.5) adalah protein 27-kDa yang awalnya diisolasi dari otak.

Penanganan unilateral kriptorkismus dilakukan dengan cara pendekatan operasi *orchietomy*. *Orchiectomy* merupakan satu-satunya tindakan medis yang disarankan pada kasus *cryptorchid* usia 6 bulan hingga 1 tahun pada anjing dapat menurunkan subfertilitas (Hadziselimovic, 2012). Lebih mengkhawatirkan untuk penanganan kriptorkismus di masa pubertas adalah spermatozoa pada testis mungkin tidak pernah berfungsi dengan baik bahkan setelah penanganan (Oremosu

et al., 2017). Terkadang pemilik juga tidak menginginkan adanya tindakan kastrasi, maka dari itu dilaksanakan pengobatan alami untuk mencegah ROS menjadi stress oksidatif yang dapat menyebabkan tumor berkembang.

Tubuh memiliki sistem pertahanan sistem enzimatis maupun non enzimatis untuk menetralkan pengaruh toksik senyawa ROS, sehingga ROS yang terbentuk hanya dalam jumlah kecil yang diperlukan tubuh untuk menjaga fungsi sel tetap normal. Stress oksidatif tersebut dapat dicegah dengan penggunaan antioksidan. Terapi antioksidan telah terbukti efektif dalam netralisasi ROS dan dalam pengelolaan stress oksidatif pada testis yang diinduksi infertilitas (Dosumu *et al.*, 2012). Salah satu tanaman yang memiliki senyawa antioksidan adalah bunga cengkeh.

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan salah satu tanaman rempah yang berasal dari Indonesia. Bunga cengkeh memiliki khasiat kegunaan yang bermacam macam. Secara historis cengkeh dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan kemudian sebagai bahan rempah-rempah, dan saat ini digunakan untuk berbagai keperluan (Rukmana, 2016).

Beberapa penelitian telah memanfaatkan bunga cengkeh melalui pengekstraksian cengkeh, karena kandungan fenoliknya yang berfungsi sebagai antioksidan alami. Salah satu antioksidan yang terkandung dalam bunga cengkeh adalah senyawa eugenol (Rorong, 2008).

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak metanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai antioksidan alami terhadap stress oksidatif pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) model unilateral kriptorkismus.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak metanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mempengaruhi ekspresi PGP 9.5 pada sel germinal testis tikus putih model unilateral kriptorkismus?
2. Apakah lama perlakuan mempengaruhi ekspresi PGP 9.5 pada sel germinal testis tikus putih model unilateral kriptorkismus?

1.3 Landasan Teori

Kriptorkismus adalah kegagalan satu (unilateral) atau kedua (bilateral) testis untuk turun ke dalam skrotum dalam kurun waktu tertentu. Kriptorkismus dikaitkan dengan berbagai tingkat endokrinopati yang melibatkan hipotalamus-hipofisis gonad yang dapat menyebabkan gangguan pubertas kecil dan maturasi genosit yang tidak sempurna (Hoecht, 2008).

Testis yang tidak turun secara lengkap ke dalam skrotum akan menyebabkan inflamasi kronik pada testis akibat suhu tinggi yang tidak sesuai bagi testis. Suhu testis yang tinggi atau diatas tingkat normal menghasilkan perubahan spermatogenesis karena efek panas yang menyebabkan stress oksidatif pada tubulus seminiferous (Komagai *et al.*, 2002; Azari *et al.*, 2013). Stress oksidatif berperan penting pada patologi akibat dari kriptorkismus. Stress oksidatif dalam sistem biologis berasal dari ketidakseimbangan antara ROS dan pertahanan antioksidan seluler (Aitken *and* Roman, 2008). ROS diproduksi secara berlebihan untuk menginduksi stress oksidatif yang dapat menghambat fungsi normal lipid seluler,

protein, DNA, dan RNA karena adanya gangguan pada keadaan yang tidak setimbang antara reaksi prooksidan-antioksidan (Gülçin, 2011).

Salah satu akibat dari stress oksidatif yang tidak terkontrol adalah kerusakan pada sel, jaringan, serta organ yang ditimbulkan oleh serangan oksidan dan menyebabkan timbulnya tumor (Ayala *et al.*, 2014). Sebagian besar tumor testis berasal dari sel germinal sedangkan sisanya berasal dari non germinal. Tumor germinal testis terdiri dari seminoma (SGCT = *seminoma germ cell tumor*) dan non seminoma (NSGCT = *non seminoma germ cell tumor*). Seminoma paling banyak dijumpai (sekitar 40%) dan disusul karsinoma sel embryonal dan teratoma (Chung PW *et al.*, 2010).

Metode deteksi antigen antibodi telah banyak dikembangkan salah satunya adalah imunohistokimia. Imunohistokimia adalah gabungan antara diagnosis histopatologi dengan diagnosis imunokimia yaitu diagnosis yang melibatkan reaksi antigen antibodi membentuk antigen kompleks (Putu dkk., 2009). Teknik imunohistokimia dapat digunakan untuk mempelajari distribusi enzim yang spesifik pada struktur sel normal, mendeteksi komponen sel, biomakromolekul seperti protein, karbohidrat (Balqis dkk., 2011).

Secara khusus, marker imunohistokimia sudah banyak diperkenalkan untuk menetapkan diagnosis histologis dan patogenesis tumor secara akurat, salah satunya adalah PGP 9.5. Protein *gene product* (PGP) 9.5 juga dikenal sebagai *ubiquitin C-terminal hydrolase 1* (UCHL-1). UCHL-1 diekspresikan tingkat tinggi secara khusus dalam gonad. Pada testis, UCHL-1 diekspresikan dalam gonosit pada 14 hari pasca kelahiran. Tetapi pada hari ke-8 dan ke-16 pasca kelahiran, UCHL-1

dilokalisasi secara ketat ke sel germinal dan spermatogonia (Kon *et al.*, 1999). Pada anjing yang diperiksa menggunakan PGP 9.5, sitoplasma lebih sedikit kurang tampak daripada *germ cell* normal atau pada *neoplastic germ cell*. Sedangkan untuk sel Sertoli dan sel Leydig tidak menunjukkan reaktivitas (Owston *and* Ramos-Vara, 2007). PGP 9.5 juga telah terdeteksi pada spermatogonia babi dan sel sperma kucing (Luo *et al.*, 2006; Suburo *et al.*, 2002)

Stress oksidatif akan bertambah parah jika terjadi ketidakseimbangan antara ROS yang dihasilkan dengan antioksidan dalam tubuh. Antioksidan adalah faktor pertahanan terhadap efek radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan tidak hanya menghilangkan ROS tetapi juga menyesuaikan keadaan redoks seluler dan mengaktifkan transduksi sinyal redoks. Antioksidan bertindak dengan cara menghambat langkah inisiasi dan propagasi, yang menyebabkan penghentian reaksi dan menunda proses oksidasi (Gülçin, 2011).

Cengkeh adalah salah satu jenis tanaman rempah-rempah yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena adanya kandungan eugenol yang cukup tinggi. Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* atau *Eugenia Aromaticum*), dalam bahasa Inggris disebut cloves, adalah tangkai bunga kering beraroma dari keluarga pohon Myrtaceae (Suryanto, 2012). Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung minyak atsiri, dan juga senyawa eugenol, asam oleanolat, asam galotanat, fenilin, kariofelin, resin dan gom (Laitupa *and* Susane, 2010). Eugenol memiliki aktivitas antioksidan yang efeknya sama dengan α -tokoferol dalam menghambat lipid peroksidasi, oksidasi LDL, dan lipoprotein berkepadatan sangat rendah (VLDL) (Ogata *et al.*, 2000; Rajalakshmi *et al.*, 2000). Eugenol mencegah kerusakan sel-sel

endotel akibat respon inflamasi serta meningkatkan aktivitas antioksidan untuk menghambat ROS (Rajalakshmi *et al.*, 2000).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak metanol bunga cengkeh (*Syzigium aromaticum*) terhadap ekspresi PGP 9.5 pada sel germinal testis tikus putih model unilateral kriptorkismus.
2. Mengetahui pengaruh lama perlakuan terhadap ekspresi PGP 9.5 pada sel germinal testis tikus putih model unilateral kriptorkismus.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat teoritis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah bagi peneliti, mahasiswa, dan masyarakat tentang pengaruh ekstrak metanol bunga cengkeh (*Syzigium aromaticum*) terhadap ekspresi PGP 9.5 pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) model unilateral kriptorkismus.

1.5.2 Manfaat praktis

Manfaat praktis dalam penelitian ini adalah diharapkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat ditindak lanjuti untuk penerapan pada hewan kecil ataupun hewan besar, dan bermanfaat dalam bidang kesehatan hewan.

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Pemberian ekstrak metanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mempengaruhi ekspresi PGP 9.5 pada sel germinal testis tikus putih (*Rattus novergicus*) model unilateral kriptorkismus.
2. Lama perlakuan mempengaruhi ekspresi PGP 9.5 pada sel germinal testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) model unilateral kriptorkismus.