

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Kriptorkismus adalah suatu keadaan gagalnya salah satu atau kedua testis untuk turun ke dalam skrotum. Testis yang tidak turun mungkin terletak di dalam kanalis inguinalis, di rongga perut, atau di samping penis dan preputium di dasar skrotum. Kriptorkismus biasanya hanya melibatkan satu testis dan lebih cenderung memengaruhi testis kanan karena testis kanan berkembang pada posisi yang lebih kranial dan memiliki jarak yang lebih jauh dengan skrotum. Keadaan ini merupakan anomali kongenital dengan prevalensi sekitar 1-10% pada anjing dan 2% pada kucing (Bright, 2011). Pada hewan, kriptorkismus lebih sering terjadi pada kuda, kucing, anjing, dan babi dibandingkan dengan spesies lainnya. Prevalensi kriptorkismus pada hewan dilaporkan sekitar 0,1-12% (Mahmud *et al.*, 2014). Pada manusia, prevalensi bayi laki-laki dengan berat lahir lebih dari 2,5 kg telah dilaporkan berkisar antara 1,8-8,4%, pada usia 3 bulan dan 1 tahun masing-masing 0,9-1,6 dan 1,0-1,5%, sementara anak laki-laki dengan kelahiran prematur dan/atau berat badan lahir rendah sekitar 1,1-45,3%. (Rodraprasert *et al.*, 2020).

Peningkatan suhu di atas tingkat normal, seperti pada keadaan kriptorkismus akan menyebabkan kematian atau malfungsi pada sebagian besar jenis sel di testis. Sel germinal testis, khususnya spermatosit dan spermatid akan mati karena apoptosis. Fungsi sel Sertoli, sel Leydig, dan aliran darah serta permeabilitas vaskular pun akan berubah (Bergh, 2007). Pada kriptorkismus unilateral, satu testis yang turun kemungkinan masih dapat menghasilkan sperma, sementara hewan kriptorkismus bilateral akan menjadi steril. Hal ini menjadikan

hewan dengan kriptorkismus unilateral masih bisa bereproduksi. Namun, testis yang tertahan akan lebih rentan terhadap aktivitas stres oksidatif pada tubulus seminiferus (Spangenberg, 2021).

Temperatur yang tinggi pada model hewan kriptorkismus menyebabkan tingginya produksi *reactive oxygen species* (ROS) sebagai hasil dari reduksi pada aktivitas *superoxide dismutase* (SOD) di jaringan testikular. Tingginya konsentrasi ROS pada testis kriptorkismus merupakan faktor utama dari risiko muncul dan berkembangnya tumor testikular (Khan *et al.*, 2018). Sel Sertoli pada testis kriptorkismus memiliki potensi untuk berproliferasi lebih cepat, sehingga prevalensi tumor sel Sertoli pada testis kriptorkismus terbilang tinggi (Moon *et al.*, 2014). Sebagian besar sel yang berproliferasi pada testis kriptorkismus dapat diidentifikasi menggunakan metode imunohistokimia. Imunoreaktivitas tumor sel Sertoli telah menunjukkan bahwa ekspresi inhibin alpha dan vimentin memiliki imunoreaktivitas yang paling tinggi di antara antibodi lain (Yu *et al.*, 2009).

Tindakan umum yang dilakukan pada kasus kriptorkismus adalah dengan orchiectomy. Orchiectomy adalah tindakan bedah pengambilan testis (Tophianong dan Utami, 2019). Dalam kedokteran hewan, selain mengurangi risiko neoplasia, perhatian utama lainnya adalah hewan dapat menurunkan kelainan ini pada keturunannya. Alasan ini menjadikan orchiectomy menjadi pilihan utama untuk terapi yang paling umum pada kriptorkismus. Namun, prosedur orchiectomy atau kastrasi telah dikaitkan dengan perubahan metabolisme dan predisposisi kenaikan berat badan pada anjing. Menurut penelitian Triakoso dan Isnaini (2012) anjing ras murni 4,35 lebih berisiko mengalami obesitas dibanding ras campuran. Anjing

dengan kelebihan berat badan memiliki peningkatan risiko untuk berbagai kondisi kesehatan seperti *hip dysplasia*, *cruciate ligament* (cedera ligamen), dan hipotiroidisme (Oberbauer *et al.*, 2019). Penggunaan antioksidan tambahan menjadi salah satu alternatif yang dianjurkan untuk melawan efek buruk dan risiko neoplasia akibat stres oksidatif tersebut (Asadi *et al.*, 2017).

Cengkih (*Syzygium aromaticum*) telah digunakan sebagai bahan untuk pengawet makanan dan pengobatan selama berabad-abad. Tanaman ini berasal dari Indonesia, tetapi saat ini dibudidayakan di beberapa belahan dunia termasuk Brazil di negara bagian Bahia. Pohon cengkih dibudidayakan di pulau Tanzania (Pemba dan Zanzibar), Madagaskar, Kepulauan Komoro, dan Sri Lanka, tetapi produsen utamanya adalah Indonesia (Riptanti *et al.*, 2019). Iklim tropis di Indonesia membuat cengkih dapat bertumbuh baik karena cengkih merupakan tanaman tropis dan membutuhkan iklim yang lembab dan hangat (Thangaselvabai *et al.*, 2010). Cengkih merupakan salah satu rempah yang cukup menarik perhatian karena memiliki sifat antioksidan kuat di antara rempah lainnya. Tanaman ini merupakan salah satu sumber terkaya senyawa fenolik seperti eugenol, eugenol asetat dan asam galat (Cortés-Rojas *et al.*, 2014). Eugenol sebagai antioksidan dapat mendonor hidrogen yang kuat dan efektivitasnya sebagai *scavenger* dari hidrogen peroksida, superoksida dan radikal bebas lainnya (Shan *et al.*, 2005). Senyawa eugenol memiliki potensi terapi dengan menghambat transisi epitelial mesenkim (EMT) yang dapat menurunkan kemampuan sel untuk bermigrasi (Permatasari *et al.*, 2020).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti ingin meneliti terkait pengaruh pemberian ekstrak metanol bunga cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap ekspresi Vimentin pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) model kriptorkismus.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah: Apakah pemberian ekstrak metanol bunga cengkih (*Syzygium aromaticum*) dapat mengurangi ekspresi Vimentin pada sel Sertoli testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) model unilateral kriptorkismus?

1.3 Landasan Teori

Kriptorkismus berasal dari bahasa Yunani *cryptos*, yang berarti tersembunyi dan bahasa latin *orchis*, yang artinya testis. Kriptorkismus secara sederhana diartikan sebagai tidak turunnya satu atau kedua testis ke dalam skrotum. Keadaan ini merupakan cacat lahir yang paling umum pada alat genital jantan. Etiologi definitif kriptorkismus masih belum diketahui, tetapi kelainan ini dianggap multifaktorial karena faktor endokrin, lingkungan, genetik, anatomi, dan mekanik kemungkinan terlibat dalam perkembangannya. Beberapa hormon seperti hormon turunan sel Leydig, testosteron, dan *insulin-like factor 3* (INSL3) diduga berperan dalam penurunan testis. Faktor genetik kriptorkismus telah dibuktikan pada hewan, namun pada manusia belum ada penelitian yang mengatakan adanya hubungan genetik dengan kriptorkismus (Fawzy *et al.*, 2015).

Gagalnya testis untuk turun ke ruang skrotum akan meningkatkan risiko terjadinya neoplasia, yang paling umum pada anjing dan kuda adalah tumor pada sel Sertoli dengan angka risiko sekitar 53%. Beberapa hipotesis mengatakan bahwa adanya pengaruh suhu tubuh merupakan faktor predisposisi terjadinya neoplasia dari sel yang berada di dalam testis, utamanya tumor sel Sertoli (Tophianong dan Utami, 2019). Sel Sertoli adalah sel somatik primer yang membentuk tubulus seminiferus (Skinner, 2005). Sel sertoli terdapat di antara sel-sel spermatogenik, berbentuk silindris tinggi dan duduk pada lamina basalis dari tubulus seminiferus. Cekungan pada sisi sel Sertoli merupakan tempat melekatnya sel-sel spermatogenik. Sitoplasma tampak fibriler dan kadang terlihat badan kristaloid yang terdiri dari protein di sekitar inti. Dua sel sertoli yang berdekatan mempunyai hubungan *tight junction* yang bersama-sama dengan jaringan peritubuler membentuk sawar darah testis (Hestianah dkk., 2014). Sel Sertoli memiliki fungsi merawat sel spermatozoa yang baru saja terbentuk, menghasilkan semacam hormon (inhibin), menghasilkan protein pembawa hormon jantan (ABP = *Androgen Binding Protein*), dan menghasilkan cairan testis (Ismudiono dkk., 2010).

Tumor sel Sertoli adalah salah satu dari tiga jenis utama dari tumor testis. Tumor lainnya adalah seminoma dan tumor sel Leydig. Pada anjing jantan, tumor testis merupakan salah satu neoplasma yang paling umum terjadi. Tumor sel sertoli muncul dari sel-sel pendukung tubulus seminiferus. Tumor sel Sertoli tumbuh secara lambat, non-invasif dengan tingkat keganasan rendah. Namun, kemungkinan menjadi ganas meningkat ketika tumor terjadi pada testis yang

tertahan di dalam rongga perut. Di antara semua tumor genital pada anjing, tumor testis memiliki angka kejadian >90% kasus. Selain banyak ditemukan pada anjing, tumor ini juga telah dilaporkan pada kuda, sapi, domba, kambing, dan kucing jantan (Kisani *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2009).

Tingginya tingkat neoplasma testis membuat banyak penelitian membahas tentang diagnosis dan manajemen tumor testis yang lebih akurat. Secara khusus, banyak marker imunohistokimia yang telah diperkenalkan untuk menetapkan diagnosis histologis dan untuk menyelidiki patogenesis tumor secara akurat (Yu *et al.*, 2009). Teknik pewarnaan imunohistokimia bergantung pada ikatan antara antigen dan antibodi pada tingkat protein secara spesifik (Kalanjati, 2014). Vimentin adalah salah satu marker imunohistokimia yang merupakan komponen utama dari keluarga filamen intermediat protein. Ekspresinya telah ditemukan di banyak sel kanker epitel. Ekspresi imun Vimentin digunakan untuk mengevaluasi imunofenotip yang mencerminkan transisi epitelial mesenkimal (EMT) pada neoplasma epitel. Transisi ini merupakan suatu mekanisme pada morfogenesis yang mengubah sel epitelial menjadi sel mesenkimal yang bersifat sementara maupun permanen dan memiliki peran pada fibrosis dan pertumbuhan sel kanker (Al Maghrabi, 2020). Peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) pada beberapa jenis sel kanker diketahui terlibat dalam proses patologis kanker dan telah dikaitkan dengan induksi EMT), sebagaimana dibuktikan dengan penurunan molekul terkait adhesi sel seperti E-cadherin, dan peningkatan marker mesenkim seperti Vimentin (Barnett *et al.*, 2011). Protein Vimentin juga memiliki peran utama dalam inisiasi dan perkembangan kanker seperti EMT dan metastasis. Stres

oksidatif yang disebabkan oleh *Hypoxia Inducible Factor-1* (HIF-1) mengatur transkripsi gen Vimentin yang membantu dalam pembentukan invadopodia selama invasi dan migrasi sel kanker. Diketahui bahwa sel epitel dapat bermigrasi secara kolektif melalui proses EMT dan bermigrasi secara individual dalam bentuk sel mesenkim. Dengan penghambatan EMT, migrasi dari sel kanker juga akan terhambat (Permatasari *et al.*, 2020). Maka dari itu penghambatan ekspresi Vimentin dapat mengurangi metastasis sel dan karenanya dapat mengurangi volume tumor (Aggarwal *et al.*, 2019).

Cengkih (*Syzygium aromaticum*) memiliki banyak kegunaan mulai dari bidang kuliner hingga pengobatan. Cengkih memiliki sifat antioksidan, anti jamur, anti virus, anti mikroba, anti diabetes, anti inflamasi, antitrombotik, anestesi, penghilang rasa sakit, hingga dapat dijadikan sebagai pengusir serangga. Eugenol merupakan kandungan utama yang bertanggung jawab atas khasiat yang dimiliki cengkih (Milind *and* Deepa, 2011). Eugenol memiliki beberapa aktivitas antioksidan seperti, dimerisasi, daur ulang dan efek *chelating*, sehingga memiliki potensi untuk meringankan dan mencegah kebanyakan penyakit kronis, termasuk kanker (Kubatka *et al.*, 2017). Eugenol juga merupakan salah satu molekul yang berpotensi dapat mengganggu beberapa *cell-signaling pathways*, khususnya *nuclear factor kappa B* (NF-KB) (Cortés-Rojas *et al.*, 2014). Senyawa eugenol memiliki potensi terapi dengan menghambat transisi epitelial mesenkim (EMT) yang dapat menurunkan kemampuan sel untuk bermigrasi (Permatasari *et al.*, 2020). Faktor ini diaktifkan oleh radikal bebas dan menghasilkan ekspresi gen yang menekan apoptosis dan menginduksi transformasi seluler, proliferasi, invasi,

metastasis di antara yang lain. Potensi antioksidan pada cengkih lebih tinggi daripada rempah lainnya. Cengkih sebagai antioksidan dapat membantu tubuh untuk melawan radikal bebas, yang merusak sel-sel dan yang dapat menyebabkan penyakit (Cortés-Rojas *et al.*, 2014).

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan: Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap ekspresi vimentin pada sel Sertoli testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) model kriptorkismus.

1.5 Manfaat Hasil Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan baru mengenai potensi penggunaan ekstrak metanol bunga cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap ekspresi Vimentin pada sel Sertoli testis kriptorkismus.

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah: Pemberian ekstrak metanol bunga cengkih (*Syzygium aromaticum*) dapat mengurangi ekspresi Vimentin pada sel Sertoli tikus putih (*Rattus norvegicus*) model kriptorkismus.