

Terapi Testosteron Meningkatkan Jumlah Sel Leydig dan Spermatogenesis Mencit (*Mus Musculus*) yang Mengalami Hiperlipidemia

^{1*} Anak Agung Ayu Putri Permatasari dan ¹I Gede Widhiantara

¹ Fakultas Ilmu Kesehatan Sains dan Teknologi, Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali, Indonesia.

*Email: putripermatasari@undhirabali.ac.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh data dan informasi mengenai efek pemberian terapi testosteron untuk meningkatkan jumlah sel Leydig dan sel sel spermatogenik pada mencit yang mengalami hiperlipidemia. Sampel dalam penelitian ini adalah mencit jantan dewasa strain Balb-C umur 2 – 3 bulan dengan kisaran berat badan 20-25 gram, sebanyak 24 ekor mencit secara random dibagi dua kelompok yaitu 12 ekor mencit kelompok kontrol (hiperlipidemia dan terapi aquadest steril) dan 12 ekor mencit kelompok perlakuan (hiperlipidemia dan terapi testosteron secara intramuscular). Sebelum perlakuan, mencit-mencit tersebut dibuat hiperlipidemia dengan memberi makanan lemak babi selama 30 hari. Pada *pretest* dilakukan pemeriksaan jumlah sel Leydig dan sel-sel spermatogenik secara histopatologi kelompok mencit hiperlipidemia sebanyak 6 ekor, dan 6 ekor sisanya merupakan *posttest* setelah diberikan perlakuan terapi aquadest pada kelompok kontrol dan testosteron selama 30 hari pada kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan jumlah sel Leydig dan sel-sel spermatogenik secara bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok hiperlipidemia dan setelah diberi terapi testosteron menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel Leydig dan sel-sel spermatogenik secara bermakna ($p < 0,05$) apabila dibandingkan dengan kelompok hiperlipidemia. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terapi testosteron dapat meningkatkan jumlah sel Leydig dan sel-sel spermatogenik pada mencit yang mengalami hiperlipidemia.

Kata kunci : Testoseron, Sel Leydig, Spermatogenesis, Mencit, Hiperlipidemia

ABSTRACT

*This study aims to look at the histopathologic features of corpus muscle cavernosum penis wistar rat (*Rattus norvegicus*) hyperlipidemia seen in terms of thickness as well as a picture of tissue abnormality. Hyperlipidemia is a risk factor for erectile dysfunction atherosclerosis in men. This research is an experimental research with one group pretest - posttest design. Samples in this study were adult male aged 3-4 months wistar rats with a weight range 150-200 grams, as many as 10 tails. Prior to treatment, surgery was performed for histopathology of 5-tailed rat samples at pretest. Sample mice were made hyperhidemic by feeding pig fat for 50 days. Then performed surgery for histopathological preparation of corpus cavernosum muscle in posttest. The histopathological data of the corpus muscle of the wistar rat cavernosum was analyzed descriptively by comparing the pretest condition with posttest. The mean data of corpus cavernosum muscle thickness before and after treatment were analyzed statistically to see the level of difference in the pretest group with posttest.*

Kata kunci : Testoseron, Sel Leydig, Spermatogenesis, Mencit, Hiperlipidemia

PENDAHULUAN

Kebutuhan dan derajat kehidupan meningkat disebabkan oleh terjadinya perubahan gaya hidup masyarakat. Perubahan tersebut juga terjadi pada banyak aspek

kehidupan termasuk pada pola makan. Kecenderungan mengkonsumsi makanan berlemak dan berkolesterol tinggi berisiko menyebabkan peningkatan kadar lipid dalam darah yang dikenal dengan istilah

hiperlipidemia. Gambaran klinis yang paling sering didapatkan berupa peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL serta penurunan kadar HDL (Almatsier, 2004).

Hiperlipidemia adalah suatu kondisi kadar lipid darah yang melebihi kadar normalnya, dengan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang tinggi dan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) yang rendah. Hiperlipidemia disebut juga peningkatan lemak dalam darah yang disertai dengan peningkatan beberapa fraksi lipoprotein, disebut juga hiperlipoproteinemia. Hiperlipidemia dapat berupa hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia (Almatsier, 2004; Kumalasari, 2005). Peningkatan kolesterol dalam jaringan tubuh dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal oksigen (ROS) dan lipid peroksidasi. Hal ini menjadi faktor penting dalam perkembangan abnormal sel-sel pada organ tubuh. Keadaan hiperlipidemia berkorelasi positif dengan timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti PJK (penyakit jantung koroner), diabetes melitus, kanker, obesitas, dislipidemia, stroke, hingga menurunkan fungsi reproduksi pria (infertilitas). Beberapa dampak hiperlipidemia pada sistem reproduksi pria antara lain; penurunan motilitas spermatozoa, abnormalitas morfologi spermatozoa, hambatan sekresi hormone testosterone serta LH (*Luteinizing Hormone*), degenerasi sel leydig dan gangguan spermatogenesis (Bashandy, 2006).

Beberapa penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan kadar lipid yang berperan dalam pembentukan radikal bebas yang dapat berpengaruh pada sistem reproduksi pria. Kondisi hiperkolesterolemia pada tikus berperan penting dalam peningkatan produksi radikal bebas dan ketidaksesuaian perkembangan lipid peroksida pada tingkat jaringan. Keadaan tersebut memicu yang disebut dengan stress oksidatif yang merupakan suatu patofisiologi infertilitas pada pria (Agarwal, 2005).

Terapi sulih testosteron dikembangkan oleh para ahli untuk mengatasi berbagai keluhan pada fungsi reproduksi pria. Berbagai perapararat sulih testosteron kini telah dikembangkan yang dapat digunakan secara oral dalam bentuk tablet, suntikan, aplikasi nasal, inplan, dan transdermal (Eckardstein

and Neischlag, 2002). Beberapa penelitian mengenai manfaat terapi testosteron pada sistem reproduksi jantan antara lain; pada tikus yang dikastrasi ditemukan terjadi perbaikan *corvus cavernosum* penis dengan terapi testosteron selama 30 hari Zhang *et al.*, (2005). Pada sel Leydig, testosteron berperan menstimulasi diferensiasi sel muda menjadi sel dewasa (Mandis-Handagama *et.al*, 1998) dan berperan penting menjaga morfologi sel Leydig muda yang berada pada tahap perkembangan (Misro, *et al.*, 2008). Widhiantara (2010) menemukan terapi testosteron selama 30 hari dapat meningkatkan jumlah sel leydig pada mencit yang rusak akibat terpapar asap rokok.

Hormon testosteron memiliki fungsi reproduksi dan non reproduksi pada pria. Testosteron mengontrol perkembangan organ reproduksi dan tanda seks sekunder pada pria berupa pembesaran laring, perubahan suara, pertumbuhan rambut ketiak, pubis, dada, kumis dan jenggot serta untuk pertumbuhan otot dan tulang (Guyton, 2001). Peran vital testosteron adalah pada proses spermatogenesis dimana testosteron sangat diperlukan pada saat pembelahan sel-sel germinal untuk pembentukan spermatozoa, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder. (Ascobat, 2008). Jika kekurangan hormon ini dapat menimbulkan berbagai keluhan pada fungsi reproduksi pria (Pangkahila, 2007). Pada sel Leydig, testosteron berperan menstimulasi diferensiasi sel muda menjadi sel dewasa (Mendis-Handagama *et.al*, 1998) dan berperan penting menjaga morfologi sel Leydig muda yang berada pada tahap perkembangan (Misro, *et al.*, 2008).

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian mengenai efek terapi testosteron pada jumlah sel Leydig dan spermatogenesis yang menurun akibat kondisi hiperlipidemia. Hasil penelitian ini dapat dijadikan referensi baru dalam mencari solusi masalah infertilitas pada pria yang memiliki pola makan tinggi kolesterol dan lemak.

METODE

Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi persiapan alat dan bahan. Persiapan hewan coba yaitu

mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.

Metode Penelitian

Mencit dibagi menjadi 2 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 12 ekor mencit. Pemberian diet lemak babi dilakukan pada kelompok kontrol (*pre test*) selama 30 hari setelah mencit diaklimatisasi selama 7 hari. Kemudian pada kelompok kontrol (*post test*) diberikan aquadest steril. Pada kelompok perlakuan (*pre test*) diberikan diet lemak babi sebanyak 2 ml/hari dan pada kelompok perlakuan (*posttest*) diberikan hormon testosteron secara intramuskular sebanyak 0,65mg/ 20g berat badan mencit selama 30 hari sesuai dengan penelitian oleh Widhiantara (2010).

Setelah 30 hari mencit kelompok kontrol dan perlakuan dieutisasi dengan menggunakan eter kemudian dibedah dan dibuat sediaan histopatologi testis kemudian dilakukan pengamatan terhadap jumlah sel Leydig, spermatogonium A, spermatosit pakhiten, spermatid 7, dan spermatid 16.

Variabel penelitian

Variabel dari penelitian ini yaitu jumlah sel Leydig dan spermatogenesis yaitu jumlah spermatogonium A, spermatosit pakhiten, spermatid 7, dan spermatid 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit yang hiperlipidemia mengalami penurunan jumlah sel Leydig dan jumlah sel sel spermatogenik yaitu mengalami penurunan jumlah spermatogonium A, spermatosit primer, spermatid 7, dan spermatid 16. Setelah pemberian terapi hormon testosteron selama 30 hari, jumlah sel Leydig dan sel sel spermatogenik mengalami peningkatan secara bermakna.

Analisis beda diuji berdasarkan jumlah sel spermatogenik dan sel Leydig sebelum dan sesudah diberikan perlakuan berupa terapi testosteron. Hasil analisis dengan uji *t*-paired disajikan pada tabel berikut.

Tabel 1. Jumlah spermatogonium A antar kelompok sebelum dan sesudah diberikan perlakuan

Subjek	N	Sebelum	Sesudah	t	p
Control	6	362 ± 2,71	363 ± 1,67	-0,6	0,55
Perlakuan	6	359 ± 2,73	377 ± 4,11	-9,7	0,00

Spermatogonium A pada kelompok kontrol, sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan $p = 0,55$, sedangkan pada kelompok perlakuan menunjukkan $p = 0,00$.

Hal ini menunjukkan bahwa jumlah spermatogonium A sebelum dan sesudah diberikan perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan $p < 0,05$.

Tabel 2. Jumlah Spermatosit Pakhiten antar kelompok sebelum dan sesudah perlakuan

Subjek	N	Sebelum	Sesudah	t	p
Control	6	224 ± 5,46	217 ± 4,66	1,98	0,10
Perlakuan	6	220 ± 6,70	454 ± 9,38	-38,7	0,00

Spermatosit pakhiten pada kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna yaitu $p = 0,10$, dan pada

kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan bermakna setelah pemberian hormon dengan nilai $p = 0,00$.

Tabel 3. Jumlah Spermatid 7 antar kelompok sebelum dan sesudah perlakuan

Subjek	N	Sebelum	Sesudah	t	p
Control	6	431 ± 12,5	429 ± 12,5	1,24	0,26
Perlakuan	6	430 ± 17,2	817 ± 5,45	-53,5	0,00

Spermatid 7 sebelum perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $p=0,26$ dan setelah

perlakuan pemberian hormon testosteron menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,00$.

Tabel 4. Jumlah Spermatid 16 antar kelompok sebelum dan sesudah perlakuan

Subjek	N	Sebelum	Sesudah	t	p
Control	6	178 ± 3,50	181 ± 4,14	1,24	0,27
Perlakuan	6	183 ± 4,27	475 ± 10,09	-53,5	0,00

Jumlah Spermatid 16 sebelum perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $p=0,27$ dan

setelah perlakuan pemberian hormon testosteron menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,00$.

Tabel 5. Jumlah Sel Leydig antar kelompok sebelum dan sesudah perlakuan

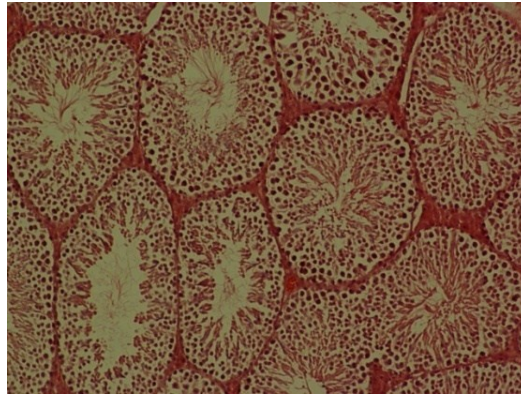
Subjek	N	sebelum	sesudah	t	P
Control	6	18,33 ± 3,8	18,33 ± 4,96	0,00	1,00
Perlakuan	6	19,67 ± 5,61	52 ± 3,57	-10,48	0,00

Jumlah sel Leydig sebelum perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $p=1,00$ dan setelah perlakuan pemberian hormon testosteron menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,00$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan terapi hormon testosteron memberikan efek yang sangat bermakna terhadap mencit yang mengalami hiperlipidemia. Jumlah spermatogonium A, jumlah spermatosit pakhiten, spermatid 7, spermatid 16 dan jumlah sel Leydig pada kelompok terapi hormon menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit yang hiperlipidemia.

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian lemak babi sebanyak 2mL/ hari selama 30 hari menyebabkan terjadinya hiperlipidemia. Pada mencit hiperlipidemia jumlah sel spermatogenik dan sel Leydig mengalami penurunan secara signifikan.

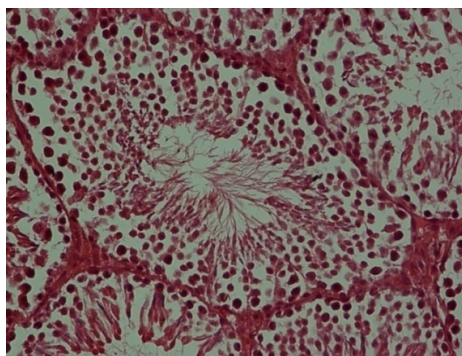
Penurunan jumlah sel-sel spermatogonium disebabkan karena terjadinya gangguan pada proses spermatogenesis yaitu adanya hambatan terhadap sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) yang berfungsi mempertahankan spermatogenesis dengan cara meningkatkan daya tahan spermatogonia dari pengaruh luar. Menurut Sherwood (2001), FSH berperan penting dalam tahap awal pembentukan dan perkembangan sel-sel spermatogenik yaitu spermatogonium A dan spermatosit primer. Selain itu mencit hiperlipidemia akan mengalami penurunan testosteron plasma karena terjadinya degenerasi sel Leydig atau karena penurunan kadar LH. Pada sel Leydig, testosteron berperan menstimulasi diferensiasi sel muda menjadi sel dewasa (Mandis-Handagama *et.al*, 1998) dan berperan penting menjaga morfologi sel Leydig muda yang berada pada tahap perkembangan (Misro, *et al.*, 2008).



Gambar 1. Tubulus Seminiferus

Kondisi hiperlipidemia juga menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah oksigen radikal atau ROS dan peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan terjadinya kematian sel. (Mendis-Handagama *et.al*, 1998). Mekanisme utama pada peroksidasi lipid oleh ROS adalah rusaknya membrane spermatozoa dan spermatozoa yang abnormal juga akan memproduksi ROS sehingga jumlah ROS semakin meningkat. ROS berpotensi toksik terhadap kualitas dan fungsi sperma. Spermatozoa mudah terserang oleh induksi stress oksidatif karena dalam membrane plasmanya banyak terkandung asam lemak. Stress oksidatif berperan sebagai mediator dalam kerusakan membrane plasma dan menginduksi peroksidasi lipid yang menyebabkan terjadinya abnormalitas pada morfologi spermatozoa. Stress oksidatif juga menginduksi kerusakan DNA yang mempercepat apoptosis sel epitel germinal sehingga jumlah sel sel spermatogenik mengalami penurunan (Sikka *et.al*, 1993).

Peningkatan ROS berbanding searah dengan peningkatan konsentrasri LDL pada pasien hiperlipidemia dan berbanding terbalik dengan konsentrasi HDL. Hal inilah memacu timbulnya stres oksidatif. Stres oksidatif timbul sebagai konsekuensi peningkatan yang berlebihan dari produksi ROS dan terganggunya mekanisme pertahanan oleh antioksidan. ROS berpotensi toksik terhadap kualitas spermatozoa dan fungsi sperma. Spermatozoa mudah terserang oleh induksi stress oksidatif karena dalam membran plasmanya banyak terkandung asam lemak. Stres oksidatif berperan sebagai mediator kerusakan pada membran plasma, sehingga mengurangi kualitas sperma. ROS menginduksi lipid peroksidasi yang merupakan agen penyebab perubahan morfologi sperma. Stres oksidatif menginduksi kerusakan DNA yang mempercepat apoptosis sel epitel germinal sehingga menurunkan jumlah sperma (Soehadi, 2006).



Gambar 2. Sel-sel Spermatogenik dan Sel Leydig

Pada penelitian ini dilakukan terapi hormone testosterone sebanyak 0,65mg/20g BB mencit selama 30 hari pada mencit hiperlipidemia dan menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah sel sel spermatogenik dan jumlah sel Leydig secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa tetosteron mempunyai efek regeneratif dan akan meningkatkan sekresi testosterone yang mengalami penurunan, sehingga mempengaruhi proses spermatogenesis dalam pembentukan sel sel spermatogenik meliputi spermatogonium A, spermatosit primer, spermatosit 7 dan spermatid 16 dan sel Leydig. Testosterone membantu mengaktifkan enzim-enzim steroidogenesis seperti P450_{c17} dan 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSD) yang menunjang aktivitas diferensiasi sel Leydig. Pada masa pubertas akan terjadi peningkatan sekresi GnRh oleh hipotalamus, sehingga terjadi peningkatan sekresi FSH dan LH oleh hipofisis. FSH berperan dalam proses spermatogenesis dan LH berperan dalam menstimulasi sel Leydig untuk memproduksi testosterone dan sel sertoli berperan dalam spermatogenesis (Mendis-Handagama *et. al*, 1998).

SIMPULAN

Pemberian terapi testosterone sebanyak 0,65mg/ 20g BB selama 30 hari pada mencit yang mengalami hiperlipidemia meningkatkan jumlah sel Leydig dan spermatogenesis secara signifikan.

REFERENSI

Agarwal A, Said TM. 2005, *Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach*. BJUI; 95: 503-7

Almatsier S. 2004. *Penuntutan Diet*. Edisi baru. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

Ascobat P. 2008. *Androgen, antiandrogen & Anabolik Steroid*. Dalam : *Farmakologi dan Terapi edisi 5 FKUI*. Gaya Baru. Jakarta: 456-466

Bashandy A.E.S. 2006. *Effect of fixed oil Nigella sativa on male fertility in*

normal and hyperlipidemic rats. Intl. J. Pharmacol. 2(1): 104-109

Eckardstein, S. V. and Nieschlag, E. 2002. *Treatment of Male Hypogonadism With Testosterone Undecanoate Injected at Extended Intervals of 12 Weeks: A Phase II Study*. Journal of Andrology, Vol. 23, No. 3

Guyton, A. C. and Hall, J. E. 2001. *Reproductive and Hormonal Functions of The Male (and Function of The Pineal Gland)*, In: Textbook of Medical Physiology. W. B. Saunders, Philadelphia

Kumalasari, N. D. 2005. *Pengaruh Berbagai Dosis Filtrat Daun Putri Malu (Mimosa pudica) terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus (Rattus norvegicus)*. Skripsi tidak Diterbitkan. Malang: Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan MIPA FKIP UMM.

Mandis-Handagama, S.M.L.C., H.B.S. Ariyaratne, K.R. Teunissen Van Manen, and R.L. Haupt.1998. *Differentiation of adult Leydig Cells in the neonatal rat testis is arrested by hypothyroidism*. Biol Reprod. 59:351-357

Misro M. M., Ganguly A. R. Das P. 2008. *Is Testosterone Essential for Maintenance of Normal Morphology in Immature Rat Leydig Cells?*. International Journal of Andrology. Volume 16 Issue 3, Pages 221 – 226

Pangkahila, W. 2007. *Anti-Aging Medicine. Memperlambat Penuaan Meningkatkan Kualitas Hidup*. Penerbit Buku Kompas. Jakarta

Soehadi, K. 2006. *Diabetes Melitus Pria Profil Spermiogram, Hormon Reproduksi dan Potensi Seks*. Surabaya. Airlangga University Press.

Widhiantara, 2010. *Terapi Testosterone dan LH (Luteinizing Hormone) meningkatkan Jumlah Sel Leydig Mencit yang Menurun Akibat Paparan Asap Rokok*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Program Studi Ilmu Biomedik. Universitas udayana. Denpasar.

- Zhang, X. Morelli, A. Luconi, M. Vignozzi, L. Filippi, S. Marini, M. Vannelli, G. B. Mancina, R. Forti, G. and Maggi, M. 2005. *Testosterone Regulates PDE5 Expression and in vivo Responsiveness to Tadalafil in Rat Corpus Cavernosum*. European Urology Volume 47, Issue 3
- Sikka, S.C. W.J.G. Hellstrom, & R K. Naz. 1993. *Pentoxifylline: Role Management of Male Infertility/ mechanism of action*. Mol. Androl 5, 220-231
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Ed. 2. Jakarta.