

PENGARUH TORSIO TESTIS TERHADAP GANGGUAN PROSES SPERMATOGENESIS PADA TESTIS TIKUS (*Rattus norvegicus*)

¹Nora Adliyanti Basar, ²Dahril, ³Tita Menawati, ⁴Fajriah

¹Mahasiswa Kepaniteraan Klinik Senior Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

²Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala/ Rumah Sakit Umum dr. Zainoel Abidin, Banda Aceh

³Bagian Family Medicine Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

⁴Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

Email : fajriah_ab@yahoo.com

Abstrak. Torsio testis adalah terputusnya atau melilitnya korda spermatika, yang menyebabkan terputusnya aliran darah ke testis dan struktur jaringan di dalam skrotum. Penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi efek variasi durasi waktu torsio testis terhadap proses spermatogenesis yang meliputi: jumlah sel Sertoli, spermatogonia, spermatosit primer, dan *round* spermatid testis *Rattus norvegicus* dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan dibagi dalam 3 kelompok yaitu kontrol (KO) dan perlakuan (P1 dan P2). Kelompok perlakuan diinduksi torsio 360o pada testis kiri selama 4 dan 8 jam. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus yang diamati langsung (efek cepat) dan 5 ekor tikus yang diamati setelah 30 hari dilakukan detorsi (efek lambat). Data dianalisa dengan metode ANOVA multifaktorial dan dilanjutkan dengan uji *Tuckey HSD*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah sel Sertoli pada KO: $142,00 \pm 12,36$; P1: $48,40 \pm 8,00$; P2: $35,70 \pm 16,28$, rerata jumlah spermatogonia KO: $975,30 \pm 95,12$; P1: $563,70 \pm 170,44$; P2: $321,10 \pm 181,20$, rerata jumlah spermatosit primer KO: $1307,50 \pm 87,57$; P1: $881,50 \pm 253,65$; P2: $505,80 \pm 163,69$, rerata *round* spermatid KO: $1237,20 \pm 148,75$; P1: $766,10 \pm 277,68$; P2: $473,00 \pm 133,25$. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa torsio testis selama 4 dan 8 jam mengakibatkan perubahan jumlah sel Sertoli, spermatogonia, spermatosit primer, dan *round* spermatid ($P < 0,05$). Diharapkan, penanganan segera kasus torsio testis dapat menurunkan angka kerusakan testis. (JKS 2017; 2: 84-92)

Kata kunci : torsio testis, proses spermatogenesis, jumlah sel Sertoli

Abstract. Testicular torsion is the spermatic cord twisted, which causes the interruption of blood flow to the testicles and structures within the scrotum. The research was subjected to identify the effect of various duration of testicular torsion to spermatogenesis process include on the amount of Sertoli cells, spermatogonia, primary spermatocytes, and spermatids round of *Rattus norvegicus* testes. This experimental research using completely randomized design (CRD) and contains of 3 groups: control (KO) and experimental groups (P1 and P2). The experimental groups which contains 20 rats underwent 360o unilateral left testicular torsion for 4 hours (P1) and 8 hours (P2). Five rats for each groups were examined after testicular torsion induced (short term effect) besides five other remained were examined after 30 days testicular torsion repaired (long term effect). Data were analyzed using ANOVA multifactorial followed by *Tuckey's HSD* test. The result showed significant differences ($P < 0,05$). Between KO: 142.00 ± 12.36 ; P1: 48.40 ± 8.00 ; and P2: 35.70 ± 16.28 in the amount of Sertoli cells, between KO: $975.30 \pm 95, 12$; P1: 563.70 ± 170.44 ; P2: 321.10 ± 181.20 in the amount of spermatogonia, between KO: 1307.50 ± 87.57 ; P1: 881.50 ± 253.65 ; P2: $505, 80 \pm 163.69$ in the amount of primary spermatocytes, between KO: 1237.20 ± 148.75 ; P1: 766.10 ± 277.68 ; P2: $473.00 \pm 133,25$ in the amount of spermatids round. Therefore, testicular torsion for 4 and 8 hours resulted in changes in the amount of Sertoli cells, spermatogonia, primary spermatocytes, and spermatids round ($P < 0,05$). Expected, the immediate treatment of cases of testicular torsion may reduce the number of testicular damage. (JKS 2017; 2: 84-92)

Keywords: testicular torsion, spermatogenesis process, the amount of Sertoli cell

Pendahuluan

Torsio testis adalah perputaran funikulus spermatikus yang berakibat terjadinya gangguan aliran darah pada testis. Keadaan ini diderita oleh 1 diantara 4000 pria yang berumur kurang dari 25 tahun, dan paling banyak diderita oleh anak pada masa pubertas (12-20 tahun). Selain itu,

tidak jarang janin yang masih berada di dalam uterus atau bayi baru lahir menderita torsio testis yang tidak terdiagnosis sehingga mengakibatkan kehilangan testis baik unilateral ataupun bilateral (Purnomo, 2008). Torsio testis juga kadang-kadang disebut sebagai 'sindrom musim dingin'. Hal tersebut disebabkan karena torsio testis lebih

sering terjadi pada musim dingin (Anonimus, 2007). Peningkatan insiden selama usia dewasa muda mungkin disebabkan karena testis yang membesar sekitar 5-6 kali selama pubertas (Grechi & Marzi, 1998).

Usia yang rentan mengalami torsio testis adalah 12 – 18 tahun. Sejauh ini, penanganan torsio testis masih berdasarkan menghilangkan torsio tersebut, dan belum bertujuan mencegah gangguan spermatogenesis pasca torsio. Oleh karena itu, dapat dipastikan bahwa jumlah pria infertil pasca torsio testis semakin lama semakin bertambah banyak (Onkorahardjo *et al.*, 2008).

Peneliti tertarik membahas perubahan yang diakibatkan oleh torsio testis khususnya tentang penurunan jumlah sel Sertoli dan sel-sel spermatogenik seperti spermatogonia, spermatosit primer, dan *round* spermatid, karena sel-sel tersebut merupakan pemeran utama dalam proses spermatogenesis yang mana tujuannya adalah untuk menghasilkan sperma sebagai bahan baku dalam proses reproduksi (Vigueras *et al.*, 2004). Oleh karena itu, kasus torsio testis sangat berkaitan erat dengan infertilitas atau kesuburan.

Metodologi Penelitian

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorik dengan pendekatan *post test only control design* dan menggunakan teknik pengelompokan rancangan acak lengkap (RAL) yang menggunakan 30 ekor hewan coba tikus *Ratus norvegicus* strain Wistar berjenis kelamin jantan dan berumur 3-4 bulan dengan berat 150-200 gram yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama yang merupakan kelompok kontrol (KO), terdiri dari 10 ekor tikus dan tidak dilakukan perlakuan berupa torsio testis. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 2 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus Wistar jantan, tiap kelompok dibagi menjadi 2 bagian, 5 ekor tikus dilakukan torsi dan diperhatikan gambaran gangguan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus setelah torsio direposisi (efek cepat). Sedangkan gambaran gangguan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus pada 5 ekor tikus Wistar lain diamati setelah 30 hari torsio diperbaiki (efek lambat). Keempat kelompok perlakuan diinduksi torsio testis dengan masing-masing varian durasi waktu 4 dan 8 jam (table 1)

Tabel 1: Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Pengulangan									
	Efek Cepat					Efek Lambat				
P1	P1 ₁	P1 ₂	P1 ₃	P1 ₄	P1 ₅	P1 ₆	P1 ₇	P1 ₈	P1 ₉	P1 ₁₀
P2	P2 ₁	P2 ₂	P2 ₃	P2 ₄	P2 ₅	P2 ₆	P2 ₇	P2 ₈	P2 ₉	P2 ₁₀
P3	P3 ₁	P3 ₂	P3 ₃	P3 ₄	P3 ₅	P3 ₆	P3 ₇	P3 ₈	P3 ₉	P3 ₁₀

Keterangan:

- P₁₁₋₁₀ : Kelompok kontrol yang tidak dilakukan torsio
P₂₁₋₅ : Kelompok perlakuan yang diinduksi dengan 3600 torsio selama 4 jam dan diamati setelah dilakukan detorsi
P₂₆₋₁₀ : Kelompok perlakuan yang diinduksi dengan 3600 torsio selama 4 jam dan diamati setelah 30 hari dilakukan detorsi
P₃₁₋₅ : Kelompok perlakuan yang diinduksi dengan 3600 torsio selama 8 jam dan diamati setelah dilakukan detorsi
P₃₆₋₁₀ : Kelompok perlakuan yang diinduksi dengan 3600 torsio selama 8 jam dan diamati setelah 30 hari dilakukan detorsi

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Waktu yang dibutuhkan mulai dari persiapan proposal hingga seminar hasil penelitian dimulai dari bulan September 2011 hingga April 2012. Jadwal pelaksanaan penelitian dimulai dari

persiapan hingga pelaksanaan penelitian disajikan dalam lampiran 1.

Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar berjenis kelamin jantan dan berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram

Variabel Penelitian

Variabel bebas : Variasi durasi waktu torsio testis

Variabel terikat : Gambaran gangguan proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus testis tikus *Rattus norvegicus*

Variabel kendali : Jenis kelamin, umur, berat badan, lingkungan, makanan, dan kesehatan tikus *Rattus norvegicus*

Prosedur Kerja Penelitian

Persiapan dan Pemeliharaan Hewan Coba

Tiga puluh ekor tikus Wistar (*Ratus norvegicus*) jantan yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram dibiarkan selama seminggu untuk proses aklimatisasi. Selama masa penelitian, hewan coba dikandangkan dalam wadah yang diberi alas sekam dan diberikan pakan standar berupa *pellets* dan air *ad libitum*.

Induksi Torsio Testis

Ketiga puluh hewan coba dirandomisasi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Kelompok kontrol tidak dilakukan perlakuan berupa torsio testis. Sementara kedua kelompok perlakuan dianestesi dengan cara memasukkan hewan coba ke wadah tertutup yang diberi kapas dan telah dibasahi dengan kloroform. Setelah hewan coba teranestesi, dikeluarkan dari wadah, kemudian skrotum diinsisi dan diberi perlakuan berupa torsio 360o ke arah medial pada unilateral testis. Kemudian luka insisi dijahit dan torsio dibiarkan selama 4 dan 8 jam. Setelah 4 hingga 8 jam, skrotum diinsisi kembali kemudian dilakukan reposisi 360o ke arah lateral. Pada 5 ekor tikus dari keempat kelompok perlakuan dilakukan pengangkatan dan pembuatan preparat histologi sebelum diamati di bawah mikroskop (efek cepat). Sedangkan 5 ekor tikus lain pada tiap kelompok perlakuan dilakukan fiksasi dengan benang *absorbable*, lalu luka insisi ditutup dan dibiarkan selama 30 hari. Setelah 30 hari, dilakukan kembali insisi skrotal kemudian testis tersebut diangkat, dilakukan pembuatan preparat, kemudian diamati di bawah mikroskop (efek lambat).

Prosedur Kerja Penelitian

Persiapan dan Pemeliharaan Hewan Coba

Tiga puluh ekor tikus Wistar (*Ratus norvegicus*) jantan yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram dibiarkan selama seminggu untuk proses aklimatisasi. Selama masa penelitian, hewan coba dikandangkan dalam wadah yang diberi alas sekam dan diberikan pakan standar berupa *pellets* dan air *ad libitum*.

Induksi Torsio Testis

Ketiga puluh hewan coba dirandomisasi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Kelompok kontrol tidak dilakukan perlakuan berupa torsio testis. Sementara kedua kelompok perlakuan dianestesi dengan cara memasukkan hewan coba ke wadah tertutup yang diberi kapas dan telah dibasahi dengan kloroform. Setelah hewan coba teranestesi, dikeluarkan dari wadah, kemudian skrotum diinsisi dan diberi perlakuan berupa torsio 360o ke arah medial pada unilateral testis. Kemudian luka insisi dijahit dan torsio dibiarkan selama 4 dan 8 jam. Setelah 4 hingga 8 jam, skrotum diinsisi kembali kemudian dilakukan reposisi 360o ke arah lateral. Pada 5 ekor tikus dari keempat kelompok perlakuan dilakukan pengangkatan dan pembuatan preparat histologi sebelum diamati di bawah mikroskop (efek cepat). Sedangkan 5 ekor tikus lain pada tiap kelompok perlakuan dilakukan fiksasi dengan benang *absorbable*, lalu luka insisi ditutup dan dibiarkan selama 30 hari. Setelah 30 hari, dilakukan kembali insisi skrotal kemudian testis tersebut diangkat, dilakukan pembuatan preparat, kemudian diamati di bawah mikroskop (efek lambat)

Pembuatan Preparat dan Penilaian Gambaran Gangguan Spermatogenesis

Unilateral testis hewan coba yang telah diberi perlakuan berupa torsio diobservasi sesuai dengan waktu pengamatan baik efek cepat maupun efek lambat. Kemudian testis melalui serangkaian tahapan pembuatan preparat yang dilanjutkan dengan proses pewarnaan Haematoxylin dan Eosin (H&E). Dalam pembuatan mikroteknik preparat histologi, langkah pertama yang dilakukan ialah *fiksasi*.

Pada tahap ini, testis yang telah dipotong seukuran 2 cm diletakkan di dalam kaca film, lalu direndam dalam larutan formalin selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan dengan langkah kedua yang dikenal dengan istilah *dehidrasi*. Pada tahap ini, potongan testis direndam dalam larutan alkohol 80% selama 2 jam. Selanjutnya direndam lagi dalam alkohol dengan konsentrasi 90%, 95%, 100%I dan 100%II secara berurutan masing-masing selama 2 jam. Kemudian dilakukan tahapan ketiga yang disebut *clearing*, yaitu perendaman sebanyak 3 kali dalam larutan xylol masing-masing selama 30 menit dalam botol yang berbeda. Selanjutnya dilakukan proses *infiltrasi* yang dikerjakan dalam inkubator dengan suhu 56-58oC. Potongan testis direndam dalam parafin sebanyak 3 kali masing-masing selama 30 menit. Kemudian dilanjutkan dengan *embedding* dengan mencelupkan potongan testis dalam parafin cair yang telah dituang dalam wadah berbentuk kubus ukuran 3x3 cm yang terbuat dari karton jeruk. Selanjutnya wadah tersebut dimasukkan ke dalam air, lalu dimasukkan ke dalam lemari es, dan setelah beberapa saat, parafin akan memadat dan testis berada dalam blok parafin.

Testis dalam blok parafin ditempelkan pada lempeng mikrotom. Ketebalan irisan yang diinginkan adalah 4-6 µm. Irisan diambil dengan pinset dan dimasukkan ke dalam air hangat (38-40oC) untuk meluruskan kerutan halus yang ada dan untuk membuka lipatan irisan yang mungkin terjadi pada preparat. Irisan yang terentang sempurna diambil dengan gelas obyek. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hotplate* (38-40oC) sampai preparat menjadi kering. Kemudian preparat tersebut diwarnai dengan Hematoxylin dan Eosin (H&E) yang terdiri dari beberapa rangkaian tahapan dengan menggunakan berbagai larutan seperti xylol, alkohol, alkohol absolut, air mengalir, dan terakhir diberi balsem Canada agar preparat terikat kuat pada gelas obyek dan cover (Lampiran 3). Lalu preparat diamati di bawah

mikroskop foto DP 12 menggunakan skala 20 µm dan 30 µm dan selanjutnya difoto. Perhitungan dilakukan pada 1 penampang potongan testis yang dibagi menjadi 4 bagian (kanan atas, kanan bawah, kiri atas, kiri bawah). Setiap bagian diambil 3 tubulus untuk kemudian dihitung jumlah selnya (Nurliani *et al*, 2005). Parameter yang digunakan sesuai dengan jurnal *Histopathology of Prapubertal Rat Testes Subjected to Various Durations of Spermatic Cord Torsion* (Cosentino *et al.*, 1986), meliputi:

1. Jumlah sel Sertoli
2. Jumlah spermatogonia
3. Jumlah spermatosit primer
4. Jumlah *round* spermatid

Data primer yang diperoleh dari hasil pengamatan jumlah sel Sertoli, spermatogonia, spermatosit, dan *round* spermatid akan diuji dengan metode analisis ANOVA multifaktorial dan akan dilanjutkan dengan metode *Tukey's HSD test*. Hasil pengolahan data akan ditampilkan dalam bentuk gambar, grafik dan tabel.

Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengamatan sel Sertoli, spermatogonia, spermatosit primer dan *round* spermatid pada tubulus seminiferus testis tikus yang telah diberikan perlakuan berupa torsio testis dengan variasi durasi waktu berupa 4 dan 8 jam, diperoleh beberapa data, diantaranya adalah data rata-rata jumlah sel Sertoli, data rata-rata jumlah spermatogonia, data rata-rata jumlah spermatosit primer, dan data rata-rata jumlah *round* spermatid yang dihitung setelah perlakuan.

Sel Sertoli

Perbedaan jumlah sel Sertoli antar kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (KO), torsio 4 jam (P1) dan torsio 8 jam (P2), dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Rerata Jumlah Sel Sertoli

Kelompok		Frekuensi Data	Jumlah Sel Sertoli	Rerata Jumlah Sel Sertoli
Kontrol	Efek cepat	5	712	142,40 ^a
	Efek lambat	5	708	141,60 ^a
P1	Efek cepat	5	268	53,60 ^b
	Efek lambat	5	216	43,20 ^d
P2	Efek cepat	5	240	48,00 ^c
	Efek lambat	5	117	23,40 ^e

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Spermatogonia

Perbedaan jumlah spermatogonia antar kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol

(KO), torsio 4 jam (P1) dan torsio 8 jam (P2), dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Rerata Jumlah Spermatogonia

Kelompok		Frekuensi Data	Jumlah Spermatogonia	Rerata Jumlah Spermatogonia
Kontrol	Efek cepat	5	4784	956,80 ^a
	Efek lambat	5	4969	993,80 ^a
P1	Efek cepat	5	3471	694,20 ^b
	Efek lambat	5	2166	433,20 ^d
P2	Efek cepat	5	2315	463,00 ^c
	Efek lambat	5	896	179,20 ^e

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Spermatisit Primer

Perbedaan jumlah spermatisitprimer antar kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol

(KO), torsio 4 jam (P1) dan torsio 8 jam (P2), dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Rerata Jumlah Spermatisit Primer

Kelompok		Frekuensi Data	Jumlah Spermatisit Primer	Rerata Jumlah Spermatisit Primer
Kontrol	Efek cepat	5	6424	1284,80 ^a
	Efek lambat	5	6651	1330,20 ^a
P1	Efek cepat	5	5387	1077,40 ^b
	Efek lambat	5	3428	685,60 ^c
P2	Efek cepat	5	3179	635,80 ^d
	Efek lambat	5	1879	375,80 ^e

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Round Spermatid

Perbedaan jumlah *round* spermatid antar kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol

(KO), torsio 4 jam (P1) dan torsio 8 jam (P2), dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5 Rerata Jumlah Round Spermatid

Kelompok		frekuensi Data	Jumlah <i>Round</i> Spermatid	Rerata Jumlah <i>Round</i> Spermatid
Kontrol	Efek cepat	5	5787	1157,40 ^a
	Efek lambat	5	6585	1317,00 ^a
P1	Efek cepat	5	4704	940,80 ^b
	Efek lambat	5	2957	591,40 ^b
P2	Efek cepat	5	2855	571,00 ^c
	Efek lambat	5	1875	375,00 ^c

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Pembahasan

Berdasarkan penelitian Lysiak *et al.*, (2001) yang berfokus pada variasi derajat dan durasi torsio testis, torsio 720° selama 2 jam menyebabkan gangguan pada tubulus seminiferus, penurunan massa testis yang signifikan, dan gangguan dalam produksi sperma. Hal tersebut diikuti dengan meningkatnya adhesi neutrofil, *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan terjadinya apoptosis. Bagian dari testis yang diamati setelah dilakukan perlakuan berupa torsio sebesar 360° dan 720° selama 1 jam, 360° dan 720° selama 2 jam, menunjukkan hasil yang sama berupa gangguan proses spermatogenesis.

Sel merupakan partisipan aktif di lingkungannya, yang secara tetap menyesuaikan struktur dan fungsinya untuk mengakomodasi tuntutan perubahan dan stress ekstrasel. Sel cenderung mempertahankan lingkungan segera dan intraselnya dalam rentang parameter fisiologis yang relatif sempit, atau bisa dikatakan sel mempertahankan homeostasis normalnya. Ketika mengalami stress fisiologis atau rangsang patologis, sel bisa beradaptasi, mencapai kondisi baru dan mempertahankan kelangsungan hidupnya (Kumar *et al.*, 2007).

Jaringan mamalia sangat peka terhadap perubahan dalam pasokan oksigen. Aliran oksigen yang tidak cukup akan menghasilkan suatu cedera iskemik yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan kematian jaringan (Powell *et*

al., 2002). Menurut Cotran *et al.*, (2007), salah satu mekanisme utama yang menyebabkan kerusakan pada sel yaitu pembentukan radikal bebas atau ROS yang dipicu oleh keadaan iskemia. Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang memiliki satu elektron tak berpasangan di orbital terluar (Clarkson and Thompson, 2000; Cuzzocrea *et al.*, 2001). Hal tersebut menyebabkan radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil dan dapat mengganggu reaksi kimia dan mengaktifkan reaksi autokatalitik dari protein, lipid, karbohidrat, dan terutama molekul-molekul yang terdapat pada membran sel maupun asam nukleat. Radikal bebas dapat diproduksi dalam jumlah yang besar oleh makrofag, neutrofil, spermatozoa serta berbagai jenis sel lain yang berada dalam kondisi patologis. Pada jaringan testis yang kadar metabolisme dan replikasi sel yang tinggi, stres oksidatif dapat bersifat sangat merusak. Oleh karena itu, peran antioksidan sangat penting (Murray *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2008).

ROS adalah bagian dari radikal bebas yang merupakan produk dari metabolisme sel normal, termasuk di dalamnya kelompok radikal bebas seperti *hydroxyl radical* (OH), *superoxide anion* (O₂⁻), dan *peroxyl radical* (RO₂), dan kelompok nonradikal seperti *hydrogen peroxide* (H₂O₂), *organic peroxides* (ROOH) dan *nitric oxide* (NO), yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan oksidasi spesifik beberapa enzim (Halliwell

and Whiteman, 2004). Burtschers *et al.*, (2004) melaporkan bila hipoksia berlanjut akan terjadi kelebihan ion kalsium intrasel dan penurunan antioksidan yang mendorong terbentuknya ROS pada mitokondria. Keadaan itu semakin menambah hiperpolarisasi. Sebaliknya, jika hipoksia terjadi secara intermiten, maka terbentuknya ROS akan mengikuti pola *intermiten* dan akan terjadi adaptasi sel, sehingga reaksi penggunaan antioksidan pun menjadi lebih efisien. Peningkatan konsentrasi oksigen pada reperfusi jaringan menyebabkan kehilangan kemampuan menurunkan kofaktor pada rantai pernapasan dan meningkatkan pembentukan ROS mitokondria (Hidayat *et al.*, 2011).

ROS juga mampu secara langsung merusak *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) sperma dengan menyerang basa purin dan pirimidin. ROS juga dapat menginisiasi terjadinya apoptosis dalam sperma, menyebabkan aktifnya enzim-enzim *caspase* untuk mendegradasi DNA sperma (Tremalen, 2008). Namun tubuh dilengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan untuk menangkal serangan radikal bebas atau oksidan sehingga dapat membatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Sistem pertahanan antioksidan tersebut antara lain adalah enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang terdapat di mitokondria dan sitosol, *Glutathione Peroxidase* (GPX), *Glutathione reductase*, dan *catalase* (Jackson, 2005). Sistem pertahanan ini bekerja dengan beberapa cara antara lain berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan, atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan senyawa oksigen reaktif, atau mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Winarsi, 2007).

Tetapi dalam keadaan tertentu, produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dapat melebihi sistem pertahanan tubuh, kondisi ini disebut sebagai stres oksidatif (Evans, 2000; Agarwal *et al.*, 2005). Pada kondisi stres oksidatif, radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel dan merusak organisasi membran sel. Membran sel ini sangat penting bagi fungsi reseptor dan fungsi enzim, sehingga terjadinya peroksidasi lipid

membran sel oleh radikal bebas dapat mengakibatkan hilangnya fungsi seluler secara total (Evans, 2000). Pada laki-laki, stres oksidatif diduga merupakan salah satu faktor yang dapat menimbulkan penurunan fungsi testosteron. Peningkatan NO yang sering dikaitkan dengan peningkatan lipid peroksidase pada berbagai jenis stres inilah yang menyebabkan penurunan sekresi testosteron (Turner *et al.*, 2008). Pada kondisi stres oksidatif, keseimbangan normal antara produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan antioksidan alami tubuh untuk mengeleminasinya mengalami gangguan sehingga mengganggu rantai reduksi-oksidasi normal, dan pada akhirnya menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan jaringan ini juga tergantung pada beberapa faktor, antar lain: target molekuler, tingkat stres yang terjadi, mekanisme yang terlibat, serta waktu dan sifat alami dari sistem yang diserang (Winarsi, 2007).

Proses apoptosis dikendalikan oleh berbagai tingkat sinyal sel, yang dapat berasal dari pencetus ekstrinsik maupun intrinsik. Yang termasuk pada sinyal ekstrinsik antara lain hormon, faktor pertumbuhan, NO, dan *cytokine*. Semua sinyal tersebut harus dapat menembus membran plasma ataupun transduksi untuk dapat menimbulkan respon. Sinyal intrinsik apoptosis merupakan suatu respon yang diinisiasi oleh sel sebagai respon terhadap stres dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel. Pengikatan reseptor nuklear oleh glukokortikoid, panas, radiasi, kekurangan nutrisi, infeksi virus, dan hipoksia merupakan keadaan yang dapat menimbulkan pelepasan sinyal apoptosis intrinsik melalui kerusakan sel (Lumongga, 2008).

Apoptosis berbeda dengan nekrosis. Pada nekrosis, terjadi kematian sel yang tidak terkontrol, dimana sel yang mati tersebut membesar, kemudian hancur dan lisis, dan merupakan suatu respon terhadap inflamasi. Sedangkan pada apoptosis, sel yang mati akan memberikan sinyal yang diperantarai oleh beberapa gen yang disebut *caspase* yang mengkode protein untuk enzim pencernaan. Gen *caspase* ini merupakan suatu bagian dari *cysteine*

protease yang akan aktif pada masa perkembangan sel dan merupakan sinyal untuk aktif pada destruksi atau penghancuran sel tersebut. Apoptosis terjadi sebagai akibat program bunuh diri sel yang terkontrol. Inti sel akan mengalami fragmentasi yang kemudian mengirimkan sinyal kepada sel didekatnya untuk difagosit (Lumongga, 2008).

Apoptosis biasanya melibatkan satu atau sekelompok sel yang terlihat dengan potongan yang diwarnai Hematoxylin & Eosin (H&E) sebagai massa bulat atau oval dengan sitoplasma yang sangat eosinofilik. Kromatin inti memadat, dan beragregasi di perifer, di bawah membran inti menjadi massa berbatas tegas pada berbagai bentuk dan ukuran (Kumar *et al.*, 2007).

Terdapat dua metode yang telah dikenali untuk mekanisme apoptosis, yaitu (1). Ekstrinsik *pathway*, dimana pada metode ini, *pathway* diinisiasi oleh pengikatan reseptor kematian pada permukaan sel di berbagai sel. Reseptor kematian merupakan bagian dari reseptor nekrosis yang terdiri dari *cytoplasmic domain*, berfungsi untuk mengirim sinyal apoptosis. Reseptor kematian yang diketahui antara lain *Tumor Necrosis Factor* (TNF) reseptor tipe 1 yang dihubungkan dengan protein *Fatty acid synthase* (Fas). Pada saat *Fas* berikatan dengan *ligand*, membran menuju *ligand* (FasL). Tiga atau lebih molekul *Fas* bergabung dan *cytoplasmic death domain* membentuk *binding site* untuk adapter protein, *Fas-associated death domain* (FADD). *Fas-associated death domain* tersebut melekat pada reseptor kematian dan mulai berikatan dengan bentuk inaktif dari *caspase 8*. Molekul *procaspase 8* tersebut kemudian dibawa ke atas dan kemudian pecah menjadi *caspase 8* aktif. Enzim tersebut kemudian mencetuskan cascade aktivasi *caspase* dan kemudian mengaktifkan *procaspase* lainnya dan mengaktifkan enzim untuk mediator pada fase eksekusi. *Pathway* tersebut dapat dihambat oleh *Flice Inhibitory Protein* (FLIP), tidak menyebabkan pecahnya enzim *procaspase 8* dan tidak menjadi aktif. (2). Intrinsik (mitokondrial) *pathway*, terjadi oleh karena adanya permeabilitas mitokondria dan pelepasan

molekul pro-apoptosis ke dalam sitoplasma, tanpa memerlukan reseptor kematian. Faktor pertumbuhan dan sinyal lainnya dapat merangsang pembentukan protein antiapoptosis *B-cell Lymphoma 2* (Bcl2), yang berfungsi sebagai regulasi apoptosis. Protein antiapoptosis yang utama adalah: Bcl-2 dan *B-cell Lymphoma x* (Bcl-x), yang pada keadaan normal terdapat pada membran mitokondria dan sitoplasma.

Pada saat sel mengalami stres, Bcl-2 dan Bcl-x menghilang dari membran mitokondria dan digantikan oleh pro-apoptosis protein, seperti *BCL2-associated x protein* (Bax), *BCL2-antagonist killer* (Bak), dan *BCL2-like11 (apoptosis facilitator) / BCL2L11* (Bim). Sewaktu kadar Bcl-2 dan Bcl-x menurun, permeabilitas membran mitokondria meningkat, beberapa protein dapat mengaktifkan cascade *caspase*. Salah satu protein tersebut adalah *cytochrom-c* yang diperlukan untuk proses respirasi pada mitokondria. Di dalam *cytosol*, *cytochrom-c* berikatan dengan protein *Apoptosis activating factor-1* (Apaf-1) dan mengaktifkan *caspase-9*. Protein mitokondria lainnya, seperti *Apoptosis Inducing Factor* (AIF) memasuki sitoplasma dengan berbagai inhibitor apoptosis yang pada keadaan normal untuk menghambat aktivasi *caspase*. Setelah sel menerima sinyal yang sesuai untuk apoptosis, selanjutnya organela-organela sel akan mengalami degradasi yang diaktivasi oleh *caspase* proteolitik, dimana tahap ini dinamakan tahap eksekusi. Setelah terjadi tahap eksekusi, maka dilanjutkan dengan tahap pengangkatan sel yang mati (Lumongga, 2008).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan yang telah diuraikan oleh peneliti, dapat diambil kesimpulan beberapa hal sebagai berikut :

1. Variasi durasi waktu torsio testis menyebabkan perubahan yang nyata ($P<0,05$) pada jumlah sel Sertoli tubulus seminiferus testis tikus *Rattus norvegicus*.
2. Variasi durasi waktu torsio testis menyebabkan perubahan yang nyata ($P<0,05$) pada jumlah spermatogonia tubulus seminiferus testis tikus *Rattus norvegicus*.

3. Variasi durasi waktu torsio testis menyebabkan perubahan yang nyata ($P < 0,05$) pada jumlah spermatosit primer tubulus seminiferus testis tikus *Rattus norvegicus*.
4. Variasi durasi waktu torsio testis menyebabkan perubahan yang nyata ($P < 0,05$) pada jumlah *round* spermatid tubulus seminiferus testis tikus *Rattus norvegicus*.

Daftar Pustaka

1. Agarwal, A., Prabakaran, S., Said, T. 2005. "Prevention of Oxidative Stress Injury to Sperm". *Journal of Andrology*. 26: 654-60.
2. Anonim. 2007. *Testicular torsion*. [online] [diakses tanggal 29 Juni 2011]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Testicular_torsion.
3. Clarkson, P. M. and Thompson, H. S. 2000. "Antioxidants: What Role Do They Play in Physical Activity and Health". *Am J Clin Nutr*. 72: 637S-46S.
4. Cuzzocrea, S., Riley, D. P., Caputi, A. P., Salvemini, D. 2001. "Antioxidant Therapy: A New Pharmacological Approach In Shock, Inflammation, And Ischemia-Reperfusion Injury". *Pharmacological Reviews*. 53: 135-59.
5. Evans, W. J. 2000. "Vitamin E, vitamin C, and exercise". *Am J Clin Nutr*. 72: 647S-52S
6. Grechi, G., Marzi, V. L. 1998. *Torsion of the Testicle*. In: Graham, S. D. (ed), Glenn's Urologic Surgery, Fifth ed. Lippincott-Raven. Philadelphia: 535-8.
7. Halliwell, B. and Whiteman, M. 2004. "Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?". *Br J Pharmacol*. 142: 231-55.
8. Jackson, M. J. 2005. "Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 360: 2285-91.
9. Kumar, V., Cotran, R. S., Robbins, S. L. 2007. *Robbins Basic Pathology 7th ed*. Alih bahasa: Prasetyo et al. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta: 3-31
10. Lumongga, F. 2009. *Apoptosis*. USU Repository. Medan Sumatra Utara.
11. Lysiak, J. J., Turner, S. D., Nguyen, Q. A. T., Singbartl, K., Ley, K., Turner, T. T. 2001. "Essential Role of Neutrophils in Germ Cell-Specific Apoptosis Following Ischemia/Reperfusion Injury of the Mouse Testis". *Biology of Reproduction*. Volume 65: 718-25.
12. Mitchell, R. N., Kumar, Abbas, Fausto. 2008. *Pocket Companion to Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th edition*. Alih bahasa: Hartono, A. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta: 3-28.
13. Murray, K. R., Granner, K. D., Mayes, A. P., Rodwell, W. V. 2003. *Biokimia Harper Ed*. 25: *Tocopherol merupakan antioksidan alami yang sangat penting*. EGC, Jakarta: 618-619.
14. Onkorahardjo, E., Hardjowijoto, S., Soetojo, Sudiana, K., Widodo, J. P. 2008. "Hubungan Orkidektomi dan Detorsi dengan Respon Imun Testis Kontralateral pada Torsio Testis". *Jurnal Urologi Indonesia*, Volume 15. No 1: 1-6.
15. Purnomo, B. B. 2003. *Dasar-Dasar Urologi, Edisi 2*. Penerbit CV Sagung Seto. Jakarta: 145-148.
16. Powell, J. D., Elshstein, R., Forest, D. J., Palladino, M. A. 2002. "Stimulation of Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha (HIF-1 α) Protein in the Adult Rat Testis Following Ischemic Injury Occurs Without an Increase in HIF-1 α Messenger RNA Expression". *Biology of Reproduction*. Volume 67: 995-1002.
17. Tremallen, K. 2008. "Oxidative Stress and Male Infertility – A Clinical Perspective". *Human Reproduction Update*: 1 – 16.
18. Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. KANISIUS, Yogyakarta.
19. Viguera, R. M., Reyes, G., Castaneda, J. R., Rojas, P., Hernandez, R. 2004. "Testicular Torsion and its Effects on the Spermatogenic Cycle in the Contralateral Testis of the Rat". *Laboratory Animals*. 38: 313-2.