

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Testis

2.1.1 Embriologi Testis

Penentuan jenis kelamin dari mudigah atau embrio adalah suatu proses yang rumit yang ditentukan oleh ekspresi gen. Kromosom Y yang memiliki gen penentu testis SRY (*Sex determining region on Y*) merupakan kunci dari dimorfisme seksual. Terdapatnya SRY protein atau disebut *testicular determining factor* tersebut akan mengarahkan perkembangan kelamin pria.^{19,20}

Pembentukan gonad, dimulai dari adanya gonad primitif di *genital ridge* pada setiap sisi embrio. Sampai dengan minggu keenam perkembangan gonad belum menunjukkan karakteristik morfologis pria atau wanita, gonad ini disebut gonad indeferen. Gen SRY yang terdapat pada kromosom Y akan memacu proses diferensiasi gonad indifferen menjadi testis dan merangsang sel interstitial Leydig untuk menghasilkan testosteron melalui proses steroidogenesis dan pada sel sustentakuler Sertoli untuk memicu keluarnya *Anti-Mullerian Hormone* (AMH).^{19,21}

Testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig akan merangsang perubahan duktus mesonefrikus (duktus Wolfii) menjadi duktus efferen, epididimis, duktus deferens, dan vesikula seminalis. Turunan testosteron yaitu dehidrotestosteron (DHT) akan merangsang pertumbuhan genitalia eksterna pria dan prostat. AMH yang disekresi oleh sel Sertoli akan menyebabkan regresi duktus paramesonefrikus (duktus Mulleri) melalui apoptosis.^{19,21}

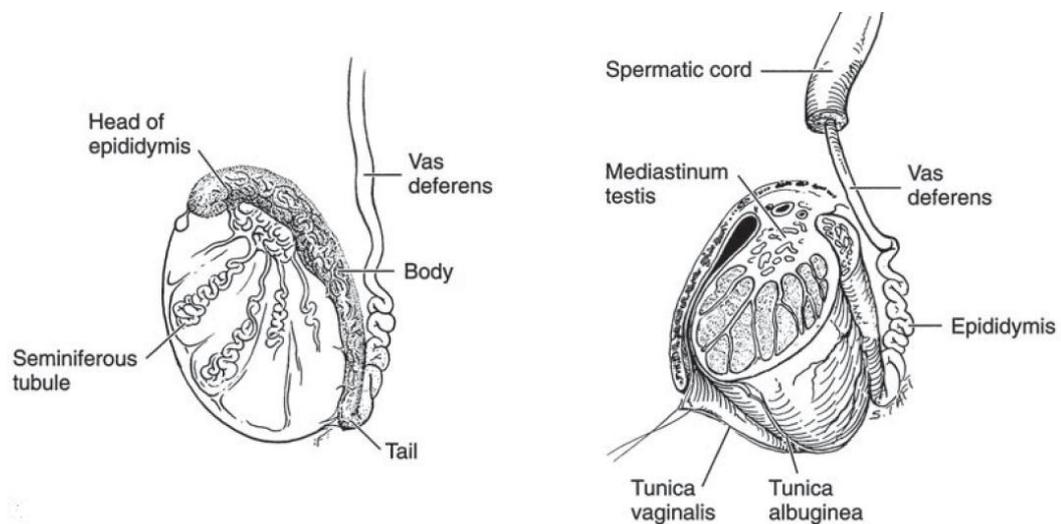
2.1.2 Anatomi dan Histologi Testis

Testis adalah organ reproduksi primer pada pria. Organ ini berbentuk ovoid yang berperan sebagai organ reproduksi dan kelenjar endokrin. Testis terdapat di dalam sebuah kantong yaitu kavum skroti oleh jaringan skrotum yang terdiri dari: kulit, tunika Dartos, fascia spermatica externa, otot cremaster, dan fascia spermatica interna. Letak testis kiri pada umumnya lebih rendah dibanding dengan testis kanan. Permukaan testis bagian anterior, medial, dan lateral dilapisi oleh jaringan skrotum, tunika vaginalis lamina parietalis, lamina visceralis, sedangkan permukaan posterior hanya dilapisi sebagian serosa.²⁰

Testis masuk ke dalam kavum skrotum melalui proses *descensus testiculorum*. Pada waktu awal kehidupan fetal, terdapat suatu jaringan yang disebut sebagai *gubernaculum testis*. *Gubernaculum testis* ini berikatan pada tiga tempat, yaitu: testis, bagian peritoneum, dan duktus Wolfii yang akan berkembang menjadi epididimis dan duktus deferens. Semua itu akan tertarik menuju ke skrotum, sehingga bagian peritoneum ini akan membentuk suatu tabung yang disebut *processus vaginalis peritonei*. Testis akan melekat pada bagian terluar tabung ini, dan tertarik menuju ke skrotum. bagian atas dari tabung ini akan mengalami obliterasi, sedangkan bagian bawah yang menempel pada testis akan mengalami invaginasi dan membentuk tunika vaginalis. Pada umur tujuh bulan kehamilan testis sudah berada pada kanalis inguinalis, dan berada pada dasar skrotum setelah lahir.^{20,22}

Testis memiliki tiga lapisan dari bagian luar hingga dalam, yaitu tunika vaginalis, tunika albuginea, dan tunika vaskulosa.²⁰ Tunika albuginea adalah

lapisan jaringan ikat yang tebal dan membagi testis menjadi lobulus-lobulus kecil. Pada bagian posterior jaringan ikat ini akan menebal dan membentuk mediastinum testis.²³ Mediastinum testis adalah tempat masuk pembuluh darah, pembuluh limfatik, saraf, dan rete testis.^{20,23} Rete testis merupakan tempat muara dari tiap lobulus testis yang nantinya akan dibawa menuju ke epididimis melalui duktus efferen untuk keluar dari testis.²³



Gambar 1. Anatomi Testis, duktus efferen, epididimis, dan duktus deferens
Dikutip dari buku *Smith & Tanagho's General Urology*, Edisi 18.²⁴

2.1.2.1 Tubulus Seminiferus

Tubulus seminiferus merupakan komponenen fungsional utama dari testis. Tiap testis memiliki 250-1000 tubulus seminiferus di dalam lobulus. Setiap tubulus seminiferus di dalam testis memiliki epitel germinal (seminiferus) yang mengandung beberapa tahap perkembangan sel-sel spermatogenik dan sel penyokongnya yaitu sel sustentakuler Sertoli. Epitel germinal ini juga diperkuat oleh membran basal yang terdiri atas jaringan ikat dan elastis dan lamina propria yang tipis.²⁵

Epitel germinal pada tubulus seminiferus akan terbagi menjadi dua kompartemen, yaitu kompartemen basal dan adluminal. Terbaginya epitel germinal pada tubulus seminiferus terjadi pada masa pubertas, yang dikarenakan pembentukan *blood testis barrier* oleh sel Sertoli dengan membentuk *tight junctions (zonulae occludentes)* antar sel. Kompartemen basal akan ditempati oleh spermatogonia dan spermatisit primer stadium preleptoten, sedangkan kompartemen adluminal akan ditempati oleh stadium perkembangan selanjutnya.^{23,25}

2.1.2.2 Sel Sertoli

Sel Sertoli adalah salah satu sel somatik pada tubulus seminiferus yang memiliki bentuk kolumnar ireguler dan nukleus ovoid pucat.²³ Sel ini terletak di membran basal dan membentuk *blood testis barrier* selain untuk membagi epitel germinal tubulus seminiferus, juga sebagai pelindung sel-sel spermatogenik dari reaksi autoimun.^{23,26} Fungsi utama dari sel Sertoli adalah mengontrol hormon, nutrisi untuk perkembangan sel spermatogenik berupa fruktosa, dan fagositosis badan residual serta sel germinal yang mengalami degenerasi.^{23,25,26}

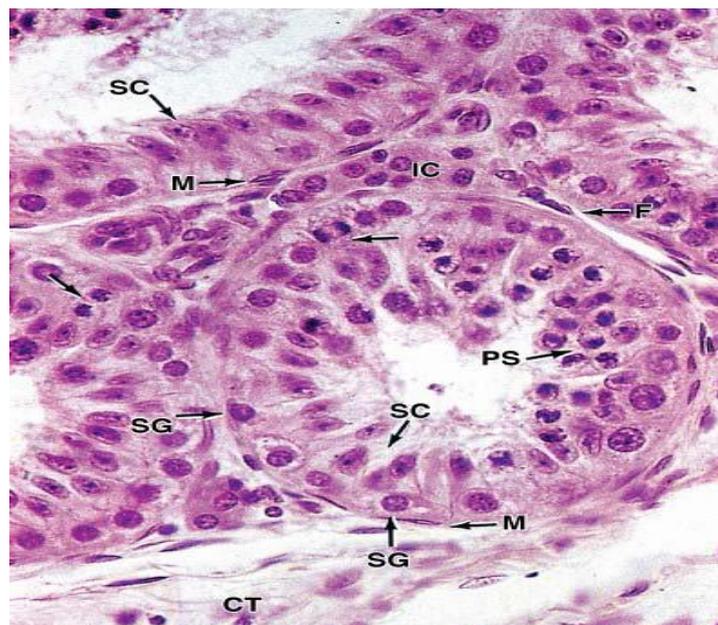
Sel somatik ini berperan penting pada masa embriologi pembentukan alat reproduksi pria dengan mensekresikan AMH, sehingga mencegah berkembangnya duktus Mulleri. Selain itu, sel Sertoli juga mengeluarkan *androgen binding protein (ABP)* untuk menjaga kadar testosteron dalam tubulus seminiferus. Hubungan sel Sertoli dengan aksis hipotalamus-hipofisis adalah melalui produksi hormon inhibin dan aktivin yang memiliki fungsi sebagai *feedback* negatif dan

positif pada hipotalamus, sehingga dapat mengatur sekresi *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) oleh hipofisis anterior.^{23,26}

2.1.2.3 Sel Leydig

Sel Leydig adalah sel yang terletak pada pars interstitial dekat dengan kapiler dan di antara tubulus seminiferus. Sel yang memiliki bentuk nukleus bulat dan sitoplasma pucat dengan vakuola lemak ini berasal dari derivat mesoderm. Sel ini memiliki retikulum endoplasma halus yang dominan pada sitoplasmanya. Retikulum endoplasma halus ini berkontribusi mensekresi hormon testosteron.

^{23,27}



Gambar 2. Gambaran histologi Testis.

Terdapat tubulus seminiferus yang dikelilingi oleh jaringan ikat (CT), terdapat banyak sel interstitial Leydig (IC). Pada tepi tubulus seminiferus dikelilingi sel myoid (M) yang berguna untuk membantu sperma keluar tubulus, dan beberapa lapis dari fibroblas (F). Sedangkan di dalam tubulus seminiferus terlihat bermacam-macam sel, seperti sel spermatogonia (SG), sel spermatosit primer (SP), dan sel penyokongnya yaitu sel sustentakuler Sertoli (SC)
Dikutip dari buku *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*, Edisi 12.²⁵

2.1.3 Fisiologi Testis sebagai Organ Reproduksi

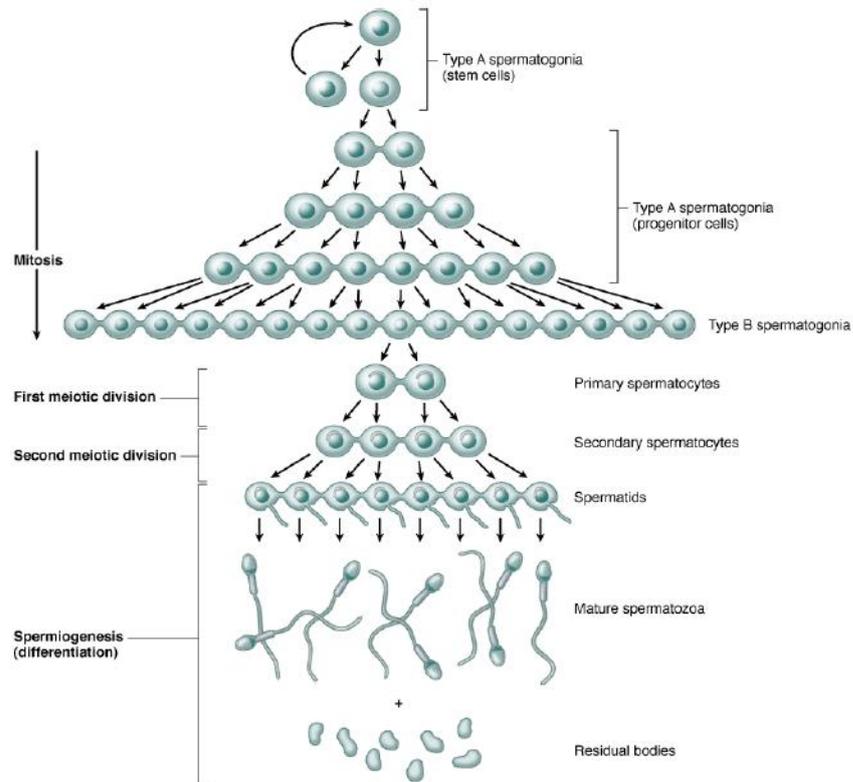
Testis memiliki peranan yang penting pada sistem reproduksi pria, yaitu sebagai organ reproduksi dan kelenjar endokrin.²¹ Spermatogenesis adalah proses pembelahan untuk menghasilkan spermatozoa yang terjadi pada testis dalam menjalankan perannya sebagai organ reproduksi. Proses ini dimulai dari pembelahan dan diakhiri dengan pembentukan spermatozoa matur. Spermatogenesis memiliki empat tahap utama, yaitu: mitosis (spermatogoniogenesis), meiosis, spermiogenesis, dan spermiasi.²⁸ Waktu yang diperlukan untuk spermatogenesis adalah 74 hari.²⁹

Spermatogenesis dimulai dari tahap proliferasi dan diferensiasi spermatogonia. Spermatogonia adalah sel benih primitif yang terletak pada membran basalis tubulus seminiferus. Sel ini memiliki dua tipe, yaitu tipe A dan tipe B. Spermatogonia tipe B berkembang dari tipe A.^{23,28} Proses ini berlangsung dengan satu spermatogonia tipe B menyebrang *blood testis barrier* dan melanjutkan sebagai satu spermatosit primer yang memiliki 46 kromosom (44+XY) dan DNA mengandung 4N (tetraploid) melalui proses mitosis.^{28,29}

Terbentuknya spermatosit primer merupakan awal dari fase meiosis.^{23,29} Satu spermatosit primer akan mengalami meiosis I dan menjadi dua spermatosit sekunder yang memiliki 23 kromosom (23+X, 23+Y) dan tiap sel memiliki dua kromatid jadi jumlah DNA 2N (diploid). Spermatosit sekunder ini sangat cepat masuk pada fase meiosis II, sehingga sel ini sukar untuk diteliti.^{23,29} Hasil dari meiosis II adalah empat spermatid. Karena antara meiosis I dan II tidak terdapat fase S (replikasi DNA), sehingga jumlah DNA berkurang menjadi setengah ketika

kromatid memisah dan jumlah DNA 1N (haploid). Spermatid berdasarkan bentuk nukleusnya diklasifikasikan menjadi spermatid awal, pertengahan, dan akhir.^{23,25}

Spermatid akhir ini yang akan mengalami kondensasi dan perubahan nukleus, pembentukan flagel, serta pelepasan sebagian besar sitoplasma melalui proses spermiogenesis. Tahapan pertama dari proses morfologik ini adalah fase golgi, terkumpulnya granula badan golgi spermatid membentuk granula akrosom yang berada di vesikula akrosom. Selama fase akrosom, vesikula akrosom akan menutupi setengah bagian anterior nukleus spermatid yang memadat disebut akrosom. Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik, seperti hialuronidase, neuraminidase, fosfatase asam, dan protease yang memiliki aktivitas seperti tripsin. Enzim-enzim inilah yang memudahkan sperma menembus *corona radiata* dan zona pelusida sel ovum. Pada fase ini membran plasma menuju ke posterior nukleus menutupi flagel dan mitokondria beragregasi membentuk suatu selubung pada bagian proximal dari flagel. Fase maturasi ditandai dengan pelepasan sisa sitoplasma spermatid menjadi badan residual yang akan difagositosis oleh sel Sertoli.²⁵ Fase akhir spermatogenesis adalah spermiasi, yaitu pelepasan spermatozoa dari epitel tubulus seminiferus.^{23,25,28,29}



Gambar 3. Skema spermatogenesis.

Spermatogonia tipe A bertindak sebagai sel induk dan akan membelah membentuk sel induk baru dan spermatogonia tipe A lainnya yang merupakan progenitor dari spermatosit. Pembelahan ini menyisakan sitoplasma yang menyatu antar sel (*intercellular bridge*). Spermatosit tipe A membelah secara mitosis dua atau tiga kali, dan pada akhir mitosis membentuk spermatogonia tipe B yang akan menjadi spermatosit primer melalui proses meiosis I. Dari spermatosit primer akan menjadi spermatosit sekunder melalui proses meiosis II. *Intercellular bridge* ini hilang pada saat spermatid menjadi spermatozoa melalui proses spermiogenesis. Sisa sitoplasma spermatid akan menjadi badan residual yang akan difagositosis sel Sertoli.

Dikutip dari buku *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*, Edisi 12.²⁵

2.2 Pengaruh Hormonal terhadap Testis

2.2.1 Aksis Hipotalamus-Hipofisis-Testis

Hipotalamus mengatur sistem reproduksi baik pria maupun wanita melalui sekresi *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH).^{21,29} Sekresi GnRH melalui portal hipotalamus-hipofisis akan menstimulasi sel gonadotrop hipofisis anterior

memproduksi hormon gonadotropik, yaitu *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH).²⁹ Sekresi GnRH oleh hipotalamus terjadi secara *pulsatile*, sehingga pelepasan hormon gonadotropik akan terjadi perbedaan kadar puncak. Sering kali hal tersebut terjadi pada hormon LH dibanding dengan FSH dikarenakan waktu yang lebih singkat pada sirkulasi.²⁸

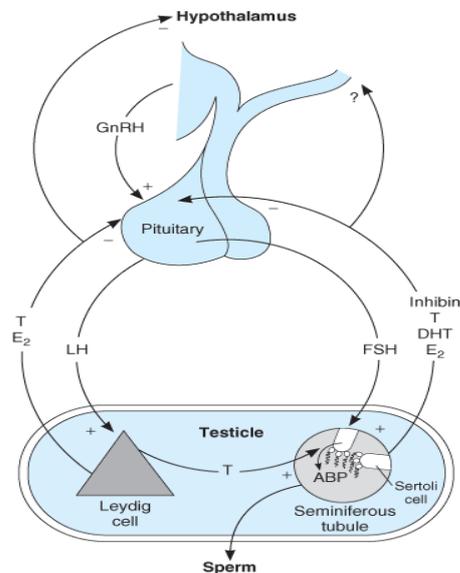
Sel gonadotrop adalah salah satu sel pada hipofisis anterior yang memiliki granula basofilik.^{23,28} Sel ini akan mensekresi FSH dan LH setelah adanya rangsangan dari GnRH dari hipotalamus. FSH dan LH mengandung dua rantai polipeptida, α dan β . FSH dan LH juga memiliki waktu paruh yang berbeda. LH memiliki waktu paruh pendek (20 menit) karena strukturnya kaya akan *N-acetyl-glucosamine sulfate* menyebabkan hormon ini mudah cepat dikeluarkan tubuh setelah bertemu reseptor di sel hepar yang mengenali sulfat. Sedangkan FSH akan lebih lama (2 jam) berada pada sirkulasi, karena dominan *N-acetyl-glucosamine sialylated* sehingga terproteksi dari metabolisme hepar.²⁸

Pada sistem reproduksi pria, target organ dari FSH dan LH adalah testis. Terdapat dua bangunan penting pada testis yang akan berikatan dengan hormon gonadotropik ini, yaitu sel Leydig yang terdapat pada interstitial dan sel Sertoli pada membran tubulus seminiferus.²⁸

LH bersifat trofik terhadap sel Leydig.²¹ Sinyal transduksi dari hormon ini akan berikatan dengan reseptor spesifik yang terdapat pada sel Leydig dan beraktivasi dengan enzim adenil siklase, sehingga terjadi peningkatan tajam dari *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) sitoplasma. Peningkatan cAMP sitoplasma ini memulai sintesis dari testosteron.²⁷ Testosteron yang dihasilkan

akan menghambat sekresi LH secara langsung pada hipofisis anterior dan GnRH pada hipotalamus melalui umpan balik negatif.^{21,28}

FSH yang disekresi sel gonadotrop akan berikatan dengan reseptor spesifik dari sel Sertoli dan memicu produksi ABP.²¹ FSH penting dalam memulai proses spermatogenesis, tetapi proses maturasi sperma juga membutuhkan testosteron.²⁸ Dengan adanya sekresi ABP, testosteron yang dihasilkan sel Leydig dapat diikat dan masuk ke dalam tubulus seminiferus untuk memulai spermatogenesis.^{21,23} FSH juga menstimulasi sel Sertoli untuk mensekresi inhibin A dan B. Berdasarkan teori inhibin B inilah yang memiliki peran utama dalam mekanisme umpan balik negatif terhadap sekresi FSH.^{21,28}



Gambar 4. Aksis hipotalamus-hipofisis-testis.

Hipotalamus mensekresi GnRH, menstimulasi sel gonadotrop hipofisis anterior memproduksi LH dan FSH. LH akan menstimulasi sel Leydig untuk menghasilkan testosteron (T), sedangkan FSH menstimulasi sel Sertoli dan sel Spermatogenesis. Sel Sertoli menghasilkan inhibin dan ABP untuk menangkap testosteron masuk ke tubulus seminiferus. Sedangkan testosteron, estradiol, DHT, dan inhibin akan memberikan umpan balik negatif ke hipotalamus dan hipofisis.

Dikutip dari buku *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*, Edisi 8.³⁰

2.2.2 Peran Testosteron pada Sistem Reproduksi Pria

Androgen pada pria dewasa berperan untuk perkembangan dan fungsional testis, maskulinisasi, libido, serta stimulasi dari spermatogenesis.²⁸ Androgen juga sangat penting pada masa prenatal untuk perkembangan sistem reproduksi pria seperti epididimis, vas deferens, vesikula seminalis, prostat, dan penis.³¹ Testosteron merupakan androgen utama pada pria.^{28,32} Hormon ini disintesis dari kolesterol di sel Leydig dan terbentuk dari androstenedion yang disekresi oleh sel adrenal.²¹

Testosteron sudah mulai diproduksi oleh testis fetus pada minggu ke-10 kehamilan, di bawah stimulasi dari LH fetus dan *human Chorionic Gonadotropin* (hCG) maternal.²⁸ Testosteron ini berperan dalam proses pematangan dari duktus Wolffii, dan bertanggung jawab dalam pembentukan genitalia interna pria.^{21,31} Proses penurunan testis dari cavum abdomen menuju cavum skrotum juga dipengaruhi hormon testosteron.^{19,33,34} Dengan adanya enzim 5α -reduktase, testosteron dirubah menjadi DHT, yang berguna pada perkembangan struktur dari sinus urogenitalis dan tuberculum genitalis seperti skrotum, penis, dan urethra, serta prostat.^{19,32}

Testosteron yang dihasilkan sel Leydig berperan penting dalam memulai dan menjaga proses spermatogenesis pada tubulus seminiferus.³² Konsentrasi testosteron dapat dipertahankan pada tubulus seminiferus dengan adanya sekresi ABP sel Sertoli yang dipicu oleh FSH.³⁴ Berdasarkan penelitian, testosteron eksogen dapat menghambat spermatogenesis dengan memberikan umpan balik negatif pada GnRH hipotalamus, sehingga akan menurunkan sekresi LH dan FSH

hipofisis. Penurunan kadar LH menyebabkan penurunan kadar testosteron endogen pada tubulus seminiferus. Hal ini juga terjadi pada pria yang menggunakan steroid anabolik-androgen. Penggunaan steroid anabolik-androgen dapat menurunkan kadar testosteron yang dihasilkan sel Leydig, sehingga mengganggu spermatogenesis.³⁵

2.2.3 Peran Estrogen pada Sistem Reproduksi Pria

Estrogen memiliki peran penting dalam perkembangan dan menjaga fungsi reproduksi serta fertilitas pria.³⁶ Dengan adanya enzim aromatase yang dihasilkan sel Sertoli pada proses akhir steroidogenesis, testosteron akan dirubah menjadi estrogen di sel Leydig.^{12,27} Estrogen dapat bekerja setelah berikatan dengan reseptor. Komplek estrogen-reseptor akan memberikan umpan balik negatif pada aksis hipotalamus-hipofisis-testis.^{12,36}

Estrogen disebut sebagai hormon spesifik wanita, namun peranan hormon estrogen pada testis sudah banyak diteliti semenjak publikasi hasil penelitian dari Zondek,dkk yang menemukan adanya estrogen pada urin kuda jantan.³⁷ Ditemukannya enzim aromatase dan reseptor estrogen α dan β (ER- α dan ER- β) pada sistem reproduksi pria dan penelitian model tikus transgenik dengan reseptor estrogen α *knock out* (ER α KO) atau dengan enzim aromatase *knock out* (ArKO) menunjukkan bahwa estrogen berperan dalam mengendalikan gametogenesis, perkembangan tubulus seminiferus, dan regulasi steroidogenesis pada sel Leydig.¹⁶ Estrogen juga berperan untuk maskulinisasi pada otak, hal ini dibuktikan dengan ditemukannya aktivitas aromatase dan ER di hipokampus pada

awal kelahiran.¹⁶ Reabsorpsi cairan pada duktus efferen testis juga dijaga oleh estrogen melalui ER- α .^{16,17}

Spermatogenesis membutuhkan keseimbangan aksis hipotalamus-hipofisis-testis, dan estrogen memiliki peran dalam menjaga keseimbangan tersebut. Berdasarkan penelitian pada tikus jantan yang diberikan estrogen dengan dosis tinggi akan menekan aksis hipotalamus-hipofisis-testis, sehingga FSH dan kadar testosteron pada tubulus seminiferus akan menurun.³⁸ Penurunan testosteron akibat adanya estrogen menyebabkan terjadinya *spermiation failure* yaitu gagalnya perkembangan spermatid menjadi spermatozoa. Tetapi, pemberian estrogen memiliki *maintenance effect* yang membantu proses antiapoptosis pada fase awal perkembangan spermatid menuju ke spermatozoa.³⁸ Estrogen juga memberikan efek perkembangan sel germinativum pada spermatogenesis, hal ini dibuktikan dengan ditemukannya ekspresi ER- β pada spermatogonia, spermatosit primer, dan spermatosit sekunder.¹⁷

Beberapa literatur menyatakan bahwa paparan estrogen poten dari lingkungan akan mengganggu perkembangan sistem reproduksi pria, menurunkan ukuran testis, dan menurunkan jumlah spermatozoa sehingga mempengaruhi fertilitas pria.^{39,40} Penelitian pada tikus hamil yang diberi *ethinyl estradiol* (EE) akan menyebabkan penurunan jumlah sel Sertoli akibat adanya umpan balik negatif pada FSH. Jumlah sel Sertoli yang menurun ini akan mengakibatkan produksi spermatozoa menjadi lebih sedikit.⁴⁰

2.3 Pengaruh Lingkungan terhadap Sistem Reproduksi Pria

2.3.1 *Endocrine Disrupting Chemicals*

Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) didefinisikan sebagai *agent* dari luar tubuh yang akan mengganggu produksi, pelepasan, transpor, metabolisme, ikatan, aksi, atau eliminasi hormon di dalam tubuh yang bertugas mengatur homeostasis dan proses perkembangan organ.⁴¹ EDCs dapat bekerja pada berbagai macam reseptor hormon, terutama hormon estrogen dan mengganggu sistem regulasi hormon endokrin.⁹

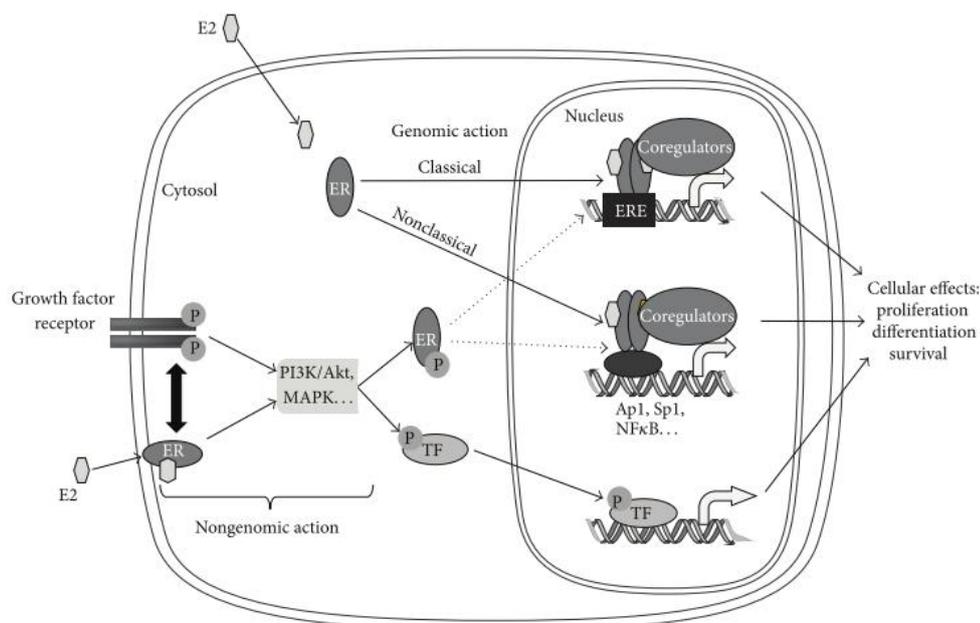
EDCs awalnya hanya merupakan bahan kimia sintetis yang digunakan untuk pestisida, pelarut, atau fungisida, tetapi sekarang telah ditemukan efek samping jika terserap oleh tubuh dan dapat menyerupai hormon, sehingga mengganggu fungsi tubuh normal.^{9,10} Bahan kimia ini telah ditemukan dapat dalam bentuk sintetis maupun alami.⁹ Produk pelumas industri dan turunannya [*polychlorinated biphenyls* (PCBs), *polybrominated biphenyls* (PBBs), dioxins], plastik [*bisphenol A* (BPA)], *Phtalate*, pestisida [*methoxychlor*, *dichlorodiphenyltrichloroethane* (DDT), *chlorpyrifos*], fungisida (vinclozolin), dan *diethylstilbestrol* (DES) merupakan contoh EDCs dari bahan kimia sintetis. Sedangkan bahan kimia alami yang dapat ditemukan pada makanan manusia dan hewan juga dapat berperan sebagai EDCs, seperti *phytoestrogens* termasuk *genistein*.^{9,42}

Beberapa EDCs memiliki waktu paruh lama yang menguntungkan untuk proses industri, tapi merugikan untuk manusia dan satwa liar. Hal ini dikarenakan zat tersebut tidak mudah rusak, tidak dapat dimetabolisme, atau dapat dimetabolisme menjadi zat yang lebih toksik.⁹ Manusia dapat terpapar EDCs

melalui air, tanah, udara, dan makanan yang terkontaminasi, terutama yang tinggal di daerah perindustrian, maupun yang bekerja dengan pestisida, fungisida, atau bahan kimia industri.^{9,43}

Banyak studi telah dilakukan mengenai kerja EDCs (*estrogen-like/xenoestrogens*) berikatan dan mengaktifasi reseptor estrogen pada target organ. Terdapat perbedaan distribusi dan fungsi fisiologis ER- α dan ER- β pada tiap organ, sehingga EDCs dapat menunjukkan aktivitas agonis atau antagonis pada reseptor estrogen jaringan atau selama perkembangan. Berdasarkan sifat fisikokimiawi dari estrogen yang larut dalam lemak sehingga memudahkan untuk masuk ke dalam sitoplasma dan berikatan dengan reseptor estrogen baik di sitoplasma atau nukleus. Ikatan estrogen dan reseptornya ini memiliki dua aksi, yaitu aksi genomik dan nongenomik. Kedua aksi ini akan memberikan efek pada sel, yaitu proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup. Aksi genomik terdiri dari dua jalur, yaitu klasik dan non-klasik. Pada jalur klasik reseptor estrogen memodulasi ekspresi dari gen target estrogen dengan cara berikatan langsung pada *estrogen response element* (ERE). Interaksi ini akan menginduksi mobilisasi koregulator yang dibutuhkan untuk transkripsi. Namun beberapa gen yang sensitif terhadap estrogen tidak mengandung ERE, sehingga reseptor estrogen meregulasi transkripsi melalui interaksi dengan faktor transkripsi lain, yaitu *stimulating protein 1* (Sp1) atau *activator protein 1* (AP1). Interaksi dengan faktor transkripsi lain ini merupakan jalur non-klasik. Sedangkan aksi nongenomik berefek sangat cepat, dalam hitungan detik atau menit, yang menyebabkan aktivasi beberapa jalur

sinyal intraseluler *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) atau *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K).⁴⁴



Gambar 5. Mekanisme aksi dari reseptor estrogen

Melalui sifat fisikokimiawi estrogen yang lipofilik, sehingga hormon ini dapat masuk ke dalam sel melalui membran lipid sitoplasma. 17β -estradiol (E2) dapat berikatan dengan reseptor estrogen yang berada pada sitoplasma dan nukleus. Ikatan estrogen dengan reseptornya ini memiliki 2 aksi yaitu aksi genomik dan aksi nongenomik.

Dikutip dari jurnal *Assessment and Molecular Actions of Endocrine-Disrupting Chemicals That Interfere with Estrogen Receptor Pathways*.⁴⁴

Aksi ikatan estrogen-reseptor ini telah banyak dibuktikan melalui banyak studi. Sebagai contoh, *genistein* memiliki afinitas ER- β 20 kali lebih besar dibanding ikatannya di ER- α . *Genistein* juga telah dilaporkan memiliki efek proliferasif dan antiproliferasif pada sel kanker. Penelitian terbaru menunjukkan efek nongenomik melalui pemberian BPA dan DES dosis tinggi dapat mengaktivasi reseptor estrogen melalui aktivasi MAPK dan PI3K pada sel kanker payudara.⁴⁴

EDCs juga dapat memodulasi sinyal hormonal secara tidak langsung melalui metabolitnya. Sehingga metabolit ini juga harus dipikirkan dan dievaluasi bagaimana mekanismenya. Sebagai contoh adalah metabolit dari insektisida DDT yaitu *dichlorodiphenyldichloroethylene* (DDE) merupakan estrogen lemah dan memungkinkan memberikan efek pada sistem reproduksi beberapa spesies hewan. Penelitian terbaru menemukan bahwa DDE yang bersifat lipofilik dan tahan terhadap biodegradasi, merupakan penyebab feminisasi dari aligator di Danau Apopka.⁴⁴

Paparan EDCs terhadap kesehatan manusia juga dipengaruhi oleh usia pertama kali terpapar. Paparan pada dewasa akan berbeda konsekuensinya dengan masa janin atau anak-anak. Karena pada janin atau anak-anak sedang mengalami perkembangan organ-organ. Selain itu, sistem proteksi tubuh pada janin atau anak-anak seperti mekanisme perbaikan DNA, sistem imun, enzim untuk mendetoksifikasi, *blood brain barrier* belum terbentuk sempurna, sehingga pada masa itu sangat sensitif terhadap paparan bahan kimia yang memiliki aktivitas mirip dengan hormon dalam tubuh. Oleh karena itu, paparan EDCs pada masa janin atau anak-anak akan meningkatkan perkembangan penyakit reproduksi, kelainan hormonal, dan kelainan metabolik di kemudian hari.^{9,10}

2.3.2 Pengaruh *Endocrine Disrupting Chemicals* (EDCs) pada Sistem Reproduksi Pria

Penurunan kualitas dan jumlah spermatozoa, kriptorkismus, hipospadia, dan kanker testis sering kali dikaitkan dengan pengaruh EDCs terhadap sistem reproduksi pria. Kuartet ini disebut sebagai *Testicular Dysgenesis Syndrome*

(TDS).^{10,45} Hipotesis ini muncul dikarenakan efek dari EDCs dan faktor genetik, dapat menyebabkan terjadinya perkembangan testis janin yang abnormal. Hal ini akan mengakibatkan risiko untuk terjadinya kelainan sistem urogenital pada anak laki-laki, penurunan kualitas spermatozoa, dan terjadinya kanker testis pada laki-laki muda.⁹

Etiologi terjadinya TDS ini dikarenakan adanya penurunan aktivitas androgen sehingga menimbulkan efek negatif terhadap sel Sertoli dan sel Leydig. Paparan EDCs yang mirip dengan estrogen (*estrogen-like/xenoestrogens*) pada saat janin akan memberikan umpan balik negatif pada aksis hipotalamus-hipofisis-testis.^{12,36} Umpan balik ini akan menyebabkan penurunan kadar FSH dan LH, sehingga fungsi sel Leydig dan sel Sertoli terganggu.²¹ Hal ini berimbas dengan penurunan testosteron yang penting dalam proses maskulinisasi organ genitalia pada janin dan penurunan testis menuju kavum skrotum, gangguan proses ini akan mengakibatkan kelainan perkembangan organ genitalia, seperti kriptorkismus dan hipospadia.^{19,33,34,41} Selain itu, penurunan FSH akan mengakibatkan fungsi sel Sertoli dalam memulai spermatogenesis terganggu. Sel Sertoli juga menghasilkan ABP digunakan untuk menjaga kadar testosteron pada tubulus seminiferus yang berguna sebagai maturasi spermatozoa.^{21,23,28} Gangguan proses ini akan menghasilkan kualitas spermatozoa yang buruk.^{9,10,41}

Perkembangan teknologi perindustrian dan pertanian di abad ke-20, memberikan lebih banyak paparan bahan kimia yang membahayakan manusia. Terutama EDCs yang memberikan pengaruh pada kesehatan reproduksi pria.⁴³ Studi epidemiologi juga telah dilakukan bahwa terdapat hubungan penurunan

kualitas sperma dengan paparan bahan kimia (dioxin, PCB, *phthalate*, dan pestisida).¹⁰ Selain itu terjadi peningkatan kejadian kriptorkismus, hipospadia, dan penurunan jumlah maupun kualitas spermatozoa pada bayi lahir dengan ibu hamil yang mengonsumsi DES.⁴⁶

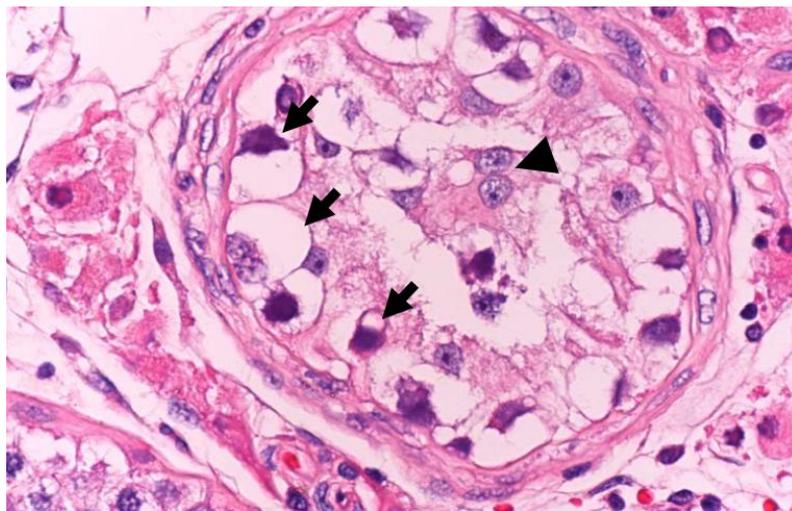
2.4 Keganasan Sel Germinal Testis (*Testicular Germ Cell Tumors*)

2.4.1 Angka Kejadian dan Klasifikasi

Kanker testis merupakan keganasan yang paling umum ditemukan pada laki-laki usia 20-40 tahun. Angka kejadian keganasan ini di dunia berkisar 7,5 per 100.000. Tetapi angka kejadian ini bervariasi antar negara dan kelompok etnis.⁴⁷ Keganasan testis ini terbanyak terjadi pada populasi Eropa, terutama negara-negara Skandinavia dan Jerman.⁴⁸ Sedangkan angka kejadian terkecil terdapat pada populasi Asia dan Afrika.⁴⁸

Testicular germ cell tumors (TGCT) atau keganasan sel germinal testis merupakan 95% tumor ganas yang timbul dalam testis.^{47,49,50} Tumor testis tidak hanya berasal dari sel germinal, sel Leydig dan sel Sertoli juga dapat menjadi tumor stroma yang pada umumnya bersifat jinak.^{1,50} Sehingga istilah kanker testis dan TGCT sering digunakan secara bergantian.¹ Berdasarkan jenis histopatologinya TGCT diklasifikasikan menjadi dua, yaitu seminoma yang sering disebut sebagai "*classic seminoma*" dan non-seminoma.^{1,47,49,50} Dari klasifikasi TGCT, seminoma memiliki angka kejadian tertinggi yaitu 55%, sedangkan 44% adalah non-seminoma (*embryonal carcinoma, yolk sac tumor, choriocarcinoma, teratoma*), dan 1% adalah *spermatocytic seminoma*.¹

Skakkebaek menyatakan bahwa lesi prekursor dari TGCT adalah *carcinoma in situ* (CIS) atau yang juga dikenal dengan *intratubular germ cell neoplasia unclassified type* (ITGCNU).^{1,50} ITGCNU berasal dari sel germinal primordial atau gonosit.⁵¹ Faktor risiko yang paling penting dalam perkembangan ITGCNU adalah kriptorkismus.^{4,51} Sel germinal neoplastik ITGCNU memberikan gambaran khas, yaitu sitoplasma jernih, nukleus atipikal dengan kromatin kasar, dan nukleoli prominen yang ireguler. Pada tubulus seminiferus akan terlihat menyempit, karena pengaruh fibrosis dan penebalan dinding, selain itu juga terjadi penurunan spermatogenesis.⁵²



Gambar 6. *Intratubular Germ Cell Neoplasia.*

Berikut merupakan gambaran morfologi dari sel germinal atipikal dari ITGCNU yang berada pada tubulus seminiferus (tanda panah) dan di sebelahnya terdapat sel Sertoli (tanda kepala panah)

Dikutip dari tesis *Pathogenesis of testicular germ cell tumors from developmental point of view.*⁵³

2.4.2 Faktor Risiko

2.4.2.1 Kriptorkismus

Kriptorkismus adalah salah satu faktor risiko yang paling berperan dalam pembentukan TGCT. Kondisi medis ini memungkinkan untuk terjadinya TGCT lima sampai sepuluh kali dibanding dengan testis normal.^{4,5,54} TGCT karena kriptorkismus tergantung dari beberapa mekanisme patogenesis, seperti genetik, hormonal, dan pengaruh lingkungan (EDCs).⁵⁴ Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasien kriptorkismus yang menunda untuk melakukan *orchidopexy* meningkatkan risiko terjadinya TGCT.^{4,54}

2.4.2.2 Pengaruh Hormon Endogen Ibu

Keadaan ibu yang dapat meningkatkan hormon estrogen di dalam tubuh berhubungan dengan peningkatan risiko TGCT. Penelitian menunjukkan bahwa terjadinya mual yang berlebihan pada kehamilan, dikarenakan peningkatan estrogen juga meningkatkan risiko TGCT. Ibu hamil obesitas juga meningkatkan risiko terjadinya TGCT, keadaan ini menunjukkan menurunnya *Sex-Hormone-Binding Globulin* (SHBG), sehingga estrogen bebas di dalam tubuh juga meningkat.¹

2.4.2.3 Pengaruh Hormon Eksogen Ibu

Penelitian yang dilakukan pada tikus, menunjukkan bahwa paparan DES terhadap janin, meningkatkan risiko cacat maupun kerusakan testis (kriptorkismus, inflamasi, hipoplasia, dan adenokarsinoma rete testis). Pada manusia, beberapa laporan kasus menunjukkan pengaruh paparan DES pada ibu hamil meningkatkan risiko terjadinya kanker testis pada anak laki-lakinya.¹

2.4.2.4 Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs)

Faktor risiko mengenai pengaruh EDCs terhadap kejadian kanker testis masih banyak diperdebatkan. Sampai saat ini hanya satu studi epidemiologi yang membahas mengenai hubungan EDCs dengan risiko kanker testis. Telah diketahui bahwa paparan EDCs dapat mengganggu proses fisiologis hormonal dalam tubuh. Paparan EDCs seperti DDT yang merupakan antagonis reseptor androgen meningkatkan risiko kriptorkismus dan hipospadia. Kriptorkismus sendiri merupakan salah satu faktor risiko yang paling berperan dengan terjadinya TGCT. Sehingga, secara tidak langsung EDCs berhubungan dengan peningkatan risiko TGCT.¹

2.5 Insektisida

2.5.1 Pengertian Insektisida

Insektisida (Inggris : *insecticide*) terdiri dari dua kata yaitu *insect* (*serangga*) dan *cide* (membasmi/mematikan). *United States Environmental Protection Agency* (US EPA) mendefinisikan bahwa insektisida adalah bahan-bahan kimia yang digunakan untuk memberantas dan mencegah serangga (hama) berperilaku yang tidak diinginkan atau merusak.⁵⁵ Umumnya insektisida tersedia dalam berbagai bentuk sediaan, yaitu serbuk basah (*Wettable powders*), serbuk larut air (*Water soluble powders*), debu (*dust*), suspensi, emulsi pekat (*emulsion concentrated*), butiran (*granular*), aerosol, umpan, dan gas (*fumigant*).^{56,57}

Insektisida umumnya digunakan pada bidang pertanian, kesehatan masyarakat, industri, rumah tangga, serta penggunaan secara komersil sebagai

contoh pembasmi kecoa dan rayap.⁵⁵ Dalam bidang kesehatan, insektisida sering digunakan sebagai pembasmi lalat, nyamuk sebagai vektor penyakit malaria dan demam berdarah.⁵⁸ Berdasarkan studi epidemiologi, penggunaan insektisida rumah tangga di Jakarta untuk pengendalian serangga berada dalam angka 80%.⁵⁸

Penggunaan insektisida dapat memberikan dampak yang buruk tidak hanya lingkungan juga kesehatan apabila penggunaannya tidak tepat. Hal ini dikarenakan semua insektisida bersifat toksik, dan hanya berbeda derajat toksisitasnya.⁵⁸ Penggunaan insektisida di dalam ruang tertutup seperti rumah tangga dapat menyebabkan akumulasi, sehingga semakin memberikan dampak negatif pada kesehatan keluarga. Akumulasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti perilaku pengguna insektisida, rute paparan, lama paparan, frekuensi penggunaan, dan kandungan insektisida.^{57,58}

Insektisida memiliki bermacam-macam tipe berdasarkan kandungan senyawa yang terdapat di dalamnya, seperti senyawa organoklorin, karbamat, piretroid, organofosfat, dan lain-lain. Senyawa organoklorin umumnya memiliki toksisitas yang rendah, tetapi dapat bertahan lama di lingkungan. DDT adalah salah satu contoh senyawa organoklorin yang memiliki toksisitas tinggi. DDT dapat membahayakan lingkungan dan kesehatan karena derajat toksisitasnya serta tidak mudahnya senyawa yang relatif stabil ini untuk diuraikan oleh alam. Senyawa piretroid, organofosfat dan karbamat adalah senyawa insektisida modern yang memiliki persistensi rendah. Sehingga residu insektisida ini akan mudah diuraikan di alam.^{57,58}

Senyawa yang terkandung dalam insektisida merupakan EDCs.^{10,41} Telah banyak dilakukan penelitian hubungan antara kandungan insektisida terhadap kesehatan manusia. Senyawa piretroid sendiri telah terbukti pada penelitian secara *in vitro* memiliki efek anti androgenik yang dapat memberikan kerusakan pada sistem reproduksi pria.⁵⁹

Terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi paparan insektisida sebagai EDCs terhadap kesehatan manusia, yaitu usia pertama kali terpapar, lama paparan, dosis, dan kandungan zat aktif insektisida.^{9,60} Paparan pada masa janin atau anak-anak lebih berbahaya dibanding dengan pada waktu dewasa. Hal ini dikarenakan perkembangan sistem organ maupun proteksi tubuh belum sempurna pada masa janin atau anak-anak.^{9,10} Telah diketahui, bahwa lama paparan juga meningkatkan risiko terjadinya kanker, defisit neurologis, gangguan genetik, hingga kematian.⁶⁰ Masih banyak kontroversi hubungan dosis kontaminan lingkungan terhadap kesehatan manusia. Perlu diperhatikan bahwa dosis juga berhubungan dengan *critical developmental window*, terbukti cukup dengan paparan dosis kecil dapat memberikan efek yang lebih poten.⁹ Pada saat seseorang terpapar dengan kontaminan lingkungan, kandungan zat aktif di dalam insektisida juga berperan. Selain memberikan efek yang berbeda dalam tubuh manusia, bahan-bahan kimia yang ada di dalam insektisida dapat berinteraksi dan menimbulkan efek aditif atau bahkan sinergistik.⁹

2.5.2 Transflutrin

Transflutrin merupakan salah satu jenis piretroid yang paling sering digunakan sebagai insektisida rumah tangga.^{58,61} Senyawa ini sering digunakan

dalam insektisida sediaan semprot non aerosol, semprot aerosol, bakar/koil (obat nyamuk bakar bentuk lingkaran), maupun vaporizer (mat/elektrik).^{58,62} Produk yang menggunakan transflutrin sebagai bahan aktifnya adalah Baygon[®] dan Raid[®].^{61,62}

Piretroid alami berasal dari bunga *Chrysanthemum cinerariaefolium*, sedangkan piretroid sintetis yang merupakan hasil sintesa piretrin. Pemberian bahan kimia lain dapat meningkatkan toksisitas dan mengurangi kecepatan reduksi piretroid di lingkungan.⁵⁸ Insektisida yang termasuk turunan piretroid adalah transflutrin, d-alletrin, permetrin, praletrin, bioalletrin, dan sipermetrin.^{15,58,63}

Umumnya piretroid merupakan senyawa yang memiliki toksisitas sistemik rendah jika terkena kulit karena tidak mudah terabsorpsi. Tetapi senyawa ini mudah terabsorpsi pada mukosa pencernaan dan pernafasan.^{58,61,64} Selain itu piretroid memiliki peran dalam keseimbangan hormonal manusia (EDCs). Piretroid memiliki efek estrogenik dan antiandrogenik pada mamalia. Efek ini akan merubah keseimbangan endokrin, sehingga mempengaruhi fungsi homeostasis, sistem reproduksi, dan meningkatkan resiko kanker.^{64,65}

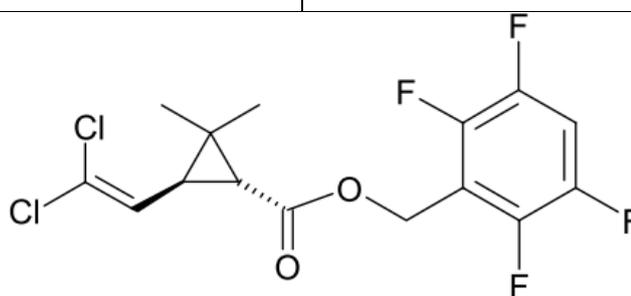
Berikut adalah informasi mengenai transflutrin;

Tabel 2 . Informasi transflutrin

Dikutip dari *WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides: Transfluthrin*.⁶⁶

ISO common name	Transfluthrin
CAS registry number	118712-89-3

Chemical names	IUPAC : 2,3,5,6-tetrafluorobenzyl (1R,3S)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₂ Cl ₂ F ₄ O ₂
Relative molecular mass	371.2 g/mol



Gambar 7. Struktur formula transflutrin

Dikutip *WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides: Transfluthrin*.⁶⁶

2.5.3 Propoxur

Propoxur adalah insektisida golongan karbamat yang masih sering digunakan.⁵⁸ Insektisida ini bekerja dengan menghambat produksi dan aksi dari *cholinesterase* yang memiliki peran penting pada sistem saraf.^{58,67} Umumnya propoxur banyak digunakan dalam rumah tangga maupun pertanian untuk membunuh nyamuk, lalat, semut, kutu, dan pinjal.⁶⁷ Propoxur lebih sering digunakan dalam sediaan aerosol.¹⁵ Baygon® adalah produk yang memiliki bahan aktif propoxur.⁶⁸

The State of California menyatakan bahwa propoxur termasuk sebagai karsinogen. Penelitian yang dilakukan oleh *National Cancer Institute* menemukan

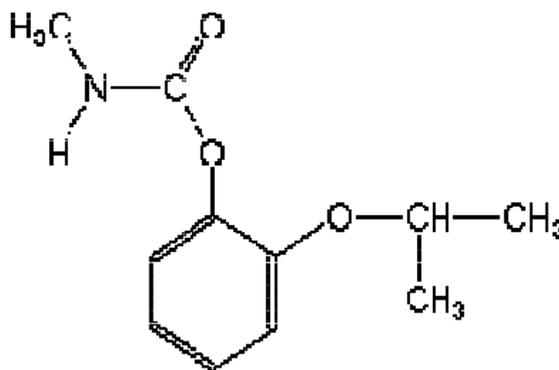
hubungan antara paparan propoxur terhadap peningkatan risiko *non-hodgkin lymphoma*.⁶⁹

Berikut adalah informasi mengenai propoxur;

Tabel 3. Informasi propoxur

Dikutip dari *WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides: Propoxur*.⁷⁰

<i>ISO common name</i>	Propoxur
<i>CAS registry number</i>	114-26-1
<i>Chemical names</i>	IUPAC : 2-isopropoxyphenyl methylcarbamate
<i>Empirical formula</i>	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃
Relative molecular mass	209.25 g/mol



Gambar 8. Struktur formula propoxur

Dikutip *WHO Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides: Propoxur*.⁷⁰

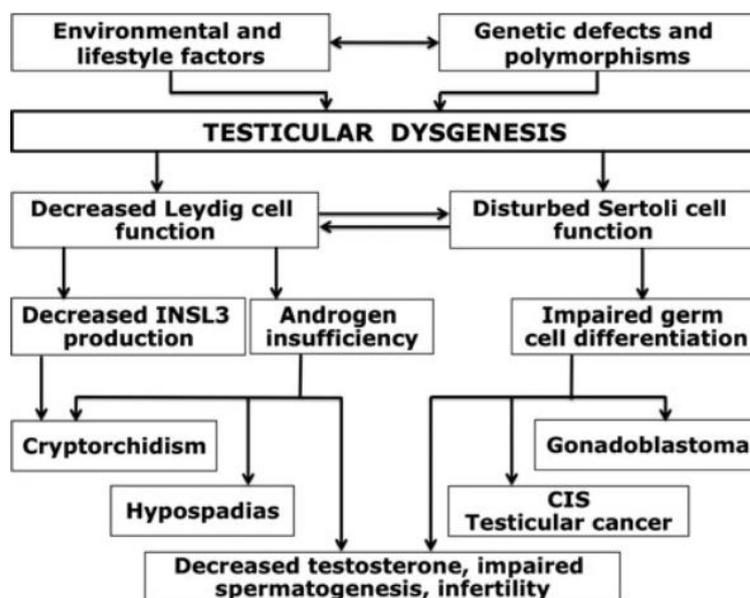
2.5.4 Pengaruh Insektisida terhadap Keganasan Sel Germinal Testis

Asal mula kanker testis adalah CIS atau ITGCNU, yaitu transformasi keganasan yang terjadi pada awal perkembangan dari sel germinal primordial (PGC) atau gonosit yang gagal berproliferasi atau berdiferensiasi. Walaupun etiologi dari kanker testis belum diketahui secara pasti, terdapat faktor risiko dari genetik dan lingkungan. Berdasarkan penelitian, telah ditemukan gen yang meningkatkan kerentanan terhadap kanker testis (Xq27). Selain itu riwayat dalam keluarga merupakan faktor risiko yang kuat. Salah satu faktor risiko yang relevan dari keganasan testis adalah ketidakseimbangan hormonal estrogen dan androgen, yaitu hubungan EDCs terhadap hormon endogen tubuh.⁷¹

Sudah banyak studi yang dilakukan untuk melihat hubungan antara pengaruh EDCs terhadap insidensi kanker testis. Di negara-negara Eropa Utara menunjukkan peningkatan angka insidensi kanker testis yang berhubungan dengan paparan kontaminan lingkungan.⁴⁸ Studi *case control* terdahulu menunjukkan adanya hubungan paparan estrogen dari luar tubuh pada ibu dengan trimester pertama, meningkatkan risiko kanker testis pada anak laki-laki. Penelitian terbaru juga menunjukkan peningkatan angka kejadian TGCT pada ibu yang terpapar oleh DES. Penelitian pada beberapa jenis tikus menunjukkan pemberian estrogen di masa prenatal dan postnatal meningkatkan perkembangan kanker testis.¹⁷

Mekanisme paparan estrogen sampai terbentuknya kanker testis sampai sekarang masih belum jelas patogenesisnya. Telah dilaporkan, bahwa terjadi peningkatan kadar estrogen pada pasien TGCT. Hal ini mungkin disebabkan

karena produksi lokal dari sel tumor tersebut.¹⁷ Penelitian pada tikus menunjukkan efek karsinogenik dari paparan estrogen terhadap sel testis berhubungan dengan kerusakan oksidatif DNA yang dimediasi oleh reseptor estrogen. Dalam studi tersebut paparan *17 α -ethinylestradiol* pada sel testis tikus menyebabkan peningkatan pembentukan *7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine* (8-OxodG) pada nukleus testis, yang merupakan tanda dari kerusakan oksidatif DNA. Kerusakan oksidatif DNA ini lebih mudah terjadi pada spermatogonia melalui ER- β yang banyak diekspresikan pada sel tersebut. Selain itu, karena sel spermatogonia berada di luar blood testis barrier, sehingga lebih memudahkan terpapar pengaruh sistemik, seperti estrogen eksogen. Walaupun ER- β memiliki enzim detoksifikasi spesifik terhadap karsinogen, tetapi reseptor ini kemungkinan memediasi karsinogenesis yang terinduksi estrogen. Melalui proses inilah, sel spermatogonia menjadi prekursor keganasan sel germinal.^{17,72}



Gambar 9. Skema konsep hubungan faktor lingkungan dan genetik terhadap TDS
Dikutip dari buku *Epigenetic and Human Reproduction*.⁷³