

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

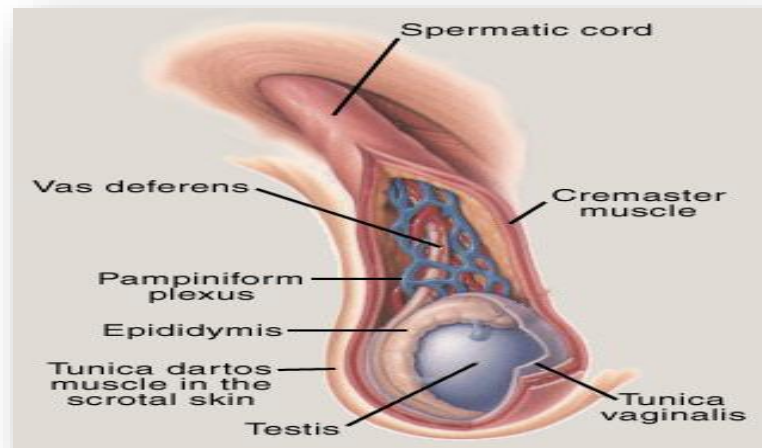
2.1. Testis

2.1.1. Anatomi Testis

Testis berjumlah 2 dengan bentuk ovoid, pipih dengan ketebalan $\pm 2,5$ cm, berwarna putih, terletak di dalam cavum skroti. Testis terletak di ekstra abdominal atau di luar perut testis berada pada kantung scrotum kanan dan kiri pada umumnya testis sebelah kiri letaknya lebih rendah dibandingkan sebelah kanan. Ukuran testis rata – rata $4 \times 3 \times 2,5$ cm, dengan berat ± 32 gram. Morfologi testis terdapat 2 permukaan datar disebut facies lateralis medialis dan 2 kutub atau polus yaitu polus superior dan polus inferior. Testis dibungkus oleh tunika vaginalis pars parietalis, tunika vaginalis pars visceralis, tunika albuginea dan tunika vaskulosa. Testis memiliki lobulus yang dipisahkan oleh septum testis yang dibentuk dari penebalan tunika albuginea. Setiap lobus pada testis terdiri dari tubulus seminiferus dan interstitial testis.^{10,11}

Nutrisi testis utamanya dipasok oleh arteri testicularis yang merupakan cabang dari aorta abdominalis. Cabang-cabang arteri testikularis ber-anastomose dengan arteri dari duktus deferens. Drainase vena dari testis dan epididimis dimulai dari plexus pampiniformis yang kemudian akan membentuk vena testikularis. Vena testikularis kanan masuk ke vena cava inferior sedangkan yang kiri akan bergabung dengan vena renalis kiri. Drainase limfe mengikuti pembuluh darah testikularis berada didalam *spermatic cord* menuju ke nodula limfatik daerah lateral aorta atau lumbal dan pre-aortic lumbal dua. Testis disarafi oleh plexus testikularis yang berisi

parasimpatis n. vagus, serabut afferent visceral dan serabut simpatis yang berasal dari segment torakal 7.^{12,13}



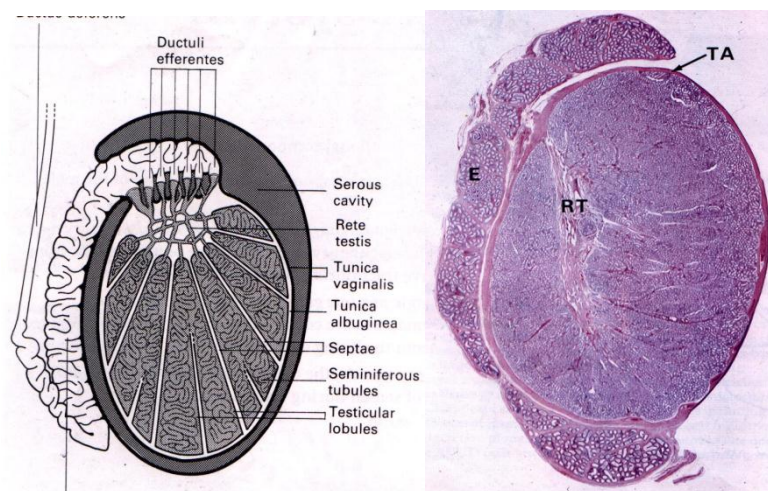
Gambar 1. Anatomi Testis.¹¹

2.1.2. Histologi Testis

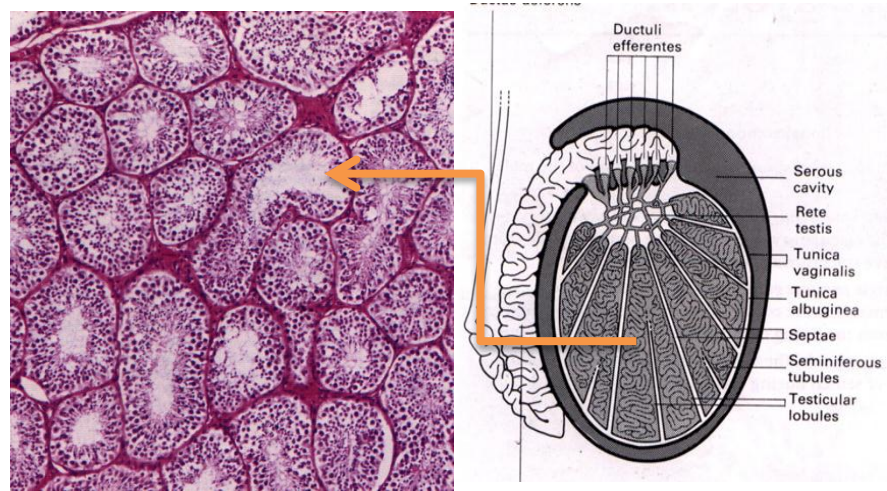
Testis dibungkus oleh tunika vaginalis pars parietalis dan tunika vaginalis pars visceralis yang dipisahkan oleh celah berisi cairan serosa jaringan pengikat ini dilapisi mesotel sedangkan tunika albuginea memiliki jaringan pengikat padat fibrosa. Tunika albuginea ini adalah lapisan yang langsung menempel pada parenkim testis dan menebal membentuk septum yang memisahkan lobulus testis. Di sepanjang septulum terdapat tunika vaskulosa yang berasal dari jaringan pengikat longgar yang berbentuk anyaman dari pembuluh – pembuluh darah yang nantinya akan berlanjut sebagai jaringan interstitial. Interstitial testis ini berisi makrofag, fibroblas, mastosit dan sel mesenkim. Terdapat juga sel leydig yaitu sel endokrin pada testis yang berfungsi sebagai produksi hormon kelamin laki – laki atau biasa disebut sebagai hormon testosteron. Di bagian tengah testis terdapat mediastinum yaitu tempat penebalan sebagai tempat berakhirnya septum testis atau

bisa disebut juga daerah penebalan diujung testis. Mediastinum ini diisi oleh tubulus rektus dan rete testis. Tubulus rektus adalah bagian akhir dari tubulus seminiferus dan memiliki epitel kuboid selapis. Sedangkan rete testis adalah lanjutan dari tubulus rektus, sebuah ruangan yang memiliki dinding tidak rata dan memiliki epitel skuamus simpleks. Rete testis ini nantinya akan berlanjut sebagai duktus efferen.^{14,15}

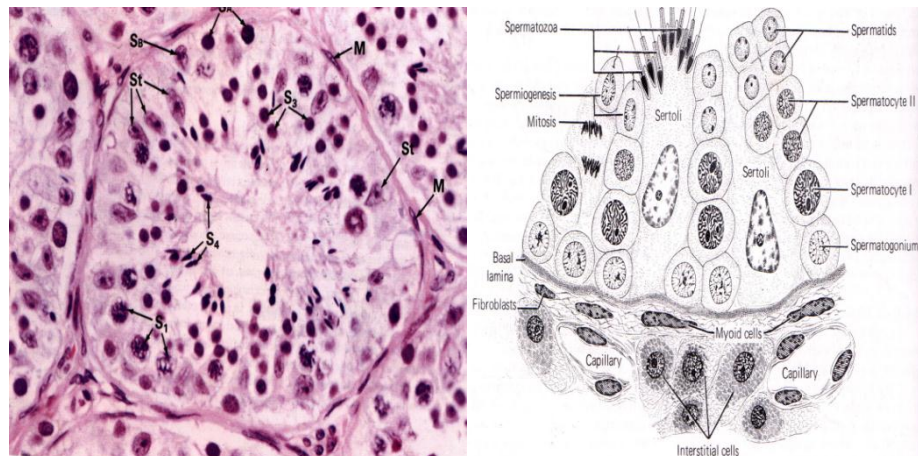
Tubulus seminiferus memiliki bentuk seperti pipa berkelok – kelok memiliki diameter 150 – 250 μm dan berfungsi sebagai pars sekretori dari kelenjar sitogenik. Dinding tubulus seminiferus memiliki epitel yang berlapis yaitu 4 sampai 8 lapis. Terdapat sel spermatogenik yaitu spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid, spermatozoa, terdapat juga sel penyokong yaitu sel sertoli yang berfungsi menyokong pemberian nutrisi untuk proses spermatogenesis dan terdapat membrana basalis. Lamina propianya terdapat sel – sel mesenkhim dari jaringan interstitial dan sel myoid yang terdiri dari epiteloid dan jaringan kontraktil.¹⁵



Gambar 2. Bagan histologi testis.¹⁵



Gambar 3. Histologi tubulus seminiferus.¹⁵



Gambar 4. Histologi Spermatogenesis pada tubulus seminiferus dan sel sertoli.¹⁵

2.1.3. Fisiologi Testis

Testis memiliki fungsi ganda, yaitu untuk memproduksi hormon yaitu androgen, testosteron dan dihidrotestosteron, dan untuk memproduksi spermatozoa. Sekitar 80% dari massa testis terdiri dari tubulus seminiferus. Proses pembentukan spermatozoa disebut spermatogenesis. Spermatozoa dibentuk dari sel germinal

primitif di sepanjang dinding tubulus seminiferus.¹⁶ Di dalam tubulus seminiferus juga terdapat sel Sertoli yang memiliki fungsi membantu sel germinal dalam memelihara suasana agar sel tersebut dapat berkembang dan menjadi dewasa, mengirimkan sinyal untuk memulai spermatogenesis dan mempertahankan perkembangan spermatid, mengatur fungsi kelenjar pituitari sekaligus mengontrol spermatogenesis.^{17,18} Di antara tubulus seminiferus terdapat sel Leydig yang memproduksi testosteron dan dihidrotestosteron keduanya adalah suatu hormon steroid yang berasal dari prekursor kolesterol. Hormon ini akan disekresikan ke dalam aliran darah terutama dalam bentuk terikat ke protein plasma menuju tempat kerjanya. Sebagian dari testosteron yang baru dibentuk mengalir ke lumen tubulus seminiferus tempat hormon ini berperan penting dalam produksi sperma.^{12,16,19} Efek testosteron dapat dikelompokkan menjadi lima kategori yaitu (1) Efek sebelum lahir, untuk memaskulinisasi saluran reproduksi dan genitalia eksterna, serta mendorong turunnya testis ke dalam skrotum, (2) Efek pada jaringan spesifik seks setelah lahir, untuk mendorong pertumbuhan dan pematangan sistem reproduksi saat masa pubertas serta proses spermatogenesis dan memelihara saluran reproduksi sepanjang masa dewasa, (3) Efek terkait reproduksi lainnya, untuk membentuk dorongan seks saat pubertas dan mengontrol sekresi hormon gonadotropin, (4) Efek pada karakteristik seks sekunder, untuk memicu pertumbuhan rambut pria contohnya janggut serta menyebabkan suara lebih berat karena menebalnya lipatan pita suara dan mendorong pertumbuhan otot yang membentuk pola tubuh pria, (5) Efek non-reproduktif, untuk efek anabolik protein, mendorong pertumbuhan tulang saat pubertas, menutup lempeng epifisis setelah diubah menjadi estrogen oleh aromatase dan memicu perilaku agresif.^{10,14,16}

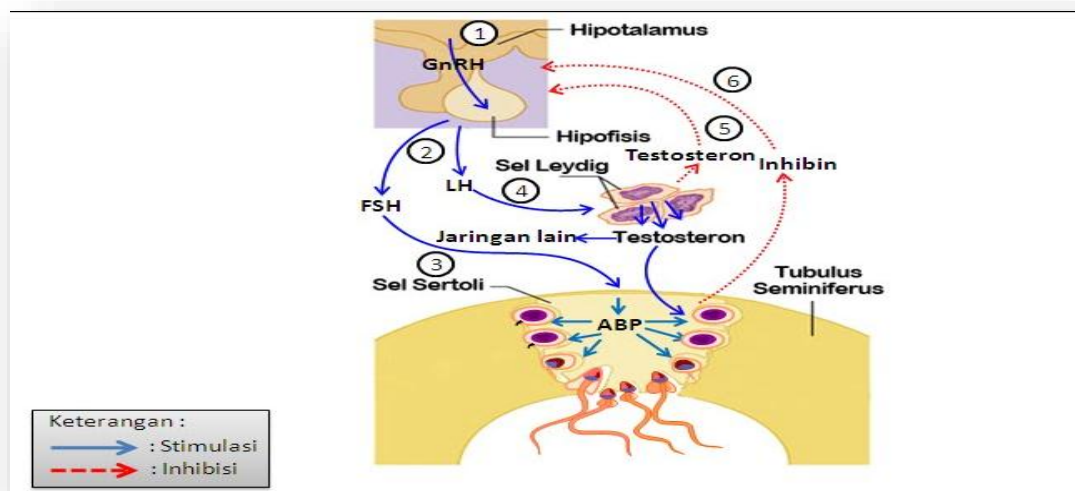
Pada testis tubulus-tubulus seminiferus akan bergabung membentuk duktus yang lebih besar yang disebut tubulus rektus. Tubulus rektus akan membentuk rete testis yang akan berakhir membentuk duktus efferen. Di dalam tubulus - tubulus tersebut mengalir cairan seminalis yang mengandung sperma dari testis menuju ke epididimis. Dari epididimis spermatozoa memasuki vas deferens lalu duktus ejakulatorius dan terakhir menuju ke urethra. Testis normal berada di dalam kantung yang disebut skrotum, berfungsi untuk melindungi testis dan menjaga agar suhu testis sekitar 1,5 – 2 °C dibawah suhu tubuh.^{14,15}

2.2. Spermatogenesis

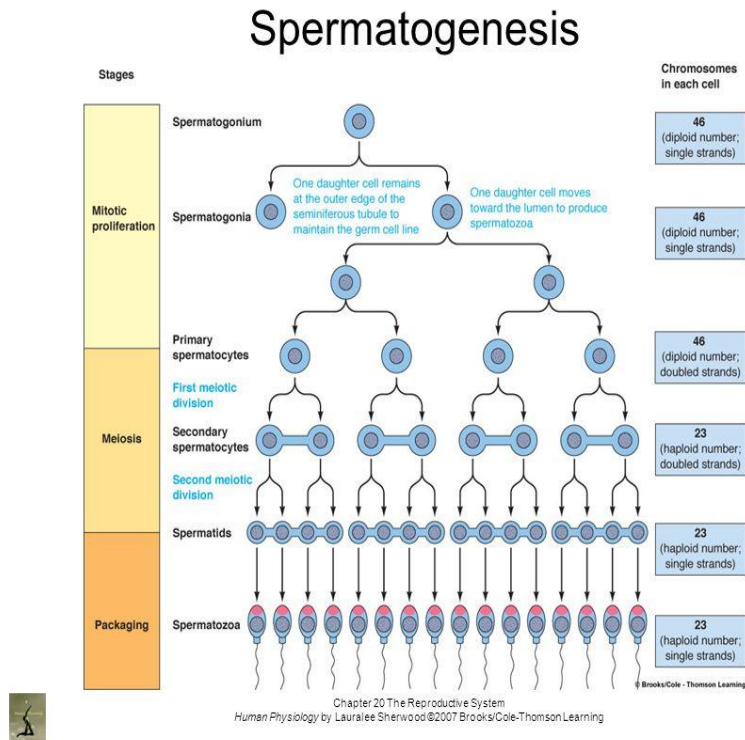
Spermatogenesis adalah proses berkelanjutan dari pembelahan sel germinal untuk menghasilkan spermatozoa yang terjadi epitelium tubulus seminiferus melalui tahap perubahan dari spermatogonia yang masing – masing mengandung komponen diploid 46 kromosom mengalami proliferasi dan diubah menjadi spermatozoa yang sangat khusus dan dapat bergerak masing – masing mengandung komponen haploid 23 kromosom yang terdistribusi secara acak. Spermatogenesis terjadi di dalam semua tubulus seminiferus saat mulai masa seksual aktif akibat dari rangsangan hormon *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) pada hipotalamus yang akan memberikan sinyal pada hipofisis anterior untuk mengeluarkan hormon FSH yang berfungsi untuk merangsang pembentukan sperma secara langsung serta merangsang sel sertoli untuk menghasilkan *androgen binding protein* (ABP) untuk memacu spermatogonia dalam melakukan spermatogenesis, hormon GnRH juga merangsang pengeluaran hormon LH yang berfungsi untuk merangsang sel leydig untuk memperoleh sekresi testosteron suatu

hormon seks yang penting untuk perkembangan sperma.^{10,12,16,20} Pengeluaran hormon ini dimulai rata-rata pada usia 13 tahun dan berlanjut seumur hidup. Proses spermatogenesis dibagi menjadi beberapa tahap, yaitu proliferasi mitotik, meiosis, dan pengemasan atau spermiogenesis. Pada tahap awal spermatogenesis, spermatogonia primitif mengandung komplemen lengkap 46 kromosom identik dengan sel induk berkumpul di tepi membran basal epitel germinativum untuk mempertahankan sel germinativum, disebut sebagai spermatogonia tipe A, spermatogonia tersebut membelah menjadi sel yang sedikit lebih berdiferensiasi, yaitu spermatogonia tipe B. Pada tahap ini spermatogonia bermigrasi ke arah sentral lumen di antara sel-sel sertoli untuk menghasilkan spermatozoa. Dalam waktu kira-kira 24 hari setiap spermatogonium yang melewati lapisan pertahanan masuk ke dalam lapisan sel Sertoli dimodifikasi secara berangsur-angsur dan membesar untuk membentuk spermatozoid primer yang besar dengan 46 kromosom. Setelah pembelahan mitotik terakhir, spermatozoid primer masuk ke fase istirahat saat kromosom – kromosom terduplikasi dan untai – untai rangkap tersebut tetap menyatu sebagai persiapan untuk pembelahan meiosis pertama. Pada akhir hari ke-24, terjadi pembelahan meiosis pertama yaitu setiap spermatozoid primer terbagi dua menjadi spermatozoid sekunder masing – masing dengan jumlah haploid 23 kromosom rangkap. Dalam 2 sampai 3 hari meiosis kedua terjadi menghasilkan empat spermatid yang masing – masing memiliki 23 kromosom tunggal. Setelah fase meiosis selesai, tidak lagi terjadi pembelahan sel. Setiap spermatid mengalami modifikasi menjadi sebuah spermatozoa pada proses pengemasan atau yang biasa disebut sebagai fase spermiogenesis. Selama beberapa minggu berikutnya setelah meiosis, setiap spermatid secara perlahan-lahan berubah menjadi spermatozoa

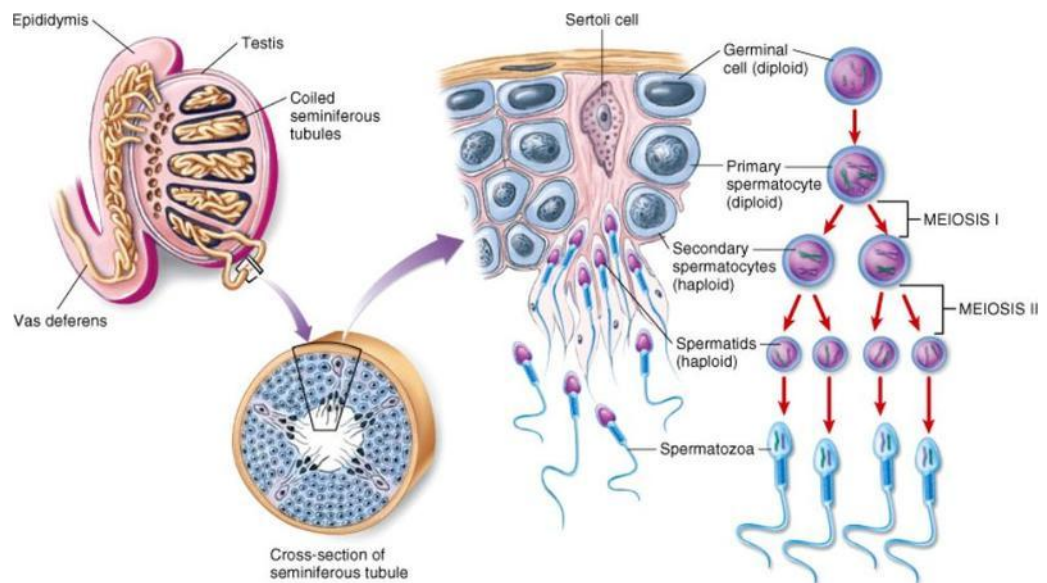
dengan (1) menghilangkan beberapa sitoplasmanya dimana sebagian besar sitosol dan semua organel yang tidak dibutuhkan untuk menyampaikan informasi genetik sperma ke ovum telah disingkirkan karena itu sperma dapat bergerak cepat, (2) mengatur kembali bahan kromatin dari inti spermatid untuk membentuk satu kepala yang padat terutama terdiri dari nukleus yang mengandung informasi genetik sperma serta terdapat akrosom vesikel berisi enzim yang menutupi ujung kepala digunakan sebagai bor enzim untuk menembus ovum, dan (3) mengumpulkan sisa sitoplasma dan membran sel pada salah satu ujung dari sel untuk membentuk ekor seperti cambuk yang gerakannya dijalankan oleh energi yang dihasilkan oleh mitokondria yang terkonsentrasi di bagian tengah sperma. Proses pembentukan spermatozoa ini membutuhkan waktu kira-kira 64 hari.^{14,15,20,21,22,23}



Gambar 5. Hormon – hormon Spermatogenesis.¹⁴



Gambar 6. Tahapan Pembelahan Spermatogenesis.¹⁴



Gambar 7. Spermatogenesis pada Tubulus Seminiferus.¹⁴

2.3. Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) bukanlah suatu penyakit yang menular. Diabetes Melitus merupakan suatu penyakit sistemik yang diakibatkan oleh gangguan

metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Secara garis besar diabetes melitus (DM) dibagi menjadi 2 tipe yaitu, diabetes melitus tipe I merupakan kelainan metabolik dengan ditandai kenaikan kadar glukosa darah tinggi yang disebabkan oleh karena kerusakan sel-sel β pulau Langerhans pada pankreas oleh karena reaksi autoimun, sedangkan diabetes mellitus tipe II merupakan kelainan metabolik dengan ditandai kenaikan kadar glukosa darah yang tinggi akibat resistensi insulin. Apabila diabetes melitus tidak ditangani dengan baik dapat menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf, dan pembuluh darah, disertai lesi pada membran basalis dalam pemeriksaan dengan mikroskop elektron.^{3,24}

Diabetes melitus tipe I (DMT1) atau disebut juga *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). Diabetes ini merupakan diabetes yang jarang atau sedikit populasinya, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Diabetes tipe ini disebabkan kerusakan sel - sel β pulau Langerhans oleh karena reaksi autoimun. Pada pulau Langerhans kelenjar pankreas terdapat beberapa tipe sel, yaitu sel β , sel α dan sel σ . Sel -sel β memproduksi insulin, sel - sel α memproduksi glukagon, sedangkan sel - sel α memproduksi hormon somastatin. Namun demikian serangan autoimun secara selektif menghancurkan sel – sel β . Sehingga produksi insulin menjadi terganggu dan mengakibatkan tidak termetabolismenya glukosa yang pada akhirnya mengakibatkan kenaikan kadar gula pada darah.^{4,25}

Diabetes melitus tipe II (DMT2) atau disebut juga *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM). Hal ini terjadi berawal karena kurangnya pengetahuan

yang membawa masyarakat pada pola hidup yang tidak sehat. Terutama pola asupan makan yang tidak sehat. Asupan makanan adalah banyaknya makanan yang dikonsumsi seseorang. Asupan Energi yang berlebih secara kronis akan, menimbulkan kenaikan berat badan, berat badan lebih (over weight), dan obesitas. Makanan dengan kepadatan energi yang tinggi lebih banyak mengandung lemak dan gula yang ditambahkan dan cenderung kurang mengandung serat. Apabila kondisi ini dalam tubuh dibiarkan akan terjadi kenaikan glukosa dalam darah yang lama kelamaan bisa mengakibatkan terjadinya salah satu dari suatu sindroma metabolik yaitu terjadi resistensi insulin sehingga terjadi gangguan toleransi glukosa yang diakibatkan karena kurangnya rangsangan sel- β pada pankreas dan mengganggu sekresi insulin yang pada akhirnya mengakibatkan terjadinya defisiensi relatif insulin. Terdapat bukti bahwa semakin tinggi indeks massa tubuh maka semakin tinggi tingkat resistensi insulin.^{14,26}

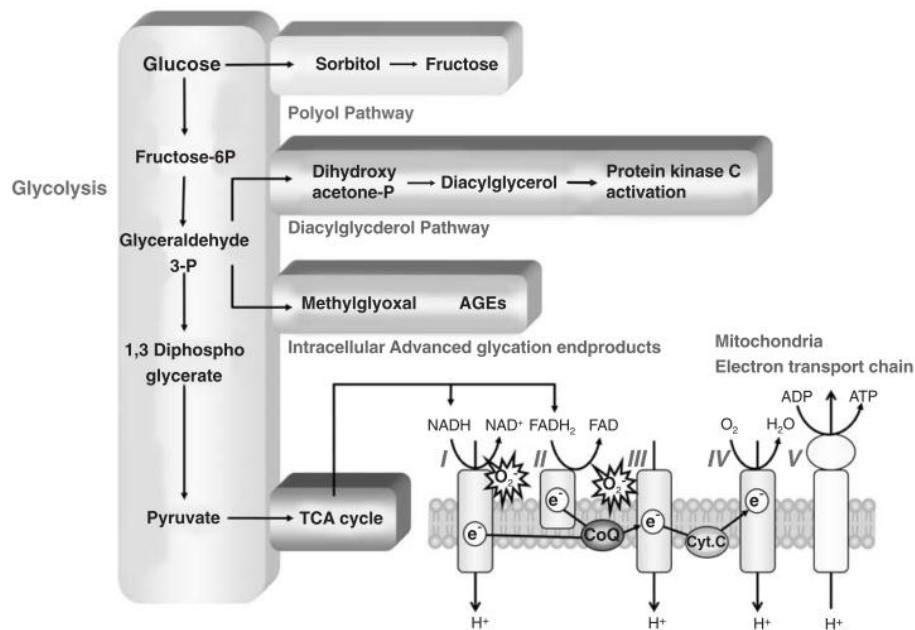
Diagnosis klinis diabetes umumnya ditegakkan apabila terdapat gejala khas berupa polifagia, poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan oleh beberapa pasien adalah lemah, kesemutan, gatal, mata kabur, dan disfungsi ereksi pada pria. Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa dengan metode enzimatis digunakan sebagai penegak diagnosis DM. Bila didapatkan kadar glukosa darah sewaktu 200 mg/dl dan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis diabetes melitus.⁴

2.4. Stres Oksidatif akibat peningkatan ROS pada Diabetes Melitus

Sumber Reactive Oxygen Species (ROS) dapat berasal dari eksogen maupun endogen. ROS yang berasal dari eksogen merupakan proses penambahan radikal bebas dari luar tubuh seperti terpapar polutan, asap rokok, penggunaan obat dan radiasi.²¹ ROS endogen merupakan produk dari proses fisiologis dan metabolisme aerobik seluler di dalam mitokondria melalui jalur *oxidative phosphorylation* dari rantai pernafasan mitokondria. Secara keseluruhan terdapat lima kompleks utama multienzim yaitu kompleks I, II, III, IV dan transfer ATP. Proses terbentuknya ROS utamanya terjadi pada kompleks I dan III. Keadaan hiperglikemia akan memicu terbentuknya ROS melalui 3 jalur, yaitu : jalur poliol, jalur aktivasi protein kinase C, dan peningkatan produk akhir dari proses glikasi.^{8,20,27} Normalnya molekul oksigen (O₂) membawa dua pasang elektron, dengan demikian oksigen rentan mengalami pembentukan radikal bebas. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh merupakan produk dari reduksi enzimatik oksigen dari proses pembentukan energi sel atau respirasi sel. Bentuk utama dari ROS terjadi dengan penambahan elektron ekstra untuk O₂ yang pada akhirnya menghasilkan anion superoksida radikal (O₂⁻). Anion Superoksida ini dapat terkonversi menjadi ROS yang lain, yaitu *hydrogen peroxide* (H₂O₂), *hydroxyl* (OH⁻), dan *peroxyl* (HO₂).²⁸ Radikal bebas merupakan suatu molekul oksigen yang membawa satu atau lebih pasangan elektron, hal ini membuat keadaan menjadi tidak stabil dan sangat reaktif dengan adanya asam amino, lipid, dan asam nukleat. Kerusakan jaringan akibat ketidakseimbangan tingkat ROS dan antioksidan dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif yang berkelanjutan dapat merugikan proses fisiologis tubuh.²⁹

Keadaan hiperglikemia pada diabetes melitus dapat meningkatkan kadar ROS. Normalnya pada saat makanan masuk ke dalam tubuh kita, glukosa akan diabsorpsi oleh usus dengan bantuan insulin, kemudian glukosa akan masuk ke dalam aliran darah, dan selanjutnya disimpan di dalam hati dalam bentuk glikogen.¹⁴ Akan tetapi pada kondisi diabetes melitus proses penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen di dalam hati ini terganggu akibat gangguan fungsi insulin sehingga terjadi penumpukan glukosa di dalam darah, hal ini yang disebut sebagai keadaan hiperglikemi. Keadaan hiperglikemi ini pada akhirnya akan mengganggu sistem metabolisme sel sehingga meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan dapat mempengaruhi berbagai struktur maupun fungsi jaringan, termasuk struktur dan berbagai protein di dalam sel.³⁰ Pembentukan ROS yang berlebihan dapat merusak enzim-enzim yang berfungsi sebagai antioksidan radikal bebas.⁸ Hal ini apabila dibiarkan secara terus menerus akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif akibat peningkatan pembentuk radikal bebas dan menurunnya sistem penetralan dan pembuangan radikal bebas tersebut.²⁹ Hiperglikemi dapat meningkatkan jumlah ROS melalui peningkatan jalur sintesa glukose 6-fosfat dan dilanjutkan dengan peningkatan produksi fruktose 1,6-bisfosfat yang akan mendorong peningkatan sintesa glukosamine, dihidroksiaseton dan gliseraldehyde. Peningkatan dehidroksiaseton akan diikuti dengan peningkatan gliserol 3-fosfat, diasilgliserol (DAG) dan aktivasi protein PKC yang seterusnya meningkatkan produksi ROS. Peningkatan sintesa gliseraldehyde 3-fosfat diikuti dengan meningkatnya produksi enediol, 1,3-bisfosfoglisarat dan metiglioksal. Pembentukan enediol akan diikuti pembentukan α -ketoaldehid, sedangkan peningkatan 1,3-bisfosfoglisarat akan diikuti dengan peningkatan

pembentukan piruvat, sedangkan meningkatnya metiglioksal akan diikuti peningkatan proses glikasi. Baik α -ketoaldehyd, piruvat dan proses glikasi akan meningkatkan pembentukan ROS yang pada akhirnya akan menyebabkan stres oksidatif jaringan dan berujung pada kematian jaringan.^{20,31}



Gambar 8. Jalur peningkatan ROS.

2.5. Infertilitas pada Diabetes Melitus

Infertilitas didefinisikan sebagai ketidakmampuan untuk mencapai kehamilan setelah 12 bulan melakukan hubungan seksual yang teratur.³² Hal ini terjadi 15% pada pasangan usia reproduktif. Seperempatnya dapat dijelaskan karena faktor laki-laki saja dan 50% faktor dikombinasi antara laki – laki dan perempuan.⁸ Dari hasil analisis banyak ditemukan abnormalitas semen pada laki – laki usia reproduktif, akibat dari banyak faktor yang mempengaruhi. Terdapat faktor intrinsik dan eksterinsik. Salah satu faktor penyebabnya adalah diabetes melitus. Seperti yang telah dijelaskan bahwa keadaan hiperglikemia pada diabetes

melitus meningkatkan ROS dalam tubuh. Dari hasil penelitian, ROS (*Reactive Oxygen Species*) terlibat sebagai salah satu potensi penyebab terjadinya infertilitas pada laki – laki dengan presentase sebesar 40%. Penelitian kontemporer juga menunjukkan kadar ROS meningkat 30% sampai 80% pada pria infertil. Beberapa ROS yang berperan dalam reproduksi adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), peroksil (ROO^-), hidroksil (OH^-), dan nitrit oksida (NO).^{8,29}

Kerusakan patologis dari stres oksidatif bisa diakibatkan karena tidak seimbangnya oksidan – antioksidan sistem, peningkatan ROS melampaui kapasitas sistem buffer antioksidan dan bisa karena keduanya.²⁹ Stres oksidatif pada sistem urogenital menyebabkan kerusakan sperma, penurunan motilitas, peroksidasi lipid, peningkatan kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan penurunan *oocyte-sperm fusion*.^{29,21} Hal ini menunjukkan ROS memiliki dampak yang signifikan terhadap spermatogenesis serta pada fungsi sperma.³³ *Reactive oxygen species* (ROS) dapat mengakibatkan penurunan fosforilasi protein axonemal dan mengurangi permeabilitas membran. ROS tertentu seperti H_2O_2 dapat berdifusi melintasi membran seluler dan mengganggu aktivitas enzimatik seperti G6PD sehingga menyebabkan penurunan produksi NADPH.⁸ Dengan tidak tersedianya NADPH, proses reduktase glutathione tidak terjadi sehingga terjadi penumpukan GSH (bentuk oksidasi dari glutathione).^{8,29,34} Hal ini menyebabkan rasio kadar reduksi per oksidasi glutathione menurun sehingga menyebabkan ketidak seimbangan antara ROS dan antioksidan, sehingga terjadi peningkatan fosforilasi dari membran fosfolipid.²⁸ Hal ini akan memicu terkumpulnya peroksidase lipid dan mengganggu kestabilan serta integritas membran. Keadaan ini dapat

mengakibatkan *mitochondrial permeability transition* yang menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria dan mengakibatkan kebocoran membran sehingga terjadipolarisasi membran dan pengaktifkan *apoptotic factor* yang akan menginduksi terjadinya proses *apoptosis*.³⁵ Terjadinya proses *apoptosis* pada spermatozoa akibat stres oksidatif karena peningkatan ROS dapat sebagai penyebab yang mendasari terjadinya *oligozoospermia*. Pasien dengan *oligozoospermia* dan *oligoasthenospermia* menunjukkan peningkatan jumlah ROS dibandingkan dengan pasien normal.^{8,21} Peningkatan stres oksidatif menyebabkan kerusakan DNA dari mitokondria dan bahan inti spermatozoa.²¹ Peningkatan jumlah ROS sangat berhubungan dengan jumlah kerusakan DNA sperma pada laki – laki infertil.^{8,33} Penelitian sebelumnya menjelaskan tidak mengurangi jumlah ROS atau tidak memperbaiki kerusakan fragmen DNA yang ditimbulkan akibat ROS tidak memungkinkan untuk dapat terjadinya kehamilan.⁸

ROS dapat disebut sebagai penyebab peningkatan radikal secara endogen. Peningkatan ROS dapat merusak enzim – enzim yang berfungsi sebagai antioksidan. Apabila tubuh juga menerima radikal bebas dari luar atau eksogen maka tingginya akumulasi radikal ini menyebabkan stres oksidatif sehingga mengganggu proses respirasi dari metabolisme sel.⁸ Stres oksidatif dapat merusak jalur *hypothalamus pituitary gonadal axis* yang mengakibatkan penurunan kadar testosteron dalam plasma, hormon LH dan FSH sehingga proses spermatogenesis mengalami hambatan. Stres oksidatif juga menyebabkan kerusakan pada sel penghasil testosteron atau leydig dan pada sel penghasil nutrisi untuk spermatogenesis atau sel sertoli. Penurunan hormon testosteron secara progresif akan mempengaruhi aktivitas dari enzim LDH yang akan mempengaruhi

metabolisme sel sertoli, dimana hal ini akan berdampak pada spermatogenesis. ROS juga menghambat pembentukan laktat melalui sintesa piruvat. Dengan adanya ROS yang mengakibatkan stres oksidatif dapat menurunkan kadar testosteron yang mempengaruhi kerja enzim LDH untuk merubah NADH menjadi NAD^+ sebagai bahan pembentuk laktat pada sel sertoli menyebabkan sintesa piruvat terganggu sehingga laktat tidak diproduksi.³⁶ Telah kita ketahui laktat di dalam sel sertoli berfungsi sebagai asupan nutrisi spermatozoa dalam proses spermatogenesis. Dengan tidak tercukupinya asupan nutrisi maka akan terbentuk kualitas sperma yang tidak baik.^{1,8,16,36,37} *Apoptosis* adalah suatu mekanisme kematian sel secara terprogram, program kematian sel suatu mekanisme fisiologis untuk menghilangkan sel yang berlebihan selama proliferasi dan menghilangkan sel – sel yang dapat berpotensi berbahaya. ROS yang berlebihan mengakibatkan stres oksidatif pada spermatozoa dengan segala kerusakan yang ditimbulkan seperti yang telah dijelaskan, sehingga memicu jalur *apoptosis* intrinsik akibat kerusakan – kerusakan yang ditimbulkan dan menurunkan produksi spermatozoa akibat penurunan hormon – hormon pembentuk. Hal tersebut sebagai salah satu yang mendasari berkurangnya jumlah sperma atau *oligozoospermia* saat ejakulasi, yang pada akhirnya menyebabkan infertilitas pada pria.^{8,21}

2.6. Metode Penilaian

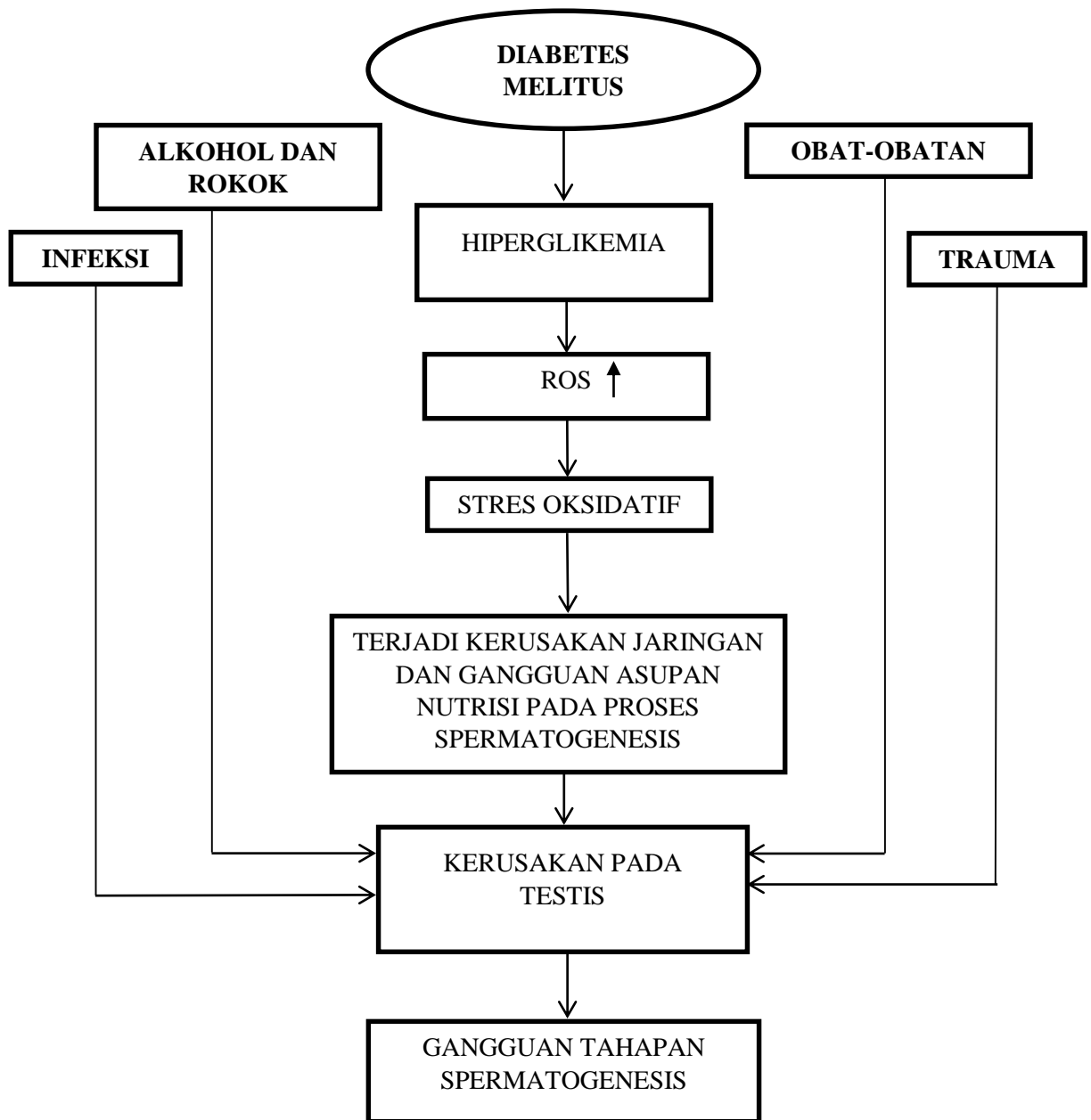
Metode kriteria *Johnsen* digunakan untuk mengevaluasi atau menilai gambaran histopatologi spermatogenesis pada biopsi testis. Kriteria ini memiliki skor 1-10. Kriteria *Johnsen* akan menilai secara kuantitatif elemen benih dan hubungan antara spermatogenesis dengan kepadatan spermatozoa pada cairan

seminalis.³⁹ Pemeriksaan dan penilaian dilakukan dengan cara preparat testis diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x untuk diperiksa dan dinilai skor spermatogenesisnya. Pengamatan dan pemberian skor dilakukan pada lima lapangan pandang tiap preparat. Skor dari masing masing lapangan pandang dirata-rata, sehingga didapatkan skor untuk masing-masing tikus. Skor masing masing tikus kemudian dicari nilai mediannya sebagai skor kelompok. Hasil skor masing-masing kelompok kemudian dibandingkan.^{9,38}

Tabel 2. Kriteria *Johnsen*.³⁸

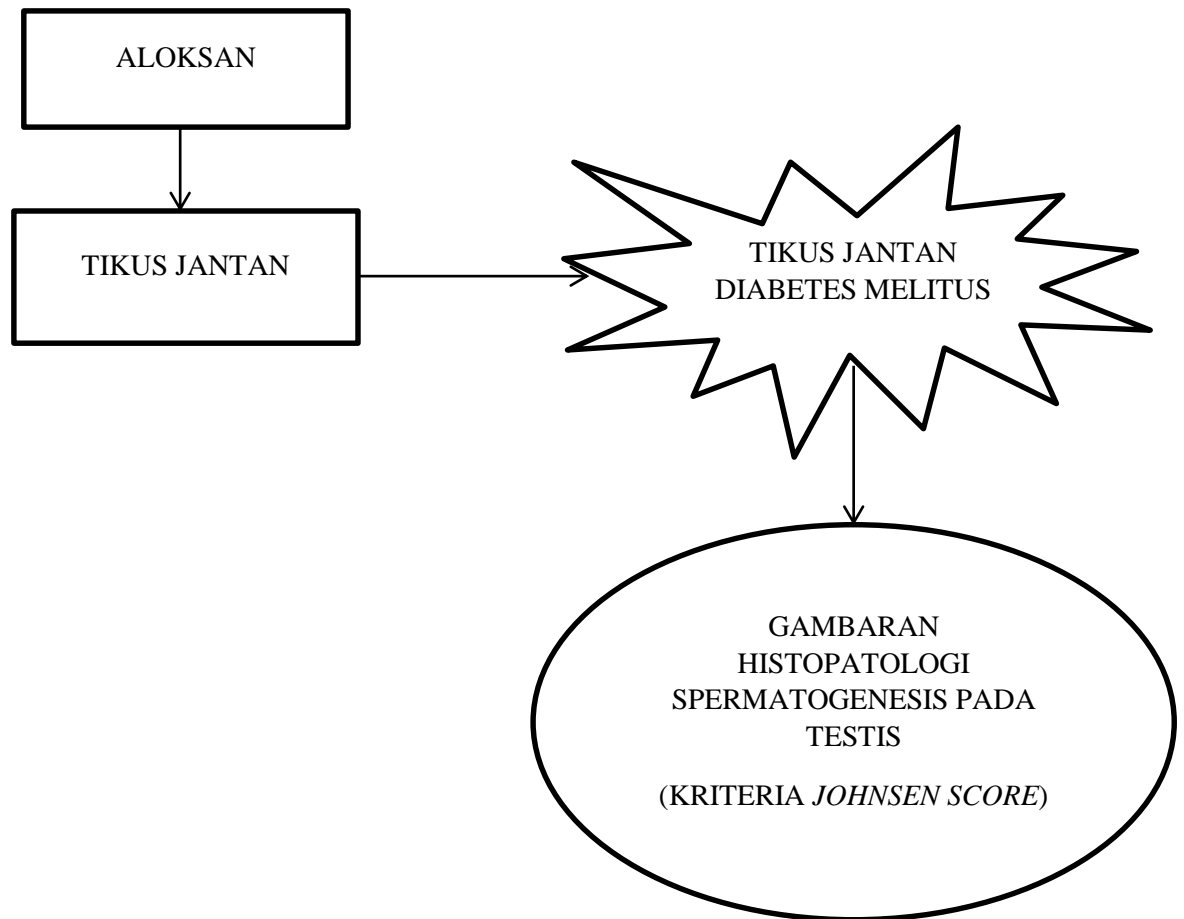
Skor	Penilaian
10	Epitel tubulus normal, spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 10
9	Epitel tubulus rusak, lumen tubulus tertutup, sel spermatozoa ≥ 10
8	Sel spermatozoa < 10
7	Sel spermatozoa 0, Sel spermatid ≥ 10
6	Sel spermatozoa 0, Sel spermatid < 10
5	Sel spermatozoa dan Sel spermatid 0, sel spermatosit ≥ 5
4	Sel spermatozoa dan Sel spermatid 0, sel spermatosit < 5
3	Sel spermatogenik hanya terdiri atas sel spermatogonium
2	Sel spermatogenik 0, hanya ada sel sertoli
1	Tidak ada sel sama sekali dalam tubulus

2.7. Kerangka Teori



Gambar 9. Kerangka teori

2.8. Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka konsep

2.9. Hipotesis Penelitian

Terdapat gangguan tahapan spermatogenesis yang bermakna pada tikus *Wistar* jantan dengan diabetes melitus dibandingkan tikus normal.

