

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

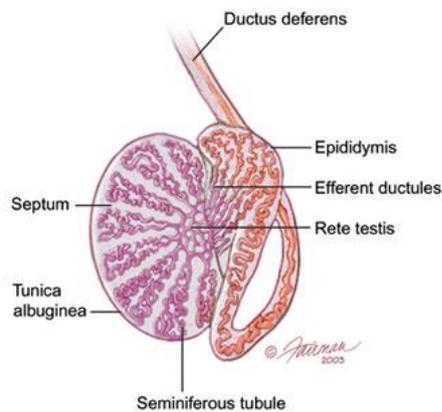
##### **1. Sistem Reproduksi Maskulina**

Genitalia eksternal maskulina terdiri dari penis, suatu organ kopulatorius dan dua testis yang tergantung dalam kantong fibroelastik dan kutaneus yang disebut skrotum (Fawcett, 2002). Selain itu sistem reproduksi pria mencakup komponen epididimis, duktus deferens, vesikula seminalis, prostat dan glandula bulbouretralis, duktus ejakulatorius, dan uretra (Johnson, 2011).

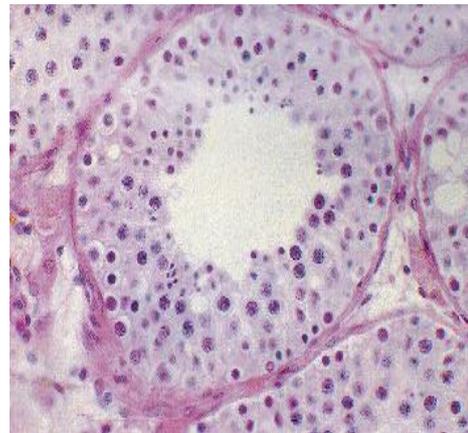
##### **a. Testis**

###### **Struktur dan Fungsi Testis**

Testis berada dalam kapsul fibrosa tebal, tunika albuginea. Partisi fibrosa tipis, disebut testis septula, menyebar dari mediastinum ke tunika albuginea, membagi interior testis menjadi sekitar 250 kompartemen piramidal testis lobuli. Setiap lobul terdiri dari satu sampai empat tubulus seminiferus (Fawcett, 2002). Pada sistem reproduksi kerja organ reproduksi didukung oleh hormon testosteron. Testosteron adalah hormon utama yang diproduksi oleh testis. Testosteron dan hasil metabolismanya, dihidrotestosteron, merupakan kebutuhan fisiologis (Carneiro dan Junqueira, 2007)



Gambar 1. Saluran reproduksi jantan



Gambar 2. Tubulus Seminiferus

Tubulus seminiferus adalah tempat memproduksi spermatozoid. (Carneiro dan Junqueira, 2007). Isi dari tubulus seminiferus ini nantinya disalurkan ke tubulu rekti yang nantinya bermuara ke rete testis (Johnson, 2011). Setiap tubulu seminiferus dikelilingi oleh jaringan kaya kapiler. Pengisi celah angular antar tubulus seminiferus terdapat kelompok sel Leydig yang berfungsi untuk menghasilkan hormon seks pria, testosteron (Fawcett, 2002).

Tubulus seminiferus dibatasi oleh epitelium stratifikatum yang disebut sebagai **germinal** atau **epitelium seminiferus**. Dinding terluar epitelium dikelilingi oleh lamina basalis dan jaringan ikat fibrosa yang terdiri dari beberapa lapisan fibroblas. Tubulus seminiferus terbentuk dari dua tipe sel, yaitu sel sertoli dan sel-sel spermatogenik. Sel-sel spermatogenik berada pada lapisan ke 4-8, yang berfungsi untuk menghasilkan spermatozoa. Sel sertoli sendiri merupakan sel berbentuk piramid memanjang yang bagian dasarnya melekat pada lamina basalis.

Sel sertoli berperan dalam menunjang, melindungi dan mengatur nutrisi spermatozoa yang berkembang (Carneiro dan Junqueira, 2007).

Pada awal perkembangan kehidupan embrionik, testis berada di bawah peritoneum pada dinding dorsal rongga abdominalis. Testis kemudian turun ke dalam skrotum dan keluar dari kantong peritoneum. Testis ini disebut testis tunika vaginalis propria. Turunnya testis membentuk rongga serosa bebas yang membungkus permukaan anterior dan lateral testis. Lapisan viseranya hampir melekat pada kapsul testis dan dipisah oleh celah sempit dari lapisan parietal. Syaraf dan pembuluh darah masuk testis melalui permukaan posteriornya (Fawcett, 2002).

Pada perkembangan postnatal, perkembangan sel Leydig terbagi dalam beberapa fase. Pertama, sel-sel progenitor ditemukan pada usia 14-21 hari. Pada fase ini ini ditemukannya RLF (relaxin-Like Factor) untuk pertama kalinya pada usia ke 25 hari. Sel-sel tersebut kemudian dikonversi menjadi sel Leydig imatur (ILC) sampai usia hari ke-35 memperoleh struktur organel steroidogenik dan adanya aktivitas enzim, tetapi kebanyakan produksi testosteron dimetabolisme oleh sel tersebut. Terakhir, sel Leydig memasuki fase dewasa dan membentuk sel Leydig dewasa hingga usia 90 hari (ALC). Pada fase ini mulai diproduksi testosteron secara aktif (Ge, et al., 2005).

## b. Tahapan Pembentukan Spermatozoa

### 1) Fase pembentukan spermatozoa

Fase di mana spermatid mengalami proses sitodiferensiasi hingga menghasilkan spermatozoa disebut **spermiogenesis**. Spermiogenesis terdiri dari tiga fase, yaitu:

- a) **Fase Golgi**. Pada fase ini, sitoplasma spermatid mengandung kompleks Golgi di dekat inti, mitokondria, sepasang sentriol, ribosom bebas, dan tubulus retikulum endoplasmis licin. Granula proakrosom berkumpul dalam kompleks Golgi dan kemudian menyatu membentuk satu granula akrosom yang terdapat di dalam vesikel akrosom.
- b) **Fase Akrosomal**. Vesikel dan granula akrosom menyebar menutupi belahan anterior dari inti yang memadat yang dikenal sebagai akrosom. Selama fase ini, kutub anterior sel yang mengandung akrosom akan berorientasi ke arah tubulus seminiferus. Inti menjadi lebih panjang dan lebih padat. Salah satu sentriol tumbuh bersama membentuk flagelum. Mitokondria berkumpul di sekitar bagian proksimal flagelum, membentuk bagian menebal yang dikenal sebagai bagian tengah, daerah di mana pergerakan spermatozoa dibangkitkan.
- c) **Fase Pematangan**. Pada fase ini sitoplasma residu dibuang dan difagositosis oleh sel sertoli dan spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus (Carneiro dan Junqueira, 2007).

2) Sel spermatozoa yang dihasilkan oleh testis melalui proses dinamis tersebut ternyata belum cukup siap untuk melakukan fertilisasi. Spermatozoa tersebut membutuhkan kemampuan motil. Kemampuan tersebut didapatkan ketika sperma disimpan di dalam bagian caudal epididimis. Motil sperma menjadi aktif ketika terjadi ejakulasi dan sperma bercampur dengan hasil sekresi dari kelenjar aksesorius (Vicens, 2014).

### c. Motilitas Sperma

Jumlah spermatozoa hidup pada sampel semen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu umur hewan, jenis pakan yang dikonsumsi, radikal bebas, suhu, pH, dan viskositas pengencer serta variasi individu (Garner dan Hafez, 2000). Salah satu penyebab terjadinya penurunan kualitas ini karena sperma terkontaminasi oleh bahan toksik ( Hayati, et al., 2006).

Menurut Dethan et al. (2010) Makanan merupakan salah satu faktor penting untuk memperoleh produksi spermatozoa yang berkualitas. Makanan yang mengandung nutrisi nutrisi yang seimbang akan sangat membantu pertumbuhan dan reproduksi secara normal (Dethan., et al). Apabila tubuh kekurangan asupan gizi maka dapat mengurangi berat badan serta kualitas spermatozoa, salah satunya viabilitas spermatozoa (Cheah dan Yang, 2011).

Pembentukan radikal bebas/ ROS(reactive oxygen Species) yang berlebihan dapat berhubungan dengan penurunan fertilisasi (kecepatan,

morfologi, motilitas dan daya hidup atau viabilitas spermatozoa). Radikal bebas juga dapat menimbulkan gangguan hormonal dan spermatogenesis (Diska et al., 2011).

Mengukur konsentrasi spermatozoa pada semen sangatlah diajarkan. Besarnya konsentrasi spermatozoa tidak secara spesifik menentukan fungsi testis, namun hal tersebut berhubungan langsung terhadap tingkat kesuburan dan angka terjadinya kehamilan. Jumlah total sperma merujuk pada jumlah spermatozoa saat ejakulasi dan diperoleh dari konsentrasi sperma yang ada pada volume semen (WHO, 2000).

## **2. Pewangi Ruangan**

Dewasa ini pewangi ruangan mulai marak digunakan dalam lingkungan rumah tangga. Aroma segar dan menenangkan dianggap menjadi salah satu alasan digunakannya pewangi ruangan. Pewangi ruangan berdasarkan wujudnya dibedakan menjadi dua jenis, yaitu pewangi ruangan *gel*(padat) dan *spray*(cair). Pewangi ruangan ada yang terbuat dari bahan alami namun ada juga yang terbuat dari bahan sintetik. Masyarakat tidak mengira bahwa dibalik kesegaran yang dihasilkan oleh pewangi ruangan sintetik terdapat senyawa-senyawa berbahaya yang dapat merusak tubuh hingga tingkat seluler. Sebuah penelitian menemukan 94 jenis VOCs ( *Volatile Organic Compounds* ) pada pewangi ruangan sintetik. Senyawa tersebut meliputi 18 olefin, 15 alkohol, 14 aldehid, 4 keton, 5 eter, 1 fenol, 25 ester dan 12 senyawa lainnya (Xiaoxin, 2012).

Pada pewangi ruangan juga digunakan senyawa ftalat yang berfungsi sebagai pencampur larutan (Perera, et al., 2013).

Kandungan pewangi ruangan baik *gel* maupun *spray* memiliki persentase yang berbeda. Pada paragraf sebelumnya telah dijelaskan beberapa bahan sintetik pembuat pewangi ruangan, diantaranya adalah aldehid dan ftalat. Pewangi ruangan *gel* dan *spray* ternyata memiliki komposisi yang berbeda. Pada *gel* persentase formaldehida lebih tinggi dibandingkan dengan pewangi ruangan berbentuk *spray*. Pada *spray* kandungan ftalatnya memiliki persentase lebih tinggi dibandingkan *gel* (BEUC, 2005).

#### a. Formaldehid

Formaldehid adalah polutan udara utama di dalam ruangan yang memiliki efek pada kesehatan. Senyawa ini diklasifikasikan di grup 1 (sebagai senyawa bersifat karsinogen) oleh International Agency for Research on Cancer (Chiappini, et al., 2010). Formaldehid digunakan secara luas sebagai pewangi ruangan dan sebagai pembersih peralatan rumah tangga (Nazaroff dan Weschler, 2004).

Formaldehid merupakan senyawa yang sangat reaktif. Formaldehid dapat bereaksi dengan berbagai senyawa makromolekul yang berbeda, sebagai contoh reaksi dengan protein, asam nukleat, dan dapat bereaksi dengan mikromolekul, sebagai contohnya adalah asam amino (Cheng et al., 2003; Metz et al., 2004). Gas formaldehid yang terhirup dapat menyebabkan penurunan kemampuan mengingat (Lu et al., 2008),

meningkatkan stres oksidatif pada testis (Zhou et al, 2006), dan menyebabkan pembesaran liver (Kum et al., 2007).

Ambang batas aman formalin di dalam tubuh menurut IPCS (*International Programme on Chemical Safety*) lembaga khusus PBB yang bertugas mengontrol keselamatan penggunaan bahan kimia, dalam bentuk cairan adalah 1 miligram per liter, sedangkan dalam bentuk makanan untuk orang dewasa adalah 1,5 – 14 mg/hari. (Wisnu, 2006; Nurheti, 2007).

Pada penelitian sebelumnya didapatkan bahwa pada pendedahan formaldehid pada hewan uji menunjukkan atrofi tubulus seminiferus yang parah dan pembengkakan jaringan ikat. Studi *Histomorphological* menunjukkan tingginya kejadian kematian sperma dan kelainan sperma yang dikaitkan dengan penurunan jumlah sperma. Dampak tersebut dapat menyebabkan kemandulan setelah terjadinya pematangan seksual (Razi, et al., 2013).

#### b. Ftalat

Ftalat digunakan sebagai bahan pengemulsi campuran pewangi, alkohol dan air. Beberapa senyawa diketahui bersifat karsinogenik, yaitu *Di-ethyl Phthalate* (DEP), *Di-n-butyl Phthalate* (DBP), *Di-isobutyl Phthalate* (DIBP), *Di-methyl Phthalate* (DMP), dan *Di-isohexyl Phthalate* (DIHP) (Perera, et al., 2013). Ftalat adalah senyawa kimia yang dapat meningkatkan dan mempertahankan aroma pewangi ruangan, namun senyawa ini tergolong berbahaya karena dapat

menyebabkan terjadinya gangguan hormonal, kelahiran cacat, dan permasalahan reproduksi ( Jayasinghe, et al., 2012).

Salah satu senyawa ftalat yang paling berbahaya adalah 2-methoxyethyl phthalate (DMEP). Di dalam tubuh senyawa DMEP akan dihidrolisis menjadi 2-methoxyethanol (2-ME) yang selanjutnya akan dioksidasi oleh alkohol dehidrogenase menjadi 2-methoxyacetaldehid (MALD), kemudian oleh aldehyd dehidrogenase diubah menjadi methoxyacetic acid (MAA). Hasil akhir dari metabolisme ftalat tersebut merupakan bahan toksik dan teratogenik (Moslen et al., 1994 dalam Hayati, 2006). Ftalat (DHP dan DCHP) memiliki efek atrofi pada tubulus seminiferus, vakuolisasi sel sertoli, dan sel-sel spermatogenik menjadi debris (Mufide, 2013).

Dalam sebuah penelitian sebelumnya ditemukan pendedahan ftalat dapat menurunkan secara signifikan pada diameter tubulus semeniferus, diameter inti Sel Leydig, jumlah dari spermatosit primer, spermatosit sekunder dan spermatid. Selain beberapa hal yang telah disebutkan, pendedahan ftalat juga menunjukkan penurunan serum testosteron serta terjadi penurunan tingkat kepadatan ekor sperma dan keberlangsungan hidup sperma (Nair, et al., 2008). Penggunaan dosis ftalat yang terlalu tinggi juga dapat menurunkan berat testis dan menyebabkan ekspresi gen adrogen yang diatur oleh prostat tidak optimal (Axelstad Marta, et al., 2010).

### c. Benzena

Benzena adalah salah satu senyawa toksik yang terdapat pada limbah industri atau limbah laboratorium yang sulit dihilangkan. Benzena yang rumus strukturnya  $C_6H_6$  adalah senyawa kimia organik yang merupakan cairan tak berwarna dan mudah terbakar serta mempunyai bau yang manis. Benzena adalah sejenis karsinogen. Benzena juga merupakan pelarut yang penting dalam dunia industri (Simpen, et al., 2011). Benzena dapat menyebabkan penurunan jumlah dan motilitas spermatozoa (Kumar, et al., 2014).

## 3. Efek Pewangi Ruangan Terhadap Sistem Reproduksi Pria dari Awal Bayi

### a. Formaldehid

Pendedahan formaldehid dapat menyebabkan peningkatan sekresi Corticotropin Releasing Hormone (CRH) oleh hipotalamus dan menyebabkan turunnya sekresi hormon testosteron sebagai efek dari umpan balik aksis hipotalamus-pituitari-testis (Sari, D.K., Kuwahara, S., et al, 2004).

Relaxin-like factor (RLF) atau Leydig cell insulin-like factor (Ley-IL) adalah hormon yang disekresikan oleh kelenjar gonad mamalia. RLF dideteksi sebagai protein berlevel tinggi yang ada pada sel leydig matur (Ivell and Bathgate, 2002). Pada tikus dewasa, hormon ini berfungsi sebagai anti apoptosis pada sel germinal testis (Sadeghian et al., 2005). Pada pemaparan formaldehid terjadi penurunan jumlah sekresi RLF yang diikuti dengan penurunan fungsi dari sel Leydig,

sehingga berakibat pada penurunannya produksi testosteron oleh testis (Gules, Eren, 2010).

Paparan pewangi ruangan yang mengandung formaldehid selain mempengaruhi pembentukan RLF juga dapat membentuk radikal bebas atau *Reactive Oxygen Substances* (ROS) yang terus menerus pada tubuh. ROS yang berlebihan dapat merusak DNA, protein dan lipid penyusun membran sel. Keadaan tersebut menyebabkan penurunan aktivitas enzim superoxyde dismutase (SOD) yang berperan sebagai antioksidan enzimatis (Mahdi et al, 2008). ROS yang dihasilkan akan menginduksi sistem reproduksi pria dan menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi yang mengaktifkan leukosit. ROS yang dihasilkan oleh sel-sel fagositosis menyebabkan kerusakan pada DNA, protein dan lipid. Kerusakan pada DNA ini mampu mempercepat apoptosis sel germinal yang hal ini akan menyebabkan terjadi penurunan jumlah sperma (Colagar et al., 2007).

Keadaan di mana ROS yang terbentuk lebih banyak dari pada antioksidan inilah yang disebut *stress oxydative* dan menyebabkan turunnya fertilitas (Fridovich, 1986 dan Sikka, 1996 dalam Haryani et al., 2011). Stres oksidatif adalah suatu kondisi yang berhubungan dengan peningkatan kecepatan kerusakan sel akibat induksi oksigen dan turunannya (senyawa spesies oksigen reaktif/ROS). Kerusakan sel terjadi akibat ketidakseimbangan antara pembentukan ROS dan aktivitas pertahanan enzim antioksidan (Fujii et al., 2003; Lee et al.,

2004). Kondisi yang berhubungan dengan stres oksidatif adalah infeksi, inflamasi, serta kasus infertilitas yang dapat meningkatkan proses oksidasi dan menyebabkan kerusakan sel (Saleh dan Agarwal, 2002).

Jumlah radikal bebas (ROS) yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan membran spermatozoa akibat terbentuknya lipid peroksida pada membran plasma. Membran plasma spermatozoa mengandung fosfolipid dan asam lemak tak jenuh dalam jumlah besar, dimana asam lemak tak jenuh itu justru sangat rentan terhadap serangan radikal bebas, sehingga ROS dapat dengan mudah menembus masuk membran plasma (Zulfa, 2006).

Formalin menyebabkan menurunnya aktivitas SOD dan GSH-Px yang merupakan antioksidan enzimatis yang terlibat dalam inaktivasi radikal bebas, serta meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) yang merupakan produk penting dari peroksidasi lipid. Peningkatan kadar MDA merupakan indikator terjadinya peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh (Chang and Xu, 2006; Dang-Xia et al., 2006; Mahdi et al., 2008). Hal tersebut menyebabkan penurunan jumlah spermatozoa, perubahan patologi berupa atrofi tubulus seminiferus, penurunan bobot testis, degenerasi dan nekrosis pada sel spermatogenik serta menurunnya viabilitas dan motilitas sel spermatozoa yang akan menyebabkan infertilitas (Tang et al., 2003; Tootian et al., 2007).

Kercanunan formaldehid dapat meningkatkan produksi ROS pada jaringan testis. ROS yang meliputi *singlet oxygen*, *hydrogen peroxide*, *superoxyde anions* dan *hydroxyl radical* merupakan mediator penting yang berperan penting dalam terjadinya kerusakan seluler dan gangguan oksidatif. Pada kerusakan jaringan testis, stres oksidatif memiliki peran penting di dalamnya. Peningkatan ROS yang diikuti dengan adanya stres oksidatif menyebabkan terjadinya peningkatan apoptosis pada sel germinal yang dapat menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus serta menghambat aktifitas spermatogenik (Ozen et al., 2005; Kus et al., 2008).

Pada sebuah penelitian dilakukan pendedahan formaldehid pada hewan uji yang berefek terjadinya penurunan secara signifikan pada berat testis, kuantitas dan kualitas sperma, aktivitas superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) dan glutathione (GSH), sedangkan tingkat malondialdehid (MDA) secara signifikan meningkat pada testis. Selain itu, pada pengamatan dengan mikroskop dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) menunjukkan bahwa tubulus seminiferus berhenti berkembang dan sel-sel epitel seminiferus mengalami kerusakan (Zhou, et al., 2006).

b. Ftalat

Paparan pada ftalat dapat menyebabkan proliferasi dan apoptosis sel karena ftalat bersifat racun pada testis (Jun et al., 2010). Paparan ftalat semasa bayi dapat berakibat kepada perkembangan dan fungsi

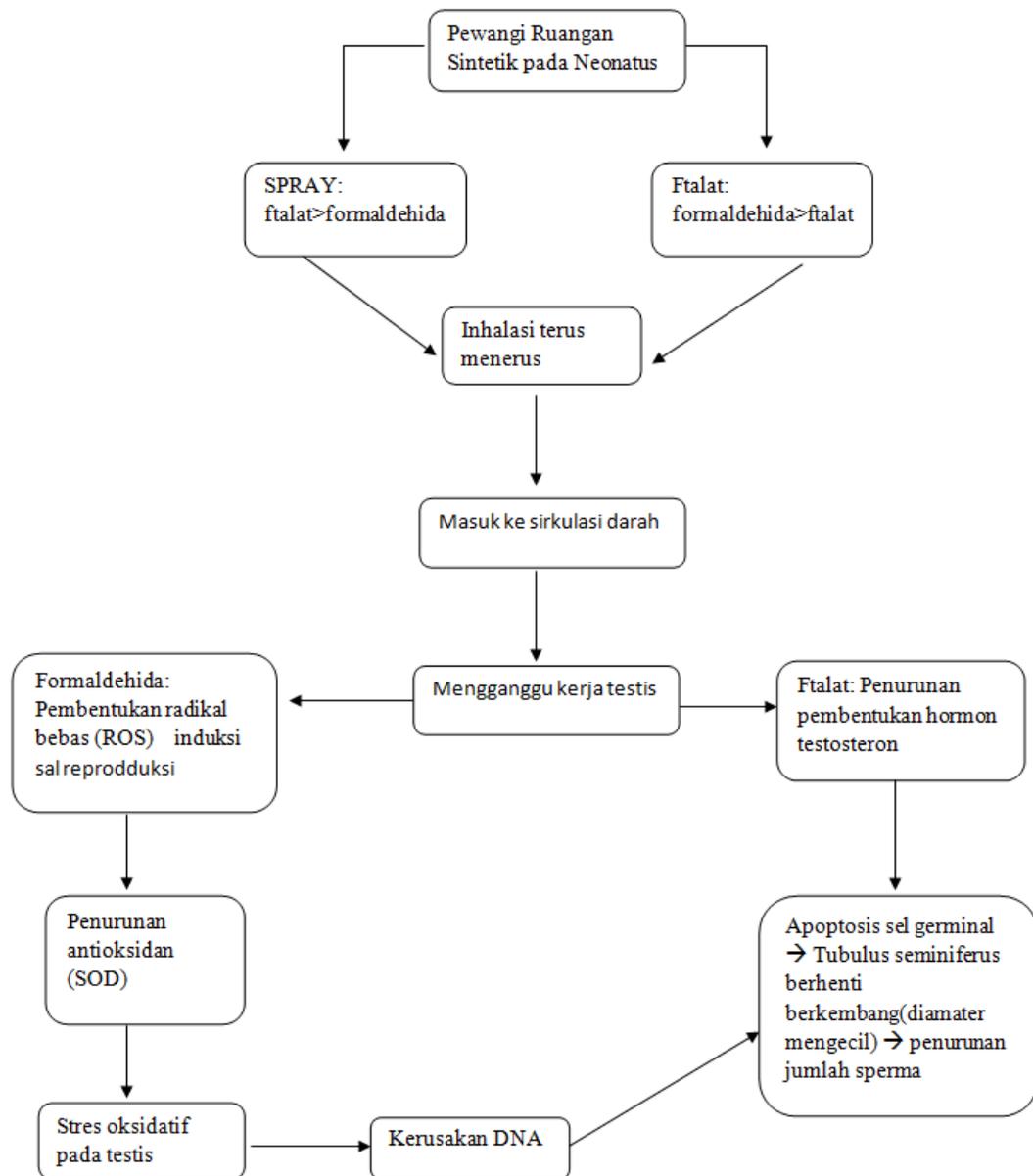
sistem reproduksi pria. Kelainan perkembangan pada sistem reproduksi dihubungkan dengan terganggunya sintesis testosteron (Veeramachaneni dan Klinifelter, 2013).

Ftalat tidak langsung berkaitan dengan reseptor androgen (Foster, 2001). Ftalat menghambat ekspresi beberapa enzim yang terbentuk dari kolesterol dan steroidogenesis yang berefek pada penurunan biosintesis testosteron (Chauvigne, F., Plummer, S, et al., 2011). Gangguan pembentukan testosteron tersebut berdampak pada penurunan jumlah serta kualitas dari spermatozoa yang diproduksi (Scott, 2009). Hal tersebut terjadi karena ftalat berefek mengganggu pembentukan sel Leydig (Chauvigne, F., Plummer, S, et al., 2011).

Ftalat adalah turunan dari *peroxisome proliferators* (PPs). Eefek dari PPs adalah mengaktifkan *peroxisome proliferatoactivated reseptor* (PPARs), yaang terdiri dari a, b, dan g. PPs muncul untuk mendesak efek pada jaringan karena aktivasi PPARa yang menstimulus ekspresi enzimatis yang berasal dari *fatty acid oxidation*, termasuk *peroxisomal fatty acyl coenzyme*. Pada tetis, PPARa yang bertanggung jawab terhadap kerusakan jaringan testis. PPs mampu merusak fungsi dari testis dengan menghambat sinyal RARa, di mana RARa merupakan substansi penting bagi fungsi testis secara normal. Substansi tersebut dapat memicu proliferasi abnormal, degenerasi sel germinal. Pada testis, secara spesifik substansi tersebut mampu merusak sel somatik pada tubulus seminiferus, sel sertoli, dan berefek pada berkurangnya

produksi sperma. Sel sertoli dan sel leydig sendiri merupakan target primer dari ftalat (Battacharya, 2004).

## B. Kerangka Konsep



### C. Hipotesis

1. Pendedahan pewangi ruangan yang berbentuk *gel* dan *spray* berpengaruh buruk pada diameter tubulus seminiferus berupa ukuran diameter dengan pewangi ruangan *gel* lebih kecil dibandingkan diameter pada pewangi ruangan *spray*.
2. Pendedahan dengan pewangi ruangan *gel* dan *spray* berpengaruh pada persentase spermatozoa motil berupa persentase spermatozoa motil dengan pewangi ruangan *gel* lebih kurang motil dibanding persentase spermatozoa motil pada pewangi ruangan *spray*.