

## Pengaruh Gangguan "Circadian" Terhadap Struktur Histologi Testis dan Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Oleh: Daryanto

Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

---

### ABSTRACT

The effect of the total solar eclipse on the testicular and ovarian tissues of the albino rats has been investigated.

Thirty adult male and female albino rats, Lembaga Makanan Rakyat (LMR) strain, were used in this investigation, and consisting of 15 male and 15 female albino rats and divided into three main groups.

The first group, consisting of 5 male and 5 female albino rats were used as control group and to be decapitated one hour before the total solar eclipse occurred. The second group, consisting of 5 male and 5 female albino rats were used as a treatment group, which experienced a total solar eclipse and to be decapitated exactly when the eclipse finished. The third group consisting of 5 male and 5 female albino rats were used as a second control group, and to be decapitated one hour after the total solar eclipse finished.

The results of this investigation revealed that there is no significant differences in the structure and function of testicular tissues as well as of ovarian tissues of the albino rats.

*Key Words:* circadian rhythm -- total solar eclipse -- testis -- ovarium -- photoperiodicity

---

### PENGANTAR

Kehidupan organisme, baik organisme yang terdiri atas satu sel (uniseluler) maupun organisme multiseluler, dalam proses evolusinya mempunyai respons dalam cara penyesuaian dengan lingkungannya, yaitu terhadap dua jenis pengaruh yang sifatnya selektif yang menentukannya atau mempengaruhinya (Aschoff, 1981). Jenis pengaruh pertama ditentukan oleh kondisi umum lingkungan secara rata-rata, termasuk berubah-ubahnya (fluktuasi) secara acak yang terjadi pada waktu itu, dan pengaruh kedua merupakan rangkaian kondisi lingkungan yang berubah-ubah secara teratur.

Rangkaian kondisi lingkungan yang berubah-ubah itu terbentuk dalam keadaan berkala (periodisitas) yang mantap, yang menggambarkan suatu "kesatuan waktu" (*temporal order*) yang kaku. "Kesatuan waktu" yang terdapat di dalam lingkungan tersebut, mampu mempengaruhi kehidupan sel, dengan adanya 4 jenis siklus geofisik:

1. siklus pasang surutnya air laut,
2. siklus gelap-terang ( $LD_{12:12}$ ),
3. siklus peredaran bulan,
4. siklus musim.

Setiap siklus tersebut di atas membutuhkan program waktu tertentu, dan organisme yang menyiapkan diri dengan perubahan-perubahan kondisi lingkungan yang menghasilkan keadaan di mana organisme mampu melakukan adaptasi.

Penyesuaian diri terhadap kondisi atau keadaan lingkungan tersebut dengan "incorporation", yang memungkinkan organisme menumbuhkan atau mengembangkan suatu proses berkala yang sifatnya endogen, lama berpacu kira-kira atau seirama dengan proses yang terjadi di dalam lingkungannya. Proses periodisitas atau berkala ini atau ritme endogen ini mampu bergerak atau bergeser sendiri (*self-sustaining oscillation*), meskipun semua masukan yang sifatnya berkala atau sifatnya periodik dari lingkungannya dihilangkan; menurut Halberg dari Universitas Minnesota (Aschoff, 1981) disebut "circadian", yang artinya ritme diurnal yang bersifat endogen dasar, yang terdapat di dalam setiap organisme, baik organisme uniseluler maupun organisme multiseluler.

Ritme yang ada untuk penyesuaian dengan siklus geofisika analog dengan *circadian* ialah *circatidal* dan *circannual*.

Keempat ritme "circa" ini merupakan jam biologik (*biologic clock*) yang memungkinkan organisme hidup mampu mengukur waktu serta meramalkan perubahan kondisi lingkungan yang sudah terprogram ini.

Keselarasan atau keharmonisan ini merupakan prasyarat antara ritme circa ini dengan siklus geofisika. Keselarasan atau keharmonisan ini dapat dicapai oleh suatu faktor yang bersifat berkala atau periodik dalam alam sekitarnya, meskipun semula hanya merupakan bagian dari kondisi atau keadaannya, berpengaruh selektif untuk penegakan suatu ritme, dan bukan lagi sebagai penyebab langsung ritme biologik, tetapi hanya sebagai agen-penyelarar (*synchronizing agents*). Zat penyelarar atau zat pengharmonis ini ialah suatu faktor yang bersifat berkala (periodik) disebut "Zeitgeber" (Aschoff, 1981). *Zeitgeber* ini ada di dalam setiap organisme, yang berguna untuk melatih "self-sustaining oscillation" tersebut.

Pengaruh utama yang merupakan *Zeitgeber* untuk ritme circadian, baik bagi tanaman maupun hewan ialah siklus gelap-terang. *Zeitgeber* ini merupakan pelatih bagi *self-sustaining oscillation* yang terdapat di dalam setiap sel.

Zucker (1981), selanjutnya mengatakan bahwa ritme circadian dapat ditunjukkan di dalam setiap organisme hidup baik organisme uniseluler seperti sejenis ganggang (*marine algae*) maupun organisme multiseluler seperti manusia. Setiap sel mempunyai osilator circadian sendiri-sendiri sehingga pada binatang jenis Vertebrata tinggi mempunyai jutaan bahkan milyaran osilator yang mengadakan sinkronisasi satu dengan yang lain (*mutually synchronized*) dan bergabung membentuk suatu "master clock", dan semuanya ini sudah dilatih atau terlatih oleh *Zeitgeber* tersebut, sehingga peranan maupun struktur yang dimiliki ritme circadian ini sudah terlatih pada kondisi normal (12 jam te-

rang-12 jam gelap). Jadi osilator circadian ini sudah ada sejak organisme tersebut masih dalam bentuk satu sel.

Siklus gelap-terang merupakan *Zeitgeber* bagi ritme biologik, sedangkan ritme biologik umumnya circadian, mempunyai pola waktu 24 jam. Pada daerah yang memiliki iklim sedang fase peramalan paling baik di dalam siklus geofisik adalah *jangka waktu per hari (day-length)*. Pada beberapa species binatang yang mendasarkan jangka-waktu-per-hari untuk fase ritme musim reproduksi disebut *fotoperiodik*.

Ritme biologik atau ritme circadian yang ada dalam organisme antara lain fungsi fisiologik sekresi hormon, temperatur badan, sekresi urin, perilaku makan-minum, perilaku seksual dan lain-lain, sudah terjadi secara otomatis (*free-running*), tetapi tetap masih di bawah pengaruh *Zeitgeber* tersebut. Sinar, temperatur, kelembaban dalam lingkungan yang sifatnya berubah-ubah, ritme biologik selalu dijaga dalam keadaan "free-run" (spontan bebas).

Pola waktu 24 jam ini merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap kehidupan organisme. Zucker (1981) dalam percobaannya dengan menggunakan *hamster*, mengubah keadaan atau siklus gelap-terang dari pola waktu 24 jam, terdiri atas 12 jam gelap-12 jam terang ( $LD_{12:12}$ ) menjadi 11 jam terang, selama 9 minggu terus-menerus, ternyata terjadi penghentian proses spermatogenesis, sekresi hormon androgen turun sampai 80%, sedangkan berat gonada turun sampai 85%.

Selanjutnya Zucker (1981) mengatakan bahwa cahaya adalah faktor yang sangat penting untuk mengulang-ulang siklus reproduksi.

Gerhana matahari total merupakan suatu peristiwa yang langka terjadi. Menurut ahli perbintangan, peristiwa gerhana matahari total ini akan terulang kembali 350 tahun yang akan datang pada daerah yang sama, karena permukaan bumi ini tidak seluruhnya terkena atau mengalami peristiwa gerhana matahari total ini bersama-sama. Yogyakarta merupakan salah satu kota di Indonesia yang mengalami peristiwa langka tersebut.

Matahari merupakan sumber segala sumber kehidupan bagi makhluk hidup di dunia. Keadaan bumi sendiri sudah terprogram sedemikian rupa, sehingga bumi mempunyai "pola-waktu" yang terdiri atas 12 jam gelap dan 12 jam terang ( $LD_{12:12}$ ). Semua organisme hidup di dunia ini, baik organisme uniseluler maupun organisme multiseluler sudah menyelaraskan dengan keadaan lingkungan yang mempunyai "pola-waktu" yang sudah terprogram tersebut.

Gerhana matahari total merupakan gangguan "pola-waktu" 24 jam atau circadian ( $LD_{12:12}$ ) menjadi ( $LD_{11,75:0,25:12}$ ). Gerhana matahari total ini berlangsung hanya selama 15 menit atau 0,25 jam. Gangguan "pola-waktu" yang sudah terprogram ini merupakan gangguan *Zeitgeber* atau gangguan circadian.

Tujuan penelitian ini bermaksud untuk mengungkapkan apakah gangguan *Zeitgeber* atau circadian hanya selama 15 menit ini dan hanya terjadi selama satu kali saja dapat menyebabkan gangguan struktur testis dan ovarium. Struktur testis yang diamati terbatas pada sel-sel spermatogenik saja, demikian pula struktur folliculus ovaricus pada ovarium.

## BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih, dewasa, baik jantan maupun betina, galur Lembaga Makanan Rakyat Jakarta (LMR). 15 ekor tikus jantan dan 15 ekor betina. Berat badan tikus antara 150—250 g dengan umur kira-kira antara 2—3 bulan. Tiga puluh ekor tikus tersebut dibagi menjadi 3 kelompok:

Kelompok I, terdiri atas 5 ekor tikus jantan dan 5 ekor betina sebagai kelompok pembanding I.

Kelompok II, terdiri atas 5 ekor tikus jantan dan 5 ekor tikus betina sebagai kelompok perlakuan, maksudnya kelompok ini yang mengalami masa gerhana matahari parsial dan total.

Kelompok III, terdiri atas 5 ekor tikus jantan dan 5 ekor tikus betina, sebagai kelompok pembanding kedua.

Tikus kelompok I dibunuh dengan cara dekapitasi tepat sebelum terjadi gerhana matahari parsial. Kelompok II atau kelompok perlakuan dibunuh 10 menit setelah gerhana matahari total dan parsial selesai, sedangkan kelompok III dibunuh 1 jam setelah gerhana matahari usai seluruhnya.

Selama percobaan berlangsung, tikus-tikus tersebut ditempatkan dalam kandang, di dalam kamar dengan temperatur kamar diperkirakan sama dengan temperatur luar. Makanan dari *stock-diet* LMR Jakarta dan air diberikan secara *ad libitum*. Binatang percobaan sudah dipersiapkan jauh-jauh sebelum gerhana matahari total ini terjadi pada tanggal 12 Juni 1983, jam 10.26 W.I.B.

Semua tikus, baik kelompok tikus pembanding maupun tikus kelompok perlakuan, dibunuh dengan cara dekapitasi, kemudian diambil jaringan testis dan ovariumnya; kemudian jaringan tersebut dimasukkan ke dalam larutan fiksatif Bouin. Kemudian dibuat sediaan histologik dengan metoda parafin serta diwarnai dengan hematoksin dan eosin.

Pemotongan jaringan diusahakan sedemikian rupa, sehingga potongan jaringan untuk sediaan histologik ini sama pada suatu daerah tertentu, baik pada testis maupun ovariumnya. Semua sediaan mikroskopik testis maupun ovarium dibuat foto. Hasil semua sediaan histologik tikus kelompok I, II dan III dibandingkan.

Analisis hasil penelitian menggunakan metoda statistik non-parametrik, cara Kolmogorov-Sirnov dengan "one-sample test" jenis ordinal dan menggunakan sampel kecil ("small sample").

## HASIL PENELITIAN

### *Jaringan testis*

Pengamatan testis difokuskan pada daerah tubulus seminiferus convolutus.

Bentuk serta ukuran atau diameter tubulus seminiferus convolutus bermacam-macam; diameter tubulus ada yang besar, ada pula yang kecil, sedangkan bentuknya ada yang bulat, ada pula yang lonjong.

Tubulus seminiferus convolutus dibungkus oleh selapis atau lebih sel adventisial yang bersifat sebagai otot polos, sedangkan di bagian luar tubulus seminiferus convolutus dapat dijumpai serabut jaringan ikat longgar, di antaranya tampak fibroblastus, macrophagocytus dan mastocytus, serta sel-sel epitheloid yang tersusun secara berlapis menyerupai tandan pisang dikenal sebagai endocrinocytus interstitialis (sel Leydig).

Tubulus seminiferus convolutus sendiri dilapisi oleh epithelium stratificatum squamosum yang terdiri atas sel penyokong (sel sustentakular atau sel Sertoli) dan sel spermatogonium. Tampak dengan jelas sel penyokong dan sel spermatogenik yang tersusun oleh sel spermatogonium, spermatocytus I, spermatocytus II, spermatidum dan spermatozoa, sedangkan kegiatan sel-sel spermatogenik tampak jelas pada beberapa sel yang membelah pada tahap atau fase pembelahan mitosis antara lain dapat dijumpai fase mitosis profasis, metafasis, anafasis dan telofasis.

Gambaran jaringan testis khusus pada daerah tubulus seminiferus convolutus ini tampak serupa tanpa ada perbedaannya antara testis tikus kelompok I, II maupun III.

#### *Jaringan ovarium*

Pada daerah tepi ovarium yang disebut sebagai cortex, mengitari atau mengelilingi medulla yang terdapat di bagian tengah ovarium. Ovarium sendiri dilapisi oleh selapis epithelium germinativum yang terdiri atas epithelium simplex squamosum atau epithelium simplex cuboideum, sedangkan tepat di bawah epithelium ini terdapat lapisan jaringan ikat padat, tunica albuginea. Ovarium sendiri tampak terdiri atas stroma dan parenchym. Tampak stroma ovarii ini tersusun oleh anyaman jaringan ikat padat dan sejumlah besar pembuluh darah kapiler yang tersebar di seluruh organ. Tampak parenchym berupa beberapa stadia folliculus ovaricus. Tampak dengan jelas kepadatan isi folliculus ovarius ini berbeda antara cortex dan medulla di mana tampak lebih padat susunan folliculus ovaricusnya pada daerah cortex.

Gambaran jaringan ovarium ini, seperti halnya pada testis, tampak serupa tanpa ada perbedaan bermakna (sama) antara tikus kelompok I, II, dan III.

## PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini tampak dengan jelas bahwa gangguan pola waktu LD<sub>12:12</sub> atau "circadian" berupa gerhana matahari, baik terhadap testis tikus putih terutama pada struktur tubulus seminiferus convolutus beserta sel-sel spermatogenik, sel penyokong (sel Sertoli) beserta kegiatan mitosis beserta endocrinocytus interstitialis (sel Leydig) maupun struktur ovarium termasuk stroma maupun parenchym yang menyusun bagian cortex dan medullanya, ternyata tidak berpengaruh, artinya bahwa gangguan terhadap pola "circadian" yang sangat pendek tersebut tidak berpengaruh terhadap struktur testis dan ovarium tikus putih.

Hasil tersebut dapat dilihat pada semua sediaan yang telah dibuat untuk semua kelompok, sedangkan penghitungan secara statistik atau uji statistik me-



**GAMBAR 1.** — Gambar struktur histologik tubulus seminiferus convolutus tikus putih jantan. Tampak spermatogonium (1), sel Sertoli (2), spermatozoa (3) dan sel Leydig (4). Gambar ini mewakili testis tikus kelompok I, II, dan III, karena ketiga kelompok tikus tidak menunjukkan perbedaan gambaran histologik yang bermakna.



**GAMBAR 2.** — Gambar struktur histologik ovarium tikus putih. Tampak epithelium germinativum (1), cortex (2) dan medulla (3) dan beberapa stadium folliculus ovaricus (4). Seperti halnya testis, gambar ini mewakili kelompok tikus I, II, dan III, karena ketiga kelompok tikus tidak menunjukkan perbedaan gambaran histologik yang bermakna (dapat dikatakan sama).

nunjukkan bahwa baik kelompok I dibandingkan kelompok II dibandingkan kelompok III tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Zucker (1981) pada percobaannya yang mempergunakan hamster yaitu salah satu binatang yang termasuk speciesfotoperiodik, mendapat bahwa pola waktu 24 jam ( $LD_{12:12}$ ) diubah menjadi  $12\frac{1}{2}:11\frac{1}{2}$  ( $LD_{12\frac{1}{2}:11\frac{1}{2}}$ ) selama 1 hari menunjukkan bahwa kegiatan spermatogenesis serta siklus estrus masih dalam fungsi normal. Akan tetapi apabila pola waktu 24 jam ( $LD_{12:12}$ ) diubah menjadi  $LD_{11:13}$  selama 9 minggu ternyata terjadi proses regresi gonade, proses spermatogenesis berhenti dan sekresi hormon androgen turun sampai 80%, sedangkan berat gonade turun sampai 85%.

Dengan demikian jelas bahwa perubahan pola waktu 24 jam ("circadian") hanya selama 5 menit yang terjadi hanya satu kali dalam 350 tahun tidak dapat mempengaruhi struktur serta peranan organ reproduksi tikus putih.

Sebagai tambahan perbandingan, peneliti lain yaitu Reiter (Zucker, 1981) mengatakan bahwa alat-alat reproduksi binatang percobaan baru terpengaruh apabila perubahan pola waktu 24 jam ( $LD_{12:12}$ ) tidak hanya satu hari, tetapi paling sedikit selama 20 minggu. Selain itu faktor "terang" merupakan faktor penting diperlukan untuk berulangnya siklus reproduksi, sedangkan menurut Pittendrigh (1974), masih banyak faktor lain yang harus diperhitungkan terhadap gangguan ritme "circadian" ini antara lain perubahan yang disebabkan oleh tanda cahaya, perubahan fotoperiodik, penyinaran secara konstan dengan cahaya dan lain-lain.

Mengingat peristiwa gerhana bulan ini amat singkat, maka jelas bahwa proses adaptasi organisme hidup yang sudah berlangsung berjuta-juta tahun ini, gangguan pola waktu 24 jam ("circadian") yang amat singkat ini tidak dapat berpengaruh pada organ reproduksi tikus putih ini. Dan gangguan pola waktu 24 jam ini bersifat alamiah dan bukan buatan.

Diharapkan dari penelitian ini suatu sumbangan informasi untuk dapat dipergunakan sebagai bahan pertimbangan bagi penelitian mendatang.

## RINGKASAN

Telah dilakukan penelitian tentang gangguan "circadian" (ritme biologik) atau pola waktu 24 jam, berupa gerhana matahari total, terhadap struktur histologik testis dan ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*), galur Lembaga Makanan Rakyat (LMR) Jakarta. Tiga puluh ekor tikus dipergunakan pada penelitian ini.

Hasil yang diperoleh memperagakan bahwa struktur histologik testis dan ovarium tikus putih dari ketiga kelompok tikus tersebut tidak berbeda secara bermakna, dan dapat dikatakan sama.

## KESIMPULAN

Gangguan siklus gelap-terang atau ritme biologik atau "circadian", berupa gerhana matahari total, yang menyebabkan keadaan bumi menjadi gelap selama lima menit, sehingga pola gelap-terang ( $LD_{12:12}$  menjadi  $LD_{11,55:12,05}$ ), ternyata tidak berpengaruh terhadap organ reproduksi tikus putih. Artinya bahwa

gangguan pola waktu 24 jam atau "circadian" selama 5 menit dan sekali terjadinya tidak mempunyai pengaruh apa-apa.

## SARAN

Dari hasil yang didapat pada penelitian ini, peristiwa gerhana matahari total yang hanya selama 5 menit serta berulang kira-kira 350 tahun lagi pada daerah yang sama, kiranya tidaklah perlu diresahkan akan akibat-akibat atau gangguan yang kurang baik terhadap struktur serta peranan sistem reproduksi. Dan penelitian yang akan datang sudah tidak berguna dan disarankan untuk tidak dilaksanakan, karena masih menunggu waktu 350 tahun lagi.

## KEPUSTAKAAN

- Aschoff, J. 1981 The circadian system in man, *dalam* D. T. Krieger, & J. C. Hughes, (eds.): *Neuroendocrinology*, pp. 77-83. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Pittendrigh, C. S. 1974 Circadian oscillations in cells and the circadian organization of multicellular systems, *dalam* F. O. Schmitt, & F. G. Worden, (eds.): *The Neurosciences*, pp. 437-58. MIT Press, Caunbridge, Massachusetts.
- Strumwasser, F. 1974 Neuronal principles organizing periodic behavior, *dalam* F. O. Schmitt, & F. G. Worden, (eds.): *The Neurosciences*, pp. 459-78. MIT Press Caunbridge, Massachusetts.
- Weitzmann, E. D. 1981 Biologic rhythms and hormone secretion patterns, *dalam* D. T. Krieger, & J. C. Hughes, (eds.): *Neuroendocrinology*, pp. 85-92. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Zucker, I. 1981 Light, Behavior, and biologic rhythms, *dalam* D. T. Krieger, & J. C. Hughes, (eds.): *Neuroendocrinology*, pp. 93-101. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
-