

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
eISSN: 2655-8122
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Histologi Lumen Dan Endotelium Arteri Dorsal Penis Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak

Lumen And Endotelium Penile Dorsal Arteries Hystology Of Wistar Rats (*Rattus Novergicus*) Induced By High-Fat Diet

I Wayan Rosiana¹, I Gede Widhiantara^{2*}

^{1,2}*Program Studi Biologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Sains dan Teknologi
Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali, Indonesia
Email : widhiantara@undhirabali.ac.id*

INTISARI

Arteriosklerosis pada arteri dorsal penis akibat hiperlipidemia menyebabkan disfungsi ereksi pada pria. Penelitian ini bertujuan untuk melihat gambaran histologi lumen dan endotelium arteri dorsal penis tikus wistar (*Rattus novergicus*) yang dibuat hiperlipidemia dengan induksi pakan tinggi lemak yang dilihat dari segi diameter lumen serta ketebalan dinding endotelium arteri.. Penelitian ini menggunakan rancangan *randomized posttest only control goup design*. Sampel tikus wistar jantan dewasa umur 3-4 bulan dengan kisaran berat badan 150 - 200 gram, berjumlah 10 ekor yang dibagi menjadi dua kelompok (kontrol dan perlakuan). Sebelum perlakuan, dilakukan adaptasi selama 7 hari. Setelah itu tikus sampel pada kelompok perlakuan dibuat hiperlipidemia dengan diberi lemak babi 2 ml/hari selama 50 hari secara oral. Kemudian dilakukan pembedahan untuk preparat histopatologi pada *posttest*. Untuk mengetahui perbedaan ketebalan endotelium dan diameter lumen arteri pada kedua kelompok maka digunakan uji *independent t-test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter lumen dan tebal endotelium arteri dorsal penis tikus wistar antara kelompok perlakuan lebih rendah dengan kelompok kontrol. Perbedaan yang terjadi bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian makanan tinggi lemak (hiperlipidemia) menurunkan diameter lumen serta ketebalan endotelium arteri dorsal penis tikus wistar.

Kata Kunci: Histologi Arteri, Penis, Pakan Tinggi Lemak, Tikus Wistar

ABSTRACT

Penile dorsal artery arteriosclerosis due to hiperlipidemia causes erectile dysfunction in men. This study aims to look at the histopathological picture of lumen and endothelium dorsal arteries, specifically from the penis of high-fat induced hiperlipidemic rat (*Rattus novegicus*) that is seen in terms of lumen diameter and thickness of the arterial endothelium wall. This is an experimental study with a randomized pottest only control goup design. The sample are 10 individuals adult male wistar rats aged 3-4 months with a range of body weight 150-200 grams devide into 2 groups (control and treatment). Before treatment, adaptation was carried out for 7 days. Following after, the sample rats in the treatment group were made hyperlidemic by given 2 ml/day of lard for 50 days orally. Then surgery is performed for histopathological preparations on the posttest. To determine the differences in endothelium thickness and arterial lumen diameter in the two groups, therefore an independent t-test was used. The results showed that the lumen diameter and dorsal artery endothelium thickness of the wistar rat penis between the treatment group were lower than the control group The difference that occurred was statistically

significant ($p < 0.05$). It can be concluded that the provision of high-fat diet (hyperlipidemia) decreases the lumen diameter and endotelium thickness of dorsal arteries penis.

Keywords: Arteri histology, Penis, High-fat diet, Wistar rats

PENDAHULUAN

Kejadian disfungsi ereksi pada pria merupakan keadaan yang sangat mengganggu keharmonisan kehidupan seksual pasangan suami istri. Disfungsi ereksi dapat menyebabkan efek psikologis, citra diri yang buruk, penurunan harga diri, depresi, stress mental dan berdampak negatif pada hubungan personal. Disfungsi ereksi (DE) adalah ketidakmampuan untuk mencapai dan mempertahankan ereksi yang cukup untuk memungkinkan kinerja seksual yang memuaskan (Hatzimuratidis *et al.*, 2010; McCabe *et al.*, 2016). Sebagian besar kasus disfungsi ereksi memiliki etiologi organik yang meliputi fungsi saraf, vaskularisasi, aitrogenik dan hormon (Caskurlu *et al.*, 2004). Faktor predisposisi disfungsi ereksi vaskulogenik seperti diabetes melitus (DM), kebiasaan merokok, penyakit kronis dan hiperlipidemia (Agarwal and Said, 2005).

Kebiasaan makan berlemak dalam waktu yang relatif lama menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL serta penurunan kadar HDL atau yang biasa disebut hiperlipidemia (Karam *et al.*, 2018). Keadaan ini juga disertai faktor molekuler berupa keberadaan oksigen yang rendah dalam tubuh atau hipoksia (Widhiantara *et al.*, 2020). Penyakit degeneratif yang timbul akibat hiperlipidemia antara lain PJK (penyakit jantung koroner), diabetes melitus, kanker, obesitas, dislipidemia, stroke yang berkorelasi dengan keberadaan variabel tingginya kolesterol dalam darah (Shattat, 2015). Beberapa penelitian pada hewan coba ditemukan bahwa keadaan hiperlipidemia juga mempengaruhi kerja sistem reproduksi, sehingga diperlukan suatu terapi obat maupun hormon untuk memperbaikinya (Permatasari dan Widhiantara, 2017). Beberapa dampak hiperlipidemia pada sistem reproduksi jantan antara lain; atrofi tubulus seminiferus, penurunan kualitas spermatozoa dari segi jumlah, motilitas serta morfologi, hambatan sekresi hormon testosteron, LH (*Luteinizing*

Hormone), hingga menurunnya ketebalan otot korvus kavernosum penis (Bashandy, 2006; Permatasari *et al.*, 2018; Widhiantara *et al.*, 2018).

Arteri pudenda interna merupakan pembuluh darah yang memasok darah ke penis, masuk ke permukaan dorsal organ dan berpenetrasi ke jaringan erektil korvus kavernosum (La Falce *et al.*, 2006). Sebagai pembuluh darah yang membawa nutrisi ke jaringan, arteri pudenda interna rentan terhadap resiko buruk dari keadaan hiperlipidemia (Montorsi *et al.*, 2003). Kondisi hiperlipidemia berperan signifikan dalam peningkatan tekanan darah (hipertensi) yang disebabkan tingginya resistensi vaskuler akibat ketidakelastisan lapisan endotelium pembuluh. Pada keadaan hipertensi pembuluh darah sedikit melepaskan *nitric oxide* sehingga mengakibatkan arteriosklerosis, meningkatkan mitogenesis fibroblast dan mempertebal dinding pembuluh darah (Sánchez *et al.*, 2012). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara peningkatan kadar kolesterol dan LDL darah terhadap kejadian disfungsi ereksi. Plak lipid dapat menyumbat arteri dorsal penis yang merupakan cabang dari arteri pudenda interna sehingga penis tidak dapat menerima aliran darah dan menyebabkan terganggunya ereksi (Musicki *et al.*, 2010).

Gambaran histopatologi sangat penting untuk menegakkan diagnosa pengobatan maupun pencegahan oleh karena dalam hal ini perlu dianalisis tentang diameter arteri, ketebalan lapisan endotelium arteri dorsal penis tikus yang mengalami hiperlipidemia sebagai faktor resiko arteriosklerosis penyebab disfungsi ereksi vaskulogenik.

BAHAN DAN METODE Rancangan Penelitian

Untuk mengetahui efek pemberian pakan tinggi lemak terhadap gambaran histologi arteri maka rancangan yang dipakai dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized posttest only control group design*. Sampel dalam penelitian ini bersifat homogen yaitu tikus wistar jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) umur 3-4 bulan dengan kisaran berat badan 150 - 200 gram yang memenuhi syarat sebagai sampel penelitian, yang diambil secara acak sederhana untuk mendapatkan jumlah sampel. Jumlah sampel yang dipakai adalah 5 ekor masing-masing kelompok dengan menambahkan 1 ekor cadangan (Widhiantara & Rosiana, 2015).

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digubanakan dalam penelitian ini adalah: kandang tikus, mikroskop cahaya, peralatan histopatologi yaitu mikrotom, oven, *scalpel*, *holder*, spatula, kuas, hotplate, stainingjar, bunsen, gelas objek dan kaca penutup, *dissecting set*, *autotechnicion*, sonde, timbangan gram, *counting chamber*, gunting dan pinset.

Adapun bahan dalam penelitian ini adalah: lemak (minyak) babi, tikus wistar jantan, makanan ternak, sekam, aquadest. Bahan pembuatan histopatologi testis yaitu etanol 96%, bouin, paraffin cair, histosac, hematoxylin-eosin (HE), xylol, Canada balsam, larutan buffer, formalin, ether dan alkohol bertingkat (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 95%, 96%).

Prosedur penelitian

Tikus diaklimatisasi dalam kandang percobaan selama 7 hari sebelum penelitian utama dilakukan. Kandang pemeliharaan pada penelitian ini berukuran 50 cm x 20 cm x 15 cm yang ditutup dengan penutup kawat serta pada dasar bak diberi sekam untuk menyerap kotoran. Pemberian diet tinggi lemak (lemak babi) pada kelompok tikus perlakuan diberikan secara oral dengan dosis 2 ml/hari selama 50 hari. Sedangkan kelompok tikus kontrol diberikan aquadest 2 ml/hari dalam jumlah hari yang sama. Selama penelitian tikus dipelihara dengan memberi pakan standar yaitu pakan

ayam CP594 dari PT. Pokphand dan air minum secara *ad-libitum* serta mengganti sekam setiap seminggu sekali untuk menjaga kebersihan kandang. Seluruh prosedur dalam penelitian ini telah layak etik sesuai dengan keputusan Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana No. 2406/UN.14.2/KEP/2017.

Pengamatan Histopatologi

Organ penis difiksasi dalam larutan formalin buffer 10% selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan fiksasi pada larutan Bouin selama 3 jam. Selanjutnya dilakukan *washing*, dehidrasi, *clearing* dengan alkohol 70% sebanyak 5 kali. Dehidrasi dilakukan dengan alkohol konsentrasi bertingkat masing-masing selama 30 menit. Untuk menjernihkan organ direndam dalam toluol selama 24 jam. Kemudian dilakukan *infiltrasi* dan *embedding* dengan cara merendam organ dalam campuran toluol dan parafin (30 menit), kemudian dilanjutkan dengan parafin I, II dan III masing-masing selama 50 menit. Selanjutnya dilakukan *embedding* dalam parafin cair. Pengirisan dengan ketebalan 6 μ m dan penempelan dilakukan dengan blok parafin yang berisi organ penis dengan menggunakan mikrotom Leitz 1512, sehingga deretan irisan membentuk pita, kemudian dipilih irisan yang bagus ditempel pada objek glass yang telah diolesi *Mayer's albumin*. *Staining dan mounting* dengan Hematoxylin Ehrlich-Eosin dengan urutan sebagai berikut: xylol I (10 menit), alkohol 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30% (3-5 celup). Aquades 5 celup, alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70% (3-5 celup). Eosin Y 1% (2-3 menit), alkohol 70%, 80%, 95% (beberapa celup). Xylol II (10 menit). Sediaan yang telah dipulas ditutup dengan Canada balsam. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop elektrik (Olympus CX-21) yang telah dipasang micrometer untuk melihat diameter lumen arteri serta ketebalan endotelium.

Analisis Data

Hasil penelitian terhadap ketebalan dan abnormalitas jaringan otot korvus kavernosum penis tikus wistar dianalisa secara kuantitatif maupun deskriptif dengan membandingkan kedua gambaran histopatologi kelompok kontrol dengan perlakuan. Diameter lumen arteri dan ketebalan endotel juga dibandingkan dengan melihat rerata variabel tersebut pada kelompok kontrol dengan perlakuan. Untuk melihat tingkat perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan dilakukan analisis statistik dengan uji *independent t-test*.

HASIL

Data penelitian berupa diameter lumen serta ketebalan endotelium arteri dorsal penis tikus wistar diambil dari data rata-rata pada keseluruhan sampel baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Data tersaji pada tabel dan gambar di bawah ini.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan diameter lumen serta ketebalan endotelium arteri dorsal penis tikus wistar yang diberi perlakuan pakan tinggi lemak (minyak babi) dibandingkan dengan dengan kontrol. Data penelitian tersaji pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Rerata diameter lumen arteri serta ketebalan endotelium arteri dorsal penis tikus wistar jantan pada kelompok kontrol serta perlakuan.

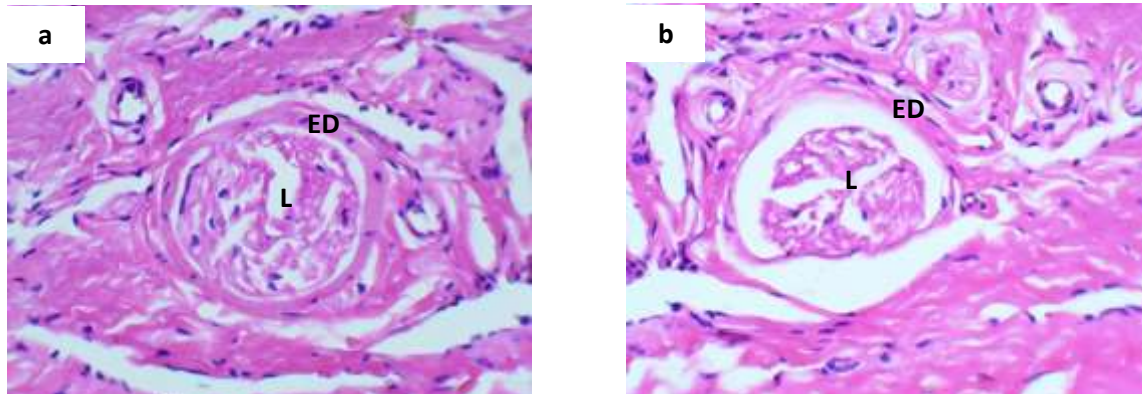
Kelompok	Variabel	Individu					Rerata
		1	2	3	4	5	
Kontrol	Diameter lumen (μm)	052	098	002	006	001	02.4
	Tebal endotelium (μm)	026	024	027	026	025	05.6
Perlakuan	Diameter lumen (μm)	076	085	076	079	080	079.2
	Tebal endotelium (μm)	018	020	029	021	021	029.8

Tabel 2. Hasil uji *independent t-test* lumen arteri antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan

Kelompok	Rerata (μm)	SB	Sig.	interpretasi
Kontrol	202.4	3.2093	0.00	Berbeda bermakna
Perlakuan	179.2	3.7013		

Tabel 3. Hasil uji *independent t-test* ketebalan endotelium antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan

Kelompok	Rerata (μm)	SB	Sig.	Interpretasi
kontrol	25.6	1.1402	0.00	Berbeda bermakna
perlakuan	19.8	1.3038		



Gambar 1. Perbandingan anatomi jaringan arteri dorsal pada kelompok kontrol (a) dan kelompok perlakuan (b), pewarnaan HE, pembesaran 40 X 10, L: Lumen arteri, ED: Endotelium

Dari hasil penelitian di atas (Tabel 1) nampak bahwa ketebalan endotelium dan lumen arteri dorsal penis tikus wistar pada kelompok perlakuan lebih kecil dibandingkan dengan kontrol. Analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kedua variabel (diameter lumen dan ketebalan endotelium) pada kedua kelompok (Tabel 2 dan Tabel 3). Data di atas melengkapi data tentang resiko arteriosklerosis pada individu yang sering mengkonsumsi makanan tinggi lemak berupa penyempitan lumen pembuluh darah (Gambar 1) dan elastisitas arteri. Kejadian arteriosklerosis pada arteri penis menyebabkan resiko disfungsi ereksi vaskular cenderung meningkat.

Gangguan pada jaringan arteri dapat terjadi dengan peningkatan kadar kolesterol LDL dan VLDL dalam darah (hiperkolesterol). Kenaikan kadar kolesterol ini dapat terjadi bila ada gangguan pembentukan kolesterol dalam hepar atau usus halus (Sherwood, 2001). Kadar kolesterol LDL yang tinggi akan memicu

penimbunan kolesterol di sel pembuluh darah, yang menyebabkan munculnya aterosklerosis dan terbentuknya plak pada dinding pembuluh darah (Libby & Theroux, 2005). Aterosklerosis berhubungan dengan peningkatan LDL. Pengaruh peningkatan kadar LDL akan diikuti akumulasi ester kolesterol dalam makrofag sehingga kemudian makrofag disebut sebagai sel busa. Kadar LDL yang tinggi menyebabkan tingginya kadar LDL intimal (Barokoti, 2018). Selanjutnya LDL intimal akan mengalami oksidasi dan menarik monosit dari sirkulasi darah serta berubah secara fenotipik menjadi makrofag. Peningkatan LDL teroksidasi pada dinding arteri disertai dengan terbentuknya sel busa, akan berkembang menjadi lempeng lemak (Yanuartono, 2007).

Sel endotel memainkan peran kunci dalam aterosklerosis. Sel-sel endotel mengambil dan memetabolisme LDL dan ketika dibebani dengan kolesterol intraseluler, menghasilkan kristal kolesterol. Kristal kolesterol ditempatkan pada sisi basolateral, dan mempengaruhi fungsi

endotel. Ketika tikus diberi diet tinggi lemak, kristal kolesterol muncul dalam sinus aorta dalam 1 minggu (Baumer *et al.*, 2017). Beberapa hal tersebut menyebabkan penyempitan lumen arteri serta mengurangi permeabilitas endotelium yang penting bagi fungsi fisiologi peredaran darah serta biokimia sel.

Kelainan fungsi endotel berkorelasi dengan kejadian disfungsi ereksi. Aliran darah arteri ke dalam korvora kavernosa ditingkatkan oleh vasodilatasi yang dimediasi asetilkolin. Asetilkolin meningkatkan produksi nitrat oksida pada sel endotelial dan neuron nonadrenergik-nonkolinergik. Nitrat oksida meningkatkan aktivitas guanilat siklase, yang meningkatkan konversi cGTP menjadi cGMP. cGMP menurunkan kadar kalsium intrasel dalam sel otot polos arteri penis dan sinus cavernosus. Akibatnya, terjadi relaksasi otot polos yang meningkatkan aliran darah ke dalam korpora berakibat ereksi (Bivalacqua *et al.*, 2003). Jika proses ini terganggu akibat malfungsi endotelium maka akan terjadi hambatan ereksi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terjadi degenerasi jaringan arteri dorsal penis tikus wistar yang diinduksi hiperlipidemia dengan petanda menurunnya ketebalan endotelium serta diameter lumen arteri yang ditinjau secara histologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., and Said, T. M. 2006. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJUI*; 95: 503-7
- Barakoti, M.P. 2018. Carotid intima-media thickness and coronary artery Disease. *Nepalese Heart Journal*. 15(1): 9-15
- Bashandy A.E.S. 2006. Effect of fixed oil *Nigella sativa* on male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *Intl. J. Pharmacol.* 2(1): 104-109
- Baumer, Y., McCurdy, S., Weatherby, T.M., Mehta, N.N., Halbherr, S., Halbherr, P., Yamazaki, N. and Boisvert, W.A., 2017. Hiperlipidemia-induced cholesterol crystal production by endothelial cells promotes atherogenesis. *Nature communications*, 8(1), p.1129.
- Bivalacqua, T.J., Usta, M.F., Champion, H.C., Kadowitz, P.J. and Hellstrom, W.J., 2003. Endothelial dysfunction in erectile dysfunction: role of the endotelium in erectile physiology and disease. *Journal of Andrology*, 24(S6), pp.S17-S37.
- Caskurlu, T., Tasci, A.I., Resim, S., Sahinkanat, T. and Ergenekon, E., 2004. The etiology of erectile dysfunction and contributing factors in different age groups in Turkey. *International journal of urology*, 11(7), pp.525-529.
- Hatzimouratidis, K., Amar, E., Eardley, I., Giuliano, F., Hatzichristou, D., Montorsi, F., Vardi, Y. and Wespes, E., 2010. Guidelines on male sexual dysfunction: erectile dysfunction and premature ejaculation. *European urology*, 57(5), pp.804-814.
- Karam, I., Ma, N., Yang, Y. J., and Li, J. Y. 2018. Induce Hiperlipidemia in Rats Using High Fat Diet Investigating Blood Lipid and Histopathology. *J Hematol Blood Disord*, 4(1), 104.
- La Falce, O.L., Ambrosio, J.D., and Souza, R.R. 2006. The anatomy of the superficial external pudendal artery: a quantitative study. *Clinics (Sao Paulo)*. 61(5):441-4.
- Libby, P. and Theroux, P. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*. 111:3481-3488
- McCabe, M.P., Sharlip, I.D., Atalla, E., Balon, R., Fisher, A.D., Laumann, E., Lee, S.W., Lewis, R. and Seagraves, R.T., 2016. Definitions of sexual dysfunctions in women and men: a consensus statement from the Fourth International

- Consultation on Sexual Medicine 2015. *The journal of sexual medicine*, 13(2), pp.135-143.
- Montorsi, F., Briganti, A., Salonia, A., Rigatti, P., Margonato, A., Macchi, A., Galli, S., Ravagnani, P.M. and Montorsi, P., 2003. Erectile dysfunction prevalence, time of onset and association with risk factors in 300 consecutive patients with acute chest pain and angiographically documented coronary artery disease. *European urology*, 44(3), pp.360-365.
- Musicki, B., Liu, T., and Lagoda, G.A. 2010. Hypercholesterolemia-induced erectile dysfunction: endothelial nitric oxide synthase (eNOS) uncoupling in the mouse penis by NAD(P)H oxidase. *J Sex Med*. 2010;7(9):3023-32.
- Permatasari, A.A.A.P. and Widhiantara, I.G., 2017. Terapi Testosteron Meningkatkan Jumlah Sel Leydig Dan Spermatogenesis Mencit (*Mus Musculus*) Yang Mengalami Hiperlipidemia. *Jurnal media sains*, 1(2).
- Permatasari, A.A.A.P., Sari, N.K.Y. and Widhiantara, I.G., 2018. Histopathology Of The Muscle Corpus Kavernosum Wistar Rat (*Rattus Norvegicus*) Hiperlipidemia. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 5(2), pp.254-258
- Sánchez, A., Contreras, C., Martínez, M.P., Climent, B., Benedito, S., García-Sacristán, A., Hernández, M. and Prieto, D., 2012. Role of neural NO synthase (nNOS) uncoupling in the dysfunctional nitregeric vasorelaxation of penile arteries from insulin-resistant obese Zucker rats. *PloS one*, 7(4).
- Shattat, G.F., 2015. A Review Article On Hyperlipidemia: Types, treatments and new drug targets. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 7(1), pp.399-409.
- Sherwood, L. 2001. Human physiology: from cells to systems. A Division of Internasional Thomson Publishing Inc. All Right Reserved.
- Widhiantara, I.G. and Rosiana, I.W., 2015. Terapi Testosteron dan LH (*Luteinizing Hormone*) Meningkatkan Jumlah Sel Leydig Mencit (*Mus musculus*) Yang Menurun Akibat Paparan Asap Rokok. Virgin: *Jurnal Ilmiah Kesehatan Dan Sains*, 1(1).
- Widhiantara, I.G., Permatasari, A.A.A.P., Siswanto, F.M. and Dewi, N.P.E.S., 2018. Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) Memperbaiki Histologi Testis Tikus Wistar yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(2), pp.111-118.
- Widhiantara, IG., Permatasari, P., Rosiana, IW., Sutirtayasa, IWP., and Siswanto, FM. 2020. Role of HIF-1, Siah-1 and SKN-1 in Inducing Adiposity for *Caenorhabditis elegans* under Hypoxic Conditions. *The Indonesian Biomedical Journal*. 12(1):51-56
- Yanuartono. 2007. Role Of High Cholesterol And High Fat Diet On Lipid Profiles In Sprague Dawley Rats. *Jurnal Sain Vet*. 25: 25-33