

PENGARUH PEMBERIAN AGONIS GnRH DESLORELIN TERHADAP PERUBAHAN HISTOLOGI TESTIS DAN EPIDIDIMIS ANJING JANTAN

THE EFFECT OF GnRH AGONIST DESLORELIN ON THE HISTOLOGICAL CHANGES OF TESTES AND EPIDYDYMIS IN MALE DOG

Yance Ixwantoro¹⁾ dan Aris Junaidi²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

²⁾ Bagian Reproduksi Fakultas Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
Sekip Unit II Yogyakarta, Telp. (0274) 563083, 515886, Fax. 62-274-563083

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian implan yang berisi 6 mg deslorelin agonis GnRH terhadap perubahan histologi testis dan epididimis anjing jantan. Sebanyak enam ekor anjing kampung jantan digunakan dalam penelitian ini. Hewan dibagi rata secara acak menjadi dua kelompok perlakuan. Kelompok 1, setiap hewan diberi implan yang berisi 6 mg deslorelin dan pada kelompok 2 digunakan sebagai kontrol dan hewan diberi implan kosong tanpa deslorelin (placebo). Setelah implantasi selama 3 bulan, hasil pemeriksaan histologi testis dan epididimis pada anjing perlakuan menunjukkan atrofi tubulus seminiferus dan tidak ada aktifitas spermatogenesis, sedangkan pada epididimis tampak hilangnya epitel silia dan tidak adanya spermatozoa pada duktus epididimidis. Penelitian ini menunjukkan bahwa implantasi menggunakan implan yang berisi 6 mg deslorelin dapat digunakan untuk menekan fungsi reproduksi anjing jantan.

Kata kunci: agonis GnRH, deslorelin, testis, epididimis, anjing

ABSTRACT

The effect of implant containing 6 mg GnRH agonist deslorelin on testes and epididymis were studied in local male dogs. Six dogs were used in the study and they were divided into two equal group. Group 1, dogs were implanted with 6 mg implant per dog of deslorelin and group 2 dogs were used as control and each was implanted with implant without deslorelin (placebo). After 3 months of treatment, the histological findings in the treated dogs showed atrophic and aspermatogenic and the epididymis showed epithelial atrophy and no spermatozoa were observed in the ductus epididymis. This study demonstrated that implantation using implant containing 6 mg of the GnRH agonist deslorelin could be used to suppress reproductive function in male dogs.

Key words: GnRH agonist, deslorelin, testes, epididymis, dog

PENDAHULUAN

Overpopulasi hewan kesayangan saat ini sudah menjadi problem dunia. Dalam penanggulangannya telah dilakukan berbagai metode untuk mengontrol populasi, namun sampai saat ini belum ada metode yang efektif untuk tujuan tersebut. Kastrasi telah diakui sebagai satu metode yang paling efektif untuk mensterilkan hewan jantan secara permanen. Namun cara tersebut mengalami banyak kendala di lapangan, disamping biaya yang mahal diperlukan ahli yang profesional dan tidak praktis apabila diterapkan pada kelompok anjing dalam jumlah yang besar. Upaya lain telah banyak dilakukan untuk mengganti metode pembedahan tersebut dengan hormonal atau senyawa kimia lain namun sampai saat ini belum ada hasil yang dapat diterima karena adanya efek samping dan penggunaan yang kurang praktis. Untuk itu perlu diupayakan metode kontrasepsi medis yang sederhana, reversibel, murah, aman dan mudah aplikasinya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian implan agonis GnRH deslorelin terhadap perubahan histologi testis dan epididimis pada anjing kampung.

MATERI DAN METODE

Enam ekor anjing kampung jantan sehat dengan umur antara 1,5 – 2 tahun dan berat badan antara 5 – 10 kg dipilih untuk penelitian ini. Hewan dikandangkan di Klinik Hewan Kuningan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada, setiap ekor satu kandang. Anjing diberi makan satu atau dua kali sehari dan diberi minum secara *ad libitum*. Sebelum perlakuan, semua anjing di vaksin rabies (Neo Rabivak T. C., PT. Vaksindo Satwa Nusantara, Cicadas, Bogor) dan vaksin distemper. Pemberantasan parasit dilakukan dengan pemberian obat cacing Pyrantel (PT. Indofarma, Bekasi-Indonesia) dilakukan 2 bulan sekali, anjing dimandikan setiap 2 minggu sekali dengan asuntol (asuntol, PT. Bayer, Jakarta-Indonesia).

Implan agonis GnRH deslorelin (D- Trp⁶ - Pro⁹ - des- Gly¹⁰ - LHRH Ethylamide) disuplai oleh Peptech Animal Health Pty Ltd, Sydney, Australia. Implan yang digunakan merupakan formulasi bioimplan, dengan ukuran 0,23 x 15,2 mm dan mengandung 6 mg deslorelin. Pembebasan secara *in vitro* deslorelin kurang lebih 50 µg per 24 jam dan dideterminasi dengan absorbansi *high performance lipid chromatography* (HPLC) dan UV dengan panjang

gelombang 270 nm (Peptide Technology Limited, Sydney, Australia). Implan ditempatkan pada jarum dengan ukuran 13 mm dan diinjeksikan secara subkutan di bawah kulit leher dan jarum dalam kondisi yang aseptik.

Tiga ekor anjing diberi implan yang berisi 6 mg deslorelin secara subkutan (grup 1) dan tiga ekor anjing lainnya (grup 2) digunakan sebagai anjing kontrol dan diberi implan tanpa deslorelin (plasebo). Setelah 3 bulan, semua anjing dieuthanasia dengan cara diberi over dosis penobarbital secara intravena dan kemudian testis dan epididimis diambil untuk pemeriksaan histologi

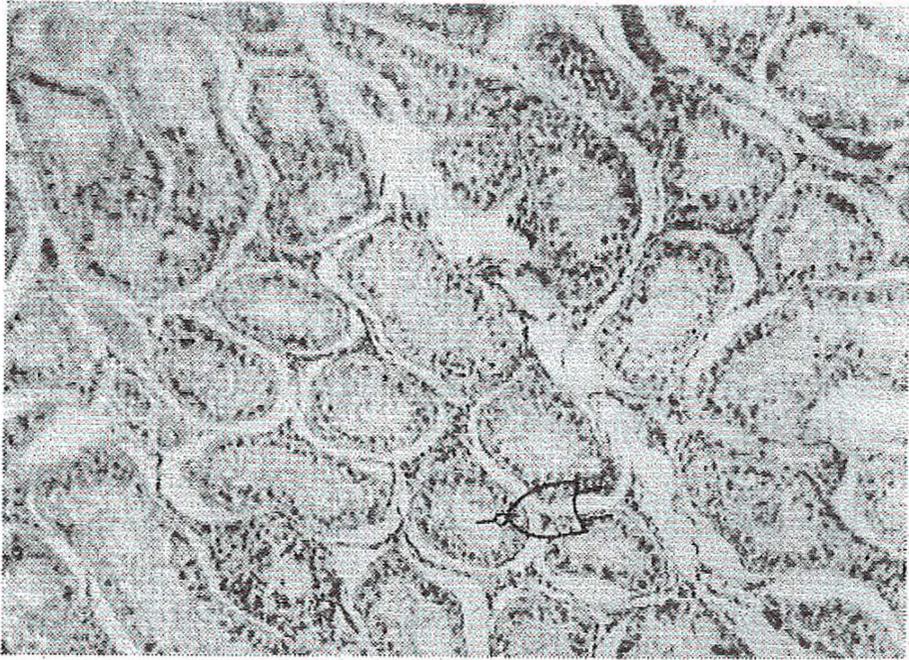
Testis dan epididimis kemudian difiksasi dalam formalin 10% paling sedikit 24 jam. Kemudian organ tersebut dipotong dengan ketebalan kira-kira 2-3 mm dengan arah pemotongan melintang dan membujur. Potongan ini dicuci dengan air kemudian didehidrasi dalam larutan alkohol 80%, 90%, dan alkohol absolut serta xylol, lalu diblok dengan parafin. Selanjutnya diiris dengan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron lalu dibuat preparat kemudian dilakukan pengecatan dengan metode Haematoxilin Eosin seperti yang dijelaskan oleh Lee dan Luna (1968).

Semua preparat kemudian diamati perubahan histologinya dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 10X (109,15X) dan 40X (436,60X), selanjutnya dilakukan pemotretan preparat dan kemudian filmnya dicuci dan dicetak. Seluruh hasil penelitian diamati secara mikroskopik dan dilaporkan secara deskriptif.

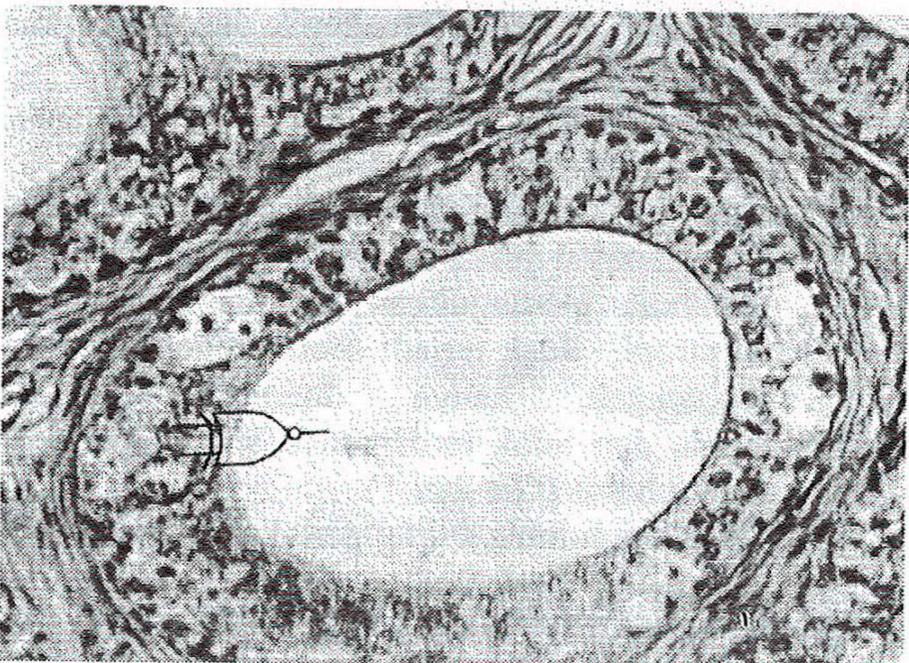
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan testis secara mikroskopik pada anjing perlakuan menunjukkan tubulus seminiferus mengalami atrofi, tidak terjadi spermatogenesis pada semua potongan, hanya ditemukan sel-sel spermatogonia dan tidak terdapatnya spermatozoa di dalam lumen tubulus (Gambar 1).

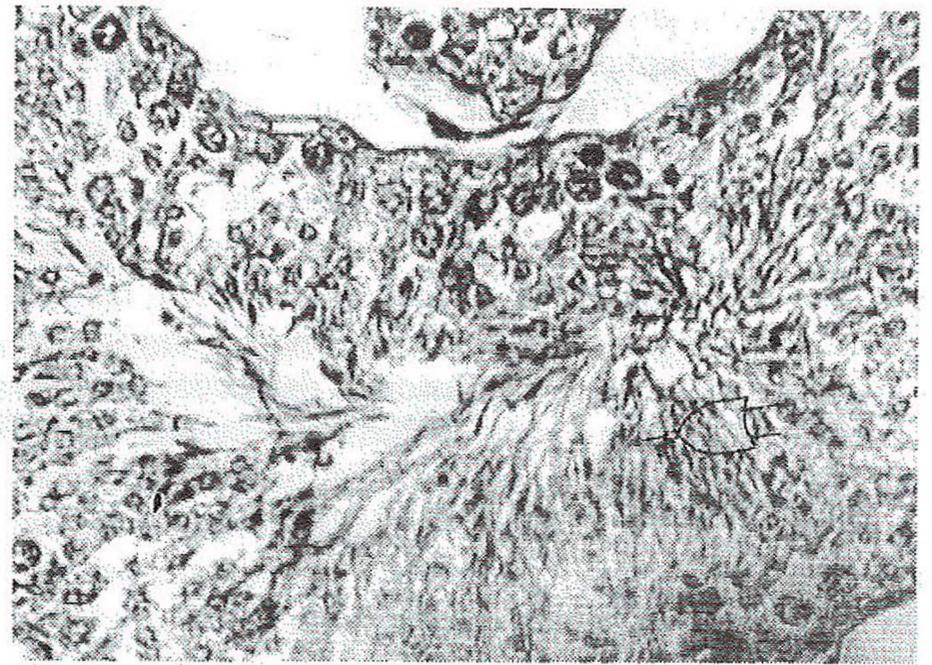
Pada epididimis anjing perlakuan, (Gambar 2 & 3) terjadi perubahan histologi, dimana sel-sel epitel mengalami atrofi, tidak ada penonjolan-penonjolan sel-sel utama pada lumen, dan adanya vakuolisasi pada sel-sel epitel dan tidak adanya spermatozoa pada lumen.



Gambar 1. Fotomikrograf testis anjing perlakuan. Pada tubulus seminiferus dengan tidak adanya spermatozoa pada lumennya. Perbesaran : 109,15X.



Gambar 2. Fotomikrograf epididimidis anjing perlakuan. Pada lumennya tidak adanya spermatozoa dan atrofinya epitel silia. Perbesaran : 436,60X.



Gambar 3. Fotomikrograf testis anjing kontrol. Tampak aktif spermatogenesis pada tubulus seminiferus. Perbesaran : 436,60X.

Pada kelompok kontrol, tampak pada setiap tubulus terlihat aktif spermatogenesis (Gambar 3). Pada duktus epididimis ditandai dengan epitelium bersilia dan ditemukan banyak spermatozoa didalam lumen tubulus.

Pada testis anjing perlakuan terjadi perubahan histologi berupa atrofinya tubulus seminiferus, tidak terjadinya proses spermatogenesis. Perubahan histologi ini juga dilaporkan oleh (Dube *et al.*, 1987) dimana dengan injeksi 50 μg / kg GnRH ethylamide pada anjing selama 4 bulan dapat menyebabkan atrofinya tubulus seminiferus dimana dalam tubulus seminiferus tersebut hanya mengandung sel-sel Sertoli dan spermatogonia tipe A dan B. Ditambahkan pula oleh Junaidi (2000) bahwa pemberian agonis GnRH deslorelin pada anjing selama 3 bulan dapat menyebabkan atropinya sel Leydig dan atropinya tubulus seminiferus. Selain itu, hal yang sama juga dilaporkan oleh (Paramo *et al.*, 1993) bahwa dengan injeksi medoxyprogesteron acetat (GnRH agonis) sebanyak 50 μg / kg pada anjing selama 1 bulan dapat menyebabkan perubahan pada tubulus seminiferus yaitu penurunan jumlah sel-sel germinal dan tidak adanya spermatozoa.

Agonis GnRH deslorelin dapat menyebabkan penurunan regulasi dan desensitisasi

pada glandula pituitaria anterior, sehingga terjadi penurunan fungsi testis (Junaidi *et al.*, 2000). Menurut St-Arnaud *et al.*, (1986) bahwa pemberian agonis GnRH dapat menyebabkan penurunan sensitivasi pada pituitaria secara penuh sehingga terjadi penurunan aktivitas LH. Penurunan aktivitas LH ini menyebabkan penurunan sekresi testosteron sehingga menyebabkan atrofinya sel Leydig dan atrofinya tubulus seminiferus (Junaidi, 1998). Pemberian agonis GnRH ini pada awalnya menyebabkan pembebasan LH dan testosteron dalam sirkulasi dan kemudian tidak terdeteksi setelah 21 hari (Junaidi, 1998). Hal ini juga terjadi pada tikus yang diberi infus secara kontinyu dengan agonis GnRH lainnya (Lincoln *et al.*, 1986), pada anjing yang diinjeksi dengan agonis GnRH nafarelin setiap hari (Vickery *et al.*, 1987), dan pemberian formulasi agonis GnRH leuproride acetate (Inaba *et al.*, 1996).

Dengan demikian bahwa pemberian agonis GnRH menyebabkan penurunan regulasi pada reseptor-reseptor GnRH di pituitaria sehingga terjadi hambatan pembebasan gonadotropin. Hal ini sesuai dengan Duello *et al.* (1983) bahwa agonis GnRH menyebabkan pembebasan LH dan FSH dan kemudian terjadi penurunan regulasi pada reseptor-reseptor GnRH di pituitaria. Sedangkan menurut Schaison (1990) bahwa pemberian GnRH secara terus-menerus (pemberian superagonis) mengakibatkan hilangnya reseptor atau turunnya regulasi sekitar 40%. Hilangnya reseptor-reseptor ini menyebabkan terhambatnya pembebasan gonadotropin.

Adanya hambatan pembebasan gonadotropin menyebabkan FSH dan LH yang diproduksi dari gonadotropin di glandula pituitaria anterior tidak terbentuk, sehingga LH tidak mampu menstimulir sel Leydig untuk mensekresikan testosteron dan akibatnya terjadi penurunan konsentrasi testosteron dalam plasma dan terhambatnya sekresi testosteron dari testis, selain itu adanya hambatan sekresi FSH maka tidak terjadi proses spermatogenesis dan tidak terbentuknya *androgen binding protein* (ABP) dan Inhibin. Ditambahkan pula oleh (Junaidi, 1998) bahwa penurunan konsentrasi testosteron dalam plasma menyebabkan penurunan dari volume ejakulasi, termasuk jumlah spermatozoa yang motil dan masak pada ejakulat tersebut. Sedangkan penekanan sekresi testosteron dari testis dapat menghilangkan reseptor-reseptor LH testis. Selain itu menurut Dube (1987) bahwa ditemukan peningkatan LH endogenus setelah injeksi agonis GnRH dan kemudian hilangnya reseptor-reseptor LH testis dan atrofinya sel-sel Leydig. Dimana reseptor-reseptor LH tersebut hanya ditemukan pada sel-sel Leydig dan LH bekerja

merangsang sekresi testosteron pada sel-sel Leydig (McLachland, 1995). Penekanan sekresi testosteron ini menyebabkan gagalnya testosteron dalam menjaga morfologi dan fungsi testis secara keseluruhan karena pemberian agonis GnRH deslorelin sehingga dalam tubulus seminiferus tampak terjadi perubahan yang berupa atropinya tubulus seminiferus, tidak adanya proses spermatogenesis dan hanya terlihat sedikitnya spermatogonia, spermatid, dan tidak terdapatnya spermatozoa.

Pada gambaran histologi epididimis anjing perlakuan tampak terjadinya perubahan morfologi seperti atrofinya sel-sel epitel, hilangnya epitel silia dan tidak adanya spermatozoa pada duktus epididimidis. Perubahan ini juga dilaporkan pada anjing yang diberi *medroxyprogesteron acetate* (MPA) (Paramo *et al.*, 1993) bahwa pemberian MPA menyebabkan perubahan histologi pada epididimis dengan terlihatnya penyusutan sel-sel epitel dan tidak adanya spermatozoa pada duktus epididimidis. Menurut Junaidi *et al.* (2000) pada anjing yang diberi agonis GnRH deslorelin menyebabkan atrofinya sel-sel epitel, vakuolalisasi pada sel-sel epitel, dan hilangnya epitel silia serta tidak adanya spermatozoa pada duktus epididimidis. Perubahan morfologi ini sebagai akibat pengaruh pemberian agonis GnRH, dimana pemberian agonis GnRH deslorelin menyebabkan penurunan testosteron dari testis dan rendahnya ABP sehingga menyebabkan penurunan transport testosteron ke epididimis sehingga menyebabkan atropinya sel-sel epitel dan tidak adanya spermatozoa pada duktus epididimidis. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian agonis GnRH deslorelin selama 3 bulan dapat menekan fungsi reproduksi pada anjing kampung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Kepala Klinik Hewan Kuningan dan Kepala Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Hewan UGM yang telah memberikan fasilitas kandang dan laboratorium selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Dube, D., Assaf, A., Pelletier, G & Labrie, F., 1987. Morphological study of the effect of an GnRH agonis on the canine testis after 4 months of treatment and recovery. *Acta Endocrinologica* (Copenh) 116, 413-417.

- Duello, T. M., Nett, T. M. & Furquhar, M. G., 1983. Fate of a gonadotropin-releasing hormone agonist internalized by rat pituitary gonadotrophs. *Endocrinology* **122**, 1-10.
- Inaba, T., Umehara, T., Mori, J., Torii, R., Tamada, H. & Sawada, T. 1996. Reversible Suppression of Pituitary- Testicular Function By a Sustained Release Formulation of a GnRH Agonist (Leuprolide Acetate) in Dog. *Theriogenology* **46**, 671-677
- Junaidi, A., 1998. Contraception in Dogs Using a Slow Release Implant Containing The Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Agonist Deslorelin. *Ph.D. Thesis*. School of Veterinary Studies, Murdoch University, Western Australia.
- Junaidi, A. 2000. Histology and Electron Microscope study of The Effects of an GnRH Agonist on The Canine Testis and Prostate after 3 months of Treatment. *J Sain Vet*, vol XVIII No. 1 dan 2, 1-7.
- Junaidi, A., P. Williamson, J. M. Cummins, G. B. Martin & T. Trigg., 2000. The Effect of a Slow Release Implant containing the GnRH Agonist Deslorelin on Pituitary and Testicular Function in Mature Male Dogs, *J Sain Vet*, vol XVII no 2, 8-9.
- Lee, G., & Luna., 1968. *Manual of Histologic Staining Methodes of The Aimed Fories Institute of Pathology*. Third edition. Histopathology Laboratories AFID, New York.
- Lincoln, G. A., Fraser, H. M. & Abbot, M. P. 1986. Blockade of pulsatile LH, FSH and testosterone secretion in rams by constant infusion of an LHRH agonist. *Journal of Reproduction and Fertility*. **77**, 587-597.
- McLachlan, R. E., Wreford, N. G., Robertson, D. M., & de Kretser, D. M., 1995. Hormonal control of spermatogenesis. *TEM* **6**, 95-101.
- Paramo, R. M., Renton, J. P., Ferguson, J. M. & Concannon, P. W. 1993. Effects of medroxyprogesterone acetate or gonadotrophin releasing hormone agonist on suppression.
- St-Arnaud R, Lachance R, Kelly S. J, Belanger A, D. A., and L.F. 1986. Loss of luteinizing hormon (LH) bioactivity in patients with prostatic cancer treated with an GnRH agonist and a pure antiandrogen. *Clin Endocrinol (Oxf)* **24**: 21-30.
- Vickery, B. H., McRae, G. I. & Goodpasture, J. C., 1987. Clinical uses of LHRH analogs in dogs. In *LHRH and Its Analogs*, vol. Part 2 (ed. B. H. Vickery and J. J. Nestor Jr), MTP Press Limited, Lancaster, 517-543.