

Potensi Vitamin E terhadap Jumlah Sel Spermatogenik pada Mencit yang Terpapar 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)

Potential of Vitamin E on Spermatogenic Cell Number in Mice Treated With 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)

¹Waode Karmila Wati, ²Wurlina, ² Sarmanu

¹ Prodi Magister Ilmu Biologi Reproduksi Universitas Airlangga

² Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampus C UA, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 5993015

E-mail : waode_karmila@yahoo.com

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of vitamin E on spermatogenic cell number in mice treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Five experimental groups of a combination of TCDD and vitamin E were designed as follows: 0 ng/kg/d and 0 mg/kg/d (control negative group P0), 100 ng/kg/d and 0 mg/kg/d (control positive group, P1), 100 ng/kg/d and 11 mg/kg/d (Group P2), 100 ng/kg/d and 20 mg/kg/d (Group P3), and 100 ng/kg/d and 37 mg/kg/d (Group P4) respectively. Vitamin E and TCDD were given by oral gavage for 5 weeks. The results demonstrated that TCDD decreased spermatogenic cell number. vitamin E at 37 mg/kg antagonized the decline of spermatogenic cell number. The results indicate that vitamin E antagonizes the reproductive endocrine toxicity and alleviates the changes in spermatogenesis caused by TCDD.

Keywords: Vitamin E, spermatogenic cell, TCDD

Pendahuluan

Bahan 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) bersifat lipofilik, memiliki tingkat metabolisme dan ekskresi yang rendah, sehingga cenderung terakumulasi dalam tubuh (Yin *et al.*, 2012). TCDD memiliki efek toksik multi organ (WHO, 2010). Menurut Latchoumycandane *et al.* (2002) TCDD merupakan bahan toksik terhadap sistem reproduksi dan dapat mengurangi fertilitas, menekan pertumbuhan dan maturasi spermatozoa serta menurunkan kadar testosteron, GnRH, FSH, LH. Selain itu, TCDD dapat menghancurkan pertahanan antioksidan pada sistem *chondrosomes* dan

cytomicrosomes testis, menyebabkan stres oksidatif sehingga dapat menurunkan kemampuan reproduksi.

Spermatogenesis diatur oleh hipotalamus, kelenjar pituitari dan testis. Neuron spesifik dari hipotalamus mensintesis *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) yang menginduksi produksi LH dan FSH. LH menginduksi sintesis testosteron oleh sel Leydig. FSH mempengaruhi sel Sertoli, menginduksi produksi *androgen-binding protein* (ABP) dan menginduksi produksi aktivin dan inhibin oleh sel Sertoli. Aktivin dan inhibin mempengaruhi rilis dalam hipotalamus dan hipofisis (Brehm dan Steger, 2005). Penekanan

terhadap biosintesis testosteron dapat menghambat spermatogenesis.

Efek dioksin mengganggu aktivitas endokrin dimediasi oleh AhR. AhR mengaktifkan TCDD menginduksi ekspresi CYP1A1 dan dapat berinteraksi dengan AR. Selain berinteraksi dengan AR dioksin juga dapat mengikat ABP (Zhou *et al.*, 2002). TCDD mengikat AhR dalam sitoplasma. Kompleks ikatan AhR dan dioksin mengalami konformasi perubahan dan tertranslokasi ke nukleus. Selanjutnya ikatan ini akan melakukan heterodimer dengan faktor transkripsi lain, yaitu Arnt. Heterodimer ini akan berinteraksi dengan *dioxin-responsive enhancer elements* (DRE) yang terletak pada permukaan gen target dan mengaktifkan berbagai faktor transkripsi pada inti sel. Heterodimer AhR-Arnt menghasilkan stimulasi gen sitokrom P450 dan akibatnya meningkatkan produksi sitokrom. Sitokrom P450 merupakan enzim khusus dari generasi profesional ROS karena aktivitas biokimia agen toksik. Sitokrom ini terbentuk dan berpartisipasi dalam proses lanjut metabolisme dioksin (Dobrzyński *et al.*, 2009). AhR dan Arnt dalam saluran reproduksi jantan dewasa terdeteksi di semua organ (testis, epididimis, vas deferens, prostat ventral, dorsolateral prostat, dan vesikula seminalis) serta diekspresikan pada spermatosit.

TCDD mampu memberikan efek toksik selama aktivasi AhR dan *cytochrome* P450 (CYP450), sedangkan vitamin E dapat menghambat transkripsi dan ekspresi dari CYP450 dan gen steroid dehydrogenase melalui penghambatan induksi TCDD terhadap aktivasi AhR. Selain itu, vitamin E dapat menurunkan *competitive binding* dari TCDD terhadap AR dan ABP. Mekanisme penghambatan oleh vitamin E dikenal sebagai mekanisme antioksidan *chain breaking*, dengan demikian vitamin E memiliki efek antogonis terhadap toksisitas terhadap TCDD (Yin *et al.*, 2012). Vitamin E tidak hanya efektif sebagai antioksidan dan imunomodulator,

tetapi dapat memerangi efek neurotoksik yang disebabkan oleh TCDD (Kim dan Yang, 2005). Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek berbagai dosis vitamin E terhadap sistem reproduksi mencit jantan yang terpapar TCDD. Diharapkan vitamin E memberikan efek pendekatan untuk mencegah atau mengurangi toksisitas yang ditimbulkan oleh TCDD.

Materi dan Metode Penelitian

Hewan coba

Menggunakan mencit (*Mus musculus*) strain BALB/c. Mencit mengalami masa aklimasi selama 1 minggu. Makan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Mencit dikandangkan secara individual dalam kandang ukuran 26x15x15 cm, dengan temperatur dan kelembaban konstan. Penelitian ini sudah melalui uji kelayakan etik pada komisi etik penelitian di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Bahan penelitian

Meliputi pakan mencit yaitu pelet komersil (*Br-1*) dan air minum kemasan (*club*). Vitamin E (*α -tocopherol*, Analitical strandart Sigma T3251). Sebagai induktor toksik organ reproduksi digunakan 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD, Analitical strandart Sigma 48599). Pelarut vitamin E dan TCDD digunakan minyak jagung (*Mazola Corn oil switzerland*).

Desain metode eksperimental

Sebanyak 25 ekor mencit jantan sehat secara acak dibagi dalam lima kelompok. Dosis TCDD dan Vitamin E masing-masing yaitu 100 ng/kg/d and 0 mg/kg/d (kelompok kontrol positif, P1), 100 ng/kg/d and 11 mg/kg/d (Kelompok P2), 100 ng/kg/d and 20 mg/kg/d (Kelompok P3), and 100 ng/kg/d and 37 mg/kg/d (Kelompok P4). Kelompok kontrol negatif (P0) diberikan *corn oil* 0,1 ml. Dosis vitamin E ditentukan berdasarkan konversi dosis optimal untuk mengurangi resiko

penyakit kronis dari penelitian *Institute of medicine US*, (2000). Dosis TCDD ditentukan berdasarkan hasil penelitian Fujimaki *et al.* (2002) dan Yin *et al.* (2012). TCDD dan Vitamin E dilarutkan dalam *corn oil*, kemudian diberikan secara peroral selama 35 hari. TCDD diberikan setiap hari pada pukul 08.00 dan setelah 4 jam dilanjutkan pemberian Vitamin E. Setelah 35 hari perlakuan, hari ke 36 seluruh hewan coba dibunuh pada pukul 08.00.

Teknik pengambilan jaringan testis dan Pengamatan sel spermatogenik

Dilakukan pembusukan menggunakan *ether*. kemudian dilakukan pengambilan jaringan testis. Organ testis dibuat sediaan histologis pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) sesuai prosedur standar. Tiga tubulus seminiferus dipilih secara acak untuk diambil nilai rata-rata jumlah sel spermatogenik. Jumlah sel spermatogenik dihitung terpisah meliputi spermatogonium, spermatosit I dan II, spermatid dan spermatozoa. Pengamatan dilakukan pada mikroskop cahaya pembesaran

400x yang dilengkapi dengan program *optilab viewer*.

Analisis Data

Data sel spermatogenik di analisis menggunakan SPSS 21. Data yang diperoleh baik jumlah sel spermatogenik dan kadar testosteron serum dianalisis dengan Analisis Varian (Anava) uji *Fisher* (F) satu arah taraf kepercayaan 95% dan bila terjadi perbedaan signifikan ($p < 0.05$) dilanjutkan uji perbandingan rerata setiap kelompok perlakuan dengan uji Jarak Berganda *Duncan*.

Hasil dan Pembahasan

Pengujian jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit I dan II, spermatid dan spermatozoa) pada kelompok kontrol negatif (P0) menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$) terhadap kelompok perlakuan TCDD. Jumlah sel spermatogenik pada setiap kelompok perlakuan ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan rerata jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit I dan II, spermatid dan spermatozoa).

Perlakuan	Rerata jumlah spermatogonium (%)	Rerata jumlah spermatosit I dan II (%)	Rerata jumlah spermatid (%)	Rerata jumlah spermatozoa (%)
P0	0,11 ^c ± 0,01	0,16 ^d ± 0,01	0,13 ^e ± 0,01	0,24 ^d ± 0,00
P1	0,06 ^a ± 0,01	0,05 ^a ± 0,01	0,04 ^a ± 0,01	0,05 ^a ± 0,01
P2	0,07 ^a ± 0,01	0,06 ^b ± 0,00	0,05 ^b ± 0,00	0,05 ^a ± 0,01
P3	0,09 ^b ± 0,01	0,11 ^c ± 0,01	0,10 ^c ± 0,00	0,13 ^b ± 0,00
P4	0,11 ^c ± 0,01	0,15 ^d ± 0,01	0,12 ^d ± 0,01	0,2 ^c ± 0,01

Keterangan: superskrip (^{a,b,c,d}) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (signifikan) antara perlakuan ($p < 0.05$)

Abnormalitas spermatogenesis dapat dilihat dari jumlah dan ukuran sel spermatogenik penyusun tubulus seminiferus yang berubah, berkurang atau mengalami perkembangan yang terhenti pada salah satu tahapan dan adanya kemungkinan untuk terjadinya pelepasan perlekatan sel germinalis. Pemberian TCDD diduga

menyebabkan efek samping berupa infertilitas, pada mencit jantan karena menyebabkan gangguan proses spermatogenesis yang selanjutnya akan berdampak pada penurunan jumlah sel spermatogenik dan diameter tubulus seminiferus.

Efek toksik TCDD pada penelitian ini menyebabkan gangguan proses spermatogenesis

baik pada tahap spermatositogenesis maupun spermiogenesis. Hal ini sesuai pendapat Dirican dan Kalender (2012) yang berhasil membuktikan TCDD mampu meningkatkan abnormalitas pada proses spermatositogenesis dan spermiogenesis. Perbedaan penampang melintang tubulus seminiferus dapat dilihat dari jumlah sel spermatogenik serta kepadatan sel yang menyusun tubulus seminiferus (Gambar 1). Pengaruh TCDD pada jumlah sel spermatogenik dapat dilihat pada kontrol positif (Gambar 1). Pada kontrol negatif, sel spermatogenik tersusun rapi dengan kepadatan sel yang tinggi. Spermatogonium tersusun atas 1 lapis, spermatosit I dan II tersusun 1-2 lapis, dan spermatid tersusun atas 2-3 lapis, sedangkan pada kontrol positif letak sel spermatogenik tidak beraturan dengan kepadatan sel yang rendah.

Pada kelompok perlakuan vitamin E dosis 37 mg/kg/hari menunjukkan kepadatan sel spermatogonium yang menyerupai kontrol negatif, sel spermatogonium tersusun rapi pada lapisannya. Spermatogonium menduduki lapisan paling basal yang berjumlah 1 lapis. Pengaruh pemberian vitamin E terhadap pemulihan jumlah sel spermatogonium setelah pemberian TCDD dapat dilihat dari perbedaan jumlah spermatogonium antara kontrol positif yang diberikan TCDD dengan perlakuan kombinasi TCDD dan vitamin E.

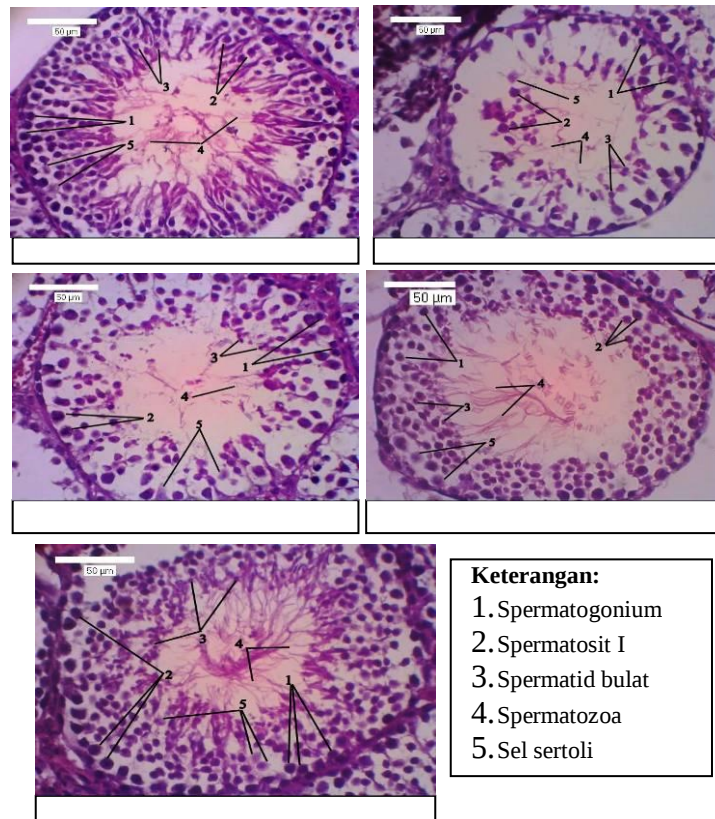
Jumlah spermatosit I dan II ini jika dilihat dibawah mikroskop, jumlah sel tertinggi yang terdapat pada kelompok vitamin E dosis 37 mg/kg/hari. Lapisan spermatosit I dan II tersusun rapi pada kelompok perlakuan tersebut. Namun lapisan spermatosit I dan II tampak tidak beraturan pada kelompok kontrol positif, karena kepadatan sel tersebut menurun (Gambar 1).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa mencit yang menerima paparan TCDD peroral secara signifikan mengalami gangguan spermatogenesis, terlihat dari

jumlah sel spermatogenik yang signifikan menurun. Penurunan jumlah sel spermatogenik bisa disebabkan oleh efek samping dari TCDD pada spermatogenesis. Efek berbahaya dari TCDD pada spermatogenesis dapat berasal dari gangguan hormonal. Penurunan jumlah sel spermatogenik yang signifikan merupakan salah satu indikator dari toksisitas biokimiawi pada sistem reproduksi yaitu ketidakstabilan kadar testosteron (Oda dan Maddawy, 2012).

Pengaruh TCDD terhadap penurunan jumlah spermatozoa dianggap sebagai mekanisme yang paling sensitif. AhR dan Arnt juga diekspresikan pada spermatosit, di mana dianggap memainkan peran dalam mengatur apoptosis spermatosit (Schultz *et al.*, 2003). AhR dan Arnt dalam berbagai organ saluran reproduksi jantan dewasa terdeteksi di semua organ (testis, epididimis, vas deferens, prostat vitamin Entral, dorsolateral prostat, dan vitamin Esikula seminalis) (Suominen *et al.*, 2003). Penelitian yang dilakukan oleh schultz *et al* (2003) menunjukkan distribusi kompleks AhR dan Arnt dalam protein mRNA testis golongan rat dan manusia. AhR dan Arnt memediasi efek langsung TCDD pada sel testis pada golongan rat dan manusia.

Efek merugikan lain dari TCDD adalah terganggunya interaksi antar sel dalam testis, gangguan perkembangan dari sel germinal, gangguan spermatogenesis, penipisan enzim antioksidan dan peningkatan tingkat peroksidasi lipid. Mekanisme stres oksidatif yang ditimbulkan TCDD dapat dijelaskan bahwa produk yang terbentuk selama steroidogenesis normal dapat bertindak sebagai pseudosubstrat dan berinteraksi dengan P450, sehingga terbentuk kompleks *pseudosubstrate-P450-O₂*, yang merupakan sumber kerusakan karena ketidakmampuan pseudosubstrat untuk menangkal radikal bebas (Mathur and D'Cruz, 2011).



Gambar 1. Potensi vitamin E terhadap jumlah sel spermatogenik dan diameter tubulus seminiferus pada mencit (*Mus musculus*) yang terpapar 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). Preparat histopatologi pewarnaan HE, pembesaran 400x.

Penelitian yang dilakukan oleh Yin *et al.* (2012) menemukan bahwa spermatozoa, spermatosit, dan spermatogonia teridentifikasi mengalami pelepasan perlekatan. Selain itu terjadi nekrosis pada spermatosit dan spermatogonia. Pada penelitian ini kemungkinan penurunan jumlah sel spermatogenik juga disebabkan oleh mekanisme yang sama pada penelitian sebelumnya tersebut.

Chang *et al.* (2009) membuktikan bahwa antioksidan termasuk *alpha-tocopherol* dapat mengurangi ekspresi CYP1A1 yang diinduksi oleh TCDD dan memiliki efek penghambatan pada aktivitas promotor CYP1A1. Terjadi penurunan aktivasi AhR yang terinduksi oleh TCDD, aktivitas CYP1A1 dan aktivitas Ecto-ATPase. Singkatnya, temuan ini menunjukkan bahwa penekanan transkripsi CYP1A1 yang terinduksi oleh TCDD melalui penekanan aktivasi AhR fungsional. Penghambatan

Ecto-ATPase dapat mengurangi produksi ATP yang diperlukan untuk translokasi elektron AhR. Ecto-ATPase adalah enzim utama yang bertanggung jawab untuk melepaskan energi dari ATP yang digunakan dalam translokasi AhR ke ligan elektron. Mekanisme lain yang potensial adalah memodulasi status fosforilasi kompleks AhR.

Mengingat bahwa vitamin E menurunkan aktivasi AhR yang terinduksi oleh TCDD, dapat dibayangkan bahwa vitamin E dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan akut maupun kronis intoksikasi TCDD (Chang *et al.*, 2009). Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh TCDD pada organ reproduksi jantan terhadap jumlah sel spermatogenik dan untuk menilai peran vitamin E yang bersifat memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh TCDD.

TCDD terlihat dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus, namun kadar testosteron pada perlakuan ini meningkat secara signifikan. Hal ini dapat dijelaskan bahwa efek dioksin mengganggu aktivitas endokrin dimediasi oleh reseptor aril hidrokarbon (AhR). Sistem AhR memiliki beberapa karakter yang menarik salah satunya dapat mengikat *androgen receptor* (AR) dan androgen binding protein (ABP) (Kakeyama and Tohyama 2003). Pengikatan terhadap AR dan ABP akan mengganggu mekanisme transportasi testosteron kedalam tubulus seminiferus. Gangguan terhadap transportasi testosteron kedalam tubulus seminiferus akan mengganggu proses spermatogenesis dengan berkurangnya jumlah sel spermatogenik. Konsentrasi intratubular testosteron sangat mempengaruhi tahap awal pengembangan sel germinal. Penekanan terhadap biosintesis testosteron dapat menghambat spermatogenesis. Teramati bahwa fase spermatogenesis yang lebih tua yaitu spermatid dan spermatozoa belum mampu memberikan hasil yang setara dengan perlakuan kontrol negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian Dirican dan Kalender (2011) yang menyatakan bahwa paparan TCDD sangat kuat pada sel germinal epitel yang lebih dewasa yaitu spermatid dan spermatozoa. Selain itu, rendahnya kadar testosteron pada intratubulus seminiferus sangat berpengaruh pada *blood testis barrier* (BTB). Selain mendukung BTB, testosteron juga diperlukan untuk adesi Sertoli-spermatid dan pelepasan spermatozoa dewasa ke dalam lumen tubulus seminiferus (Walker, 2009). Testosteron mengontrol sel germinal yang sedang berkembang terutama spermatid. Adanya gangguan pada hormon testosteron menyebabkan spermatid prematur terlepas dari epitel. Selain itu testosteron mempengaruhi fungsi perekat antara

spermatid dan sel Sertoli, sehingga terjadi lepasnya perlekatan spermatid dari epitel.

Efek menguntungkan dari vitamin E sebagian besar karena sifat antioksidan yang larut lipid dan memainkan peran sebagai pelindung utama terhadap stres oksidatif dan mencegah produksi peroksida lipid dengan pembilasan radikal yang beracun, produk sampingan dari proses metabolisme dalam membran biologis pada testis. Selain itu, vitamin E penting dalam mempertahankan integritas fisiologis testis, epididimis dan aksesori kelenjar yang memiliki peran penting dalam spermatogenesis dan pematangan spermatozoa (Oda and Maddawy, 2012).

Fungsi utama vitamin E tampaknya sebagai *chain-breaking* antioksidan nonspesifik yang mencegah penyebaran radikal bebas. Vitamin E memiliki toksisitas yang sangat rendah. Vitamin E memiliki efek perlindungan yang berperan dalam kerusakan oksidatif dari testis. Mekanisme perlindungan vitamin E melalui kemampuannya dengan cepat dan efektif mengikat radikal *peroxyl* lipid sebelum serangan terjadi pada membran lipid testis dan sel spermatogenik. Selain itu, vitamin E merupakan sistem pertahanan non-enzimatik testis dalam mitokondria, spermatozoa, dan mampu menghambat peroksidasi kerusakan testis. Vitamin E memiliki peran penting dalam pemeliharaan dan kelangsungan hidup spermatid (Chandra *et al.*, 2010). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Alsharif dan Hassoun (2003) vitamin E secara signifikan menurunkan *superoxide* pada percobaan invitro menggunakan C57BL/6J mice yang terpapar TCDD.

Mekanisme efek antagonis vitamin E terhadap TCDD merupakan respon dari abilitas vitamin E untuk menekan aktivasi ekspresi gen target AhR dan stres oksidatif yang disebabkan oleh TCDD. Upregulasi TCDD terhadap transkripsi dan ekspresi dari berbagai *cytochrome*-P450 melalui

AhR dilawan oleh vitamin E melalui aktifitas penekanan terhadap produksi P450 sampai tingkat mRNA (Yin *et al.*, 2012).

Kesimpulan

Vitamin E memiliki efek antagonis terhadap toksistas TCDD pada proses spermatogenesis dan dosis efektif vitamin E sebagai pemulihan tertinggi terhadap toksisitas TCDD adalah 37 mg/kg/hari.

Daftar pustaka

- Alsharif, N.Z. and E.A. Hassoun. 2004. Protective effects of vitamin A and vitamin E succinate against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced body wasting, hepatomegaly, thymic atrophy, production of reactive oxygen species and DNA damage in C57BL/6J mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 95(3) : 131-8.
- Brehm, R. and K. Steger. 2005. Regulation of Sertoli cell and germ cell differentiation. In: *Advances in Anatomy, Embryology and cell biology*, Springer-Verlag Berlin 181 : 2-7.
- Chandra, A.K., A. Chatterjee, R. Ghosh and M. Sarkar. 2010. Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. *Food and Chemical Toxicology* 48 : 972-979
- Chang, H.J., J.S. Park, E.K. Lee, M.H. Kim, M.K. Baek, H.R. Kim, H.G. Jeong, S.Y. Choi and Y.D. Jung. 2009. Ascorbic acid suppresses the 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced CYP1A1 expression in human HepG2 cells. *Toxicology in Vitro* 23: 622-626
- Dirican, E.K., Y. Kalender. 2012. Dichlorvos-induced testicular toxicity in male rats and the protective role of vitamins C and E. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64: 821-830
- Dobrzyński, M., I. Calkosiński, I. Przywitowska, J.K. Brzoza, A.C. Waszkiewicz, E. Sołtan and O. Parulska. 2009. Effects of Dioxins in Environmental Pollution on Development of Tooth Disorders. *Polish J. of Environ. Stud.* 18 (3) : 319-323
- Fujimaki, H., K. Nohara and T. Kobayashi. 2002. Effect of a single oral dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on immune function in male NC/Nga mice. *Toxicology Science* 66(1) : 117-124.
- Kakeyama, M. and C. Tohyama. 2003. Developmental Neurotoxicity of Dioxin and Its Related Compounds *Industrial Health*. 41 : 215-230
- Kim, S.Y. and J.H. Yang. 2005. Neurotoxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in cerebellar granule cells. *Experimental and Molecular Medicine* 37(1) : 58-64.
- Latchoumycandane, C. and P.P. Mathur. 2002. Effects of vitamin E on reactive oxygen species-mediated 2, 3, 7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin toxicity in rat testis. *Applied Toxicology*. 22(5) : 345-351.
- Mathur, P.P., and S.C. D'Cruz. 2011. The effect of environmental contaminants on testicular function *Asian Journal of Andrology* 13: 585-591
- Oda, S.S. and Z.Kh.El. Maddawy. 2012. Protective effect of vitamin E and selenium combination on deltamethrin-induced reproductive toxicity in male rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64 : 813-819
- Schultz, R., J. Suominen, T. Varre, H. Hakovirta, M. Parvinen and J. Toppari. 2003. Expression of aryl hydrocarbon receptor and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator messenger ribonucleic acids and proteins in rat and human testis. *Endocrinology*. 144 : 767-776.

- Suominen, R., J. Värre, T. Hakovirta, H. Parvinen, M. Toppari, J. Pelto. 2003. Expression of aryl hydrocarbon receptor and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator messenger ribonucleic acids and proteins in rat and human testis. *Endocrinology*. 144(3) : 767-76.
- Walker, W.H. 2009. Molecular mechanisms of testosterone action in spermatogenesis. *Steroids*. 74: 602–607
- WHO. 2010. Preventing disease through healthy environments expose to dioxins and dioxin-like substances: A mayor public health concern. <http://www.who.int/>[diunduh pada 6 Februari 2013].
- Yin, H.P., J.P. Xu, X.Q. Zhou, and Y. Wang. 2012. Effects of vitamin E on reproductive hormones and testis structure in chronic dioxin-treated mice. *Toxicology and Industrial Health*. 28(2) : 152–16.
- Zhou, Q., R. Nie, G.R. Prins. 2002. Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. *J Androl*. 23:870-81.