

Potensi ekstrak *Solanum betaceum* terhadap peningkatan sel spermatogenik pada mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat

Nurul Fatimah Susanti^{1*}, Reny I'tishom², Siti Khaerunnisa³

¹Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 60286

²Departemen Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

³Departemen Biokimia Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

*Email korespondensi: nurulfatimahsusanti@gmail.com

Accepted: 22 April 2020; revision: 06 Mei 2020; published: 30 Juni 2020

Abstrak

Latar Belakang: *Solanum betaceum* berpotensi mencegah efek buruk timbal asetat pada saluran reproduksi mencit karena dapat mencegah stres oksidatif. Tujuan penelitian adalah membuktikan pengaruh pemberian ekstrak *S. betaceum* terhadap sel spermatogenik mencit yang terpapar timbal asetat. Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian ekstrak *S. betaceum* pada peningkatan jumlah sel spermatogenik mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.

Metode: Jenis penelitian dengan laboratorium eksperimental murni (*true eksperimental*), desain *randomized posttest only control group design*. Total sampel berjumlah 40 ekor dibagi menjadi 5 kelompok. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi akan dipilih dengan teknik *simple random sampling*. Analisis data dengan uji statistik *one-way ANOVA* dengan nilai signifikansi yang digunakan adalah nilai $p < 0,05$.

Hasil: Penelitian ini menunjukkan rerata \pm standar deviasi sel spermatogenik pada kelompok P3.2107.88 \pm 78.70.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak *S. betaceum* meningkatkan jumlah sel spermatogenik pada mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat.

Kata kunci: sel spermatogenik, *Solanum betaceum*, timbal asetat

Abstract

Background: Flavanoids are antioxidants can prevent the negative effects caused by lead. The flavonoids contained in the *S. betaceum* extract have the potential to prevent the adverse effects of lead on the reproductive tract of rats because it can prevent oxidative stress. The purpose of this study was to prove the effect of *S. betaceum* extract on spermatogenic cells of mice exposed to lead acetate. The hypothesis in this study is that there is an effect of the administration of *S. betaceum* extract to an increase in the number of spermatogenic cells of mice (*Mus musculus*) exposed to lead

Method: this type of research was a true experimental laboratory (*true experimental*), the research design uses a randomized posttest only control group design approach. The total sample of 40 mice was divided into 5 groups. Samples that meet the inclusion and exclusion criteria will be selected by simple random sampling technique. Data analysis using ANOVA one-way statistical test is used. The significance value used is the value of $p < 0.05$

Results: The mean \pm standard deviation of the highest cell spermatogenic was highest 2107.88 \pm 78.70.

Conclusion: The administration of *S. betaceum* extract can increase the number of spermatogenic cells of mice (*M. musculus*) which are exposed to lead acetat.

Key words: lead acetat, *Solanum betaceum*, spermatogenic cells

PENDAHULUAN

Logam berat dapat menimbulkan toksisitas yang cukup serius, salah satunya adalah Plumbum (Pb) atau timbal. Timbal bersifat toksik dan mudah terurai dalam air. Timbal juga banyak digunakan sebagai bahan campuran pembuatan pipa air, alat-alat rumah tangga, cat dan mainan anak, gas buangan kendaraan bermotor maupun limbah pabrik pun mengandung timbal¹. Proses eliminasi timbal yang lambat mengakibatkan akumulasi timbal yang semakin banyak². *Institute for Health Metrics and Evaluation* (IHME) memperkirakan paparan timbal mengakibatkan 1,06 juta kematian³. Efek toksik timbal mengakibatkan gangguan pada motilitas spermatozoa dan peningkatan persentase spermatozoa dengan morfologi abnormal, kerusakan DNA dan kerusakan struktur kromatin. Secara keseluruhan, paparan timbal tidak hanya menunjukkan efek buruk pada parameter fisiologis spermatozoa, tetapi juga merusak struktur dan integritas DNA. Efek ini dapat menyebabkan penurunan kesuburan pria secara signifikan⁴.

Salah satu jenis timbal adalah timbal asetat. Timbal asetat dapat berpengaruh pada proses spermatogenesis. Timbal asetat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga mengganggu keseimbangan oksidan dan antioksidan yang mengakibatkan stres oksidatif. Stres oksidatif mengakibatkan kerusakan membran sel, kerusakan asam nukleat dan menghambat DNA *repair*⁵. Akibatnya proses spermatogenesis akan terganggu dan menurunkan kualitas spermatozoa. Pada mencit proses spermatogenesis dapat dievaluasi dengan memeriksa jumlah sel spermatogenik. Antioksidan dapat meningkatkan sel spermatogenik. Salah satu buah yang mengandung antioksidan adalah *S. betaceum*.

S. betaceum adalah tanaman perdu dari famili *Solanaceae*. Antioksidan terkandung dalam ekstrak. *S. betaceum* dapat mencegah perkembangan aterosklerosis akibat stres oksidatif yang terjadi⁶. Hasil analisis skrining fenolik bahwa ekstrak *S. betaceum* mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan karotenoid

yang memiliki kontribusi dalam aktivitas antioksidan⁷.

Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik dapat berperan sebagai antioksidan. Antioksidan mampu mendonasikan atom hidrogen atau melalui kemampuannya mengkelat logam, mencegah terbentuknya ROS dengan mencegah reaksi redoks yang menghasilkan oksidan baru dan melindungi antioksidan lipofilik sehingga dapat menguatkan antioksidan seluler⁸. Salah satu tanaman yang tinggi flavonoid adalah *S. betaceum*.

Secara umum tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis potensi pemberian ekstrak *S. betaceum* terhadap peningkatan jumlah sel spermatogenik mencit (*M. musculus*) yang dipapar timbal asetat. Dosis ekstrak *S. betaceum* sebanyak 100 mg / kgBB, 200 mg / kgBB dan 400 mg/kgBB selama 35 hari.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan pendekatan *randomized posttest only control group design*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian ekstrak *S. betaceum*. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel spermatogenik mencit yang dipapar timbal asetat.

Total sampel keseluruhan berjumlah 40 ekor mencit. Terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok K- adalah kelompok kontrol, kelompok K+ adalah kelompok dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB, kelompok P1 adalah kelompok perlakuan dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB+ ekstrak *S. betaceum* 100 mg/gBB, kelompok P2 adalah kelompok perlakuan dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB + ekstrak *S. betaceum* 200 mg/KgBB, dan kelompok P3 adalah kelompok perlakuan dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB + ekstrak *S. betaceum* 400 mg/gBB. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dipilih dengan teknik *simple random sampling*.

Penelitian dilakukan dari bulan Desember 2019 hingga Maret 2020. Lokasi penelitian berada di laboratorium

hewan coba biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan laboratorium biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Analisis data kemudian

dilanjutkan dengan uji statistik *one-way* ANOVA. Nilai signifikansi yang digunakan adalah nilai $p < 0,05$.

Tabel 1. Hasil analisis jumlah sel spermatogenik

Kelompok	Rerata±Simpang baku (sel)	Normalitas	Homogenitas	Nilai p
K-	2010.25±154.71	0.728	0.124	0.000*
K+	1684.13±130.50	0.188		
P1	1971.63±288.57	0.272		
P2	1794.50±176.05	0.660		
P3	2107.88±78.70	0.853		

HASIL

Ada tiga sel yang termasuk sel spermatogenik dan diteliti dalam penelitian ini yaitu jumlah sel spermatogonium, sel spermatosit dan sel spermatid. Jumlah sel spermatogenik merupakan jumlah total sel spermatogonium, sel spermatosit dan spermatid pada 5 lapangan pandang histologi tubulus seminiferus kanan dan kiri kemudian di jumlah.

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah sel spermatogenik kelompok K+ mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok K-. Jika dibandingkan kelompok K+ dengan kelompok P1, P2 dan P3, jumlah sel spermatogenik mengalami kenaikan. Diantara kelompok P1, P2, P3, kelompok P3 mengalami kenaikan paling besar jika dibandingkan dengan K+.

Uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene test*. Berdasarkan hasil uji *one-way* Anova dapat disimpulkan bahwa pemberian ada pengaruh pemberian ekstrak *S. betaceum* pada peningkatan jumlah sel spermatogenik mencit (*M. musculus*) yang dipapar timbal asetat.

Tabel 2. Hasil uji Post hoc LSD

Kelompok	K-	K+	P1	P2
K-	-	-	-	-
K+	0.001*	-	-	-
P1	0.670	0.003*	-	-
P2	0.022*	0.227	0.057	-
P3	0.285	0.000*	0.138	0.001*

Superskrip menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Hasil uji LSD menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada jumlah sel spermatogenik antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif.

PEMBAHASAN

Spermatogenesis adalah proses menghasilkan spermatozoa yang matur. Proses ini berlangsung di dinding tubulus seminiferus. Sel spermatogonia terdiferensiasi dan menghasilkan sel spermatosit kemudian bermiosis menjadi sel spermatid yang selanjutnya akan dilepas ke dalam lumen tubulus seminiferus. Selain sel spermatogenik, pada basal lamina juga terdapat sel Sertoli yang berperan dalam proses spermatogenesis dan pada jaringan interstitial terdapat sel Leydig⁹.

Berdasarkan hasil analisis data yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan rerata jumlah sel spermatogenik antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif terdapat penurunan rerata. Hal ini menunjukkan bahwa timbal asetat dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik. Timbal asetat dapat berpengaruh pada proses spermatogenesis. Hal ini disebabkan karena timbal asetat pada tingkat testikuler mengakibatkan stres oksidatif karena timbal asetat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) termasuk hidrogen peroksida sehingga mengganggu keseimbangan oksidan dan antioksidan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Timbal asetat secara langsung dapat menghambat enzim δ -ALAD. Apabila enzim δ -ALAD terhambat maka mengakibatkan akumulasi ALA (*Aminolevulinic Acid*), ALA

ini mudah teroksidasi menjadi radikal bebas seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) dan anion superoksida (O_2^-). Anion superoksida (O_2^-) adalah salah satu jenis ROS yang sangat reaktif. Akumulasi ALA yang mudah teroksidasi mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan. Paparan ROS yang terjadi terus menerus juga akan memicu mekanisme apoptosis¹⁰.

Apoptosis merupakan kematian sel terprogram dan fisiologis. Bahan toksik dapat mengganggu proses spermatogenesis dengan merusak *blood testis barrier* (BTB) dan pembuluh darah endotel melalui inisiasi terjadinya inflamasi pada testis sehingga menyebabkan apoptosis. Selain itu, terjadi penurunan antioksidan endogen seperti, katalase (CAT), glutathion peroksida (GPx) dan glutathion (GSH)⁵. Stres oksidatif mengakibatkan rusak membran sel, kerusakan asam nukleat dan menghambat DNA repair⁵.

Selain mengakibatkan stres oksidatif, timbal asetat juga mengakibatkan penurunan hormon yang mengganggu spermatogenesis pada testis. Penurunan FSH berpengaruh pada penurunan hormon testosteron yang mengakibatkan proliferasi sel germinal terganggu sehingga mengakibatkan jumlah sel spermatogenik menurun. Paparan timbal asetat dengan dosis 20 mg/KgBB yang diberikan selama 35 hari mengakibatkan penurunan sel spermatosit dan sel spermatid¹¹. Paparan timbal asetat dengan dosis 1.5 g/L yang diberikan selama 8 minggu menurunkan sel spermatogenik dibandingkan dengan kelompok kontrol¹².

Hasil uji statistik penelitian ini juga menunjukkan bahwa terdapat peningkatan yang signifikan jumlah sel spermatogenik pada kelompok perlakuan P1 dan P3 yang diberikan paparan timbal asetat dengan kelompok kontrol positif (K+). Jika dilihat dari rerata jumlah sel spermatogenik antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 terdapat peningkatan rerata. Ekstrak *S. betaceum* dapat meredam dampak radikal bebas dan menurunkan kadar MDA¹³.

S. betaceum merupakan buah yang mengandung flavonoid, tannin dan terpenoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki mekanisme sebagai *scavenger* spesies reaktif yang akan mentransfer atom H^+ , mencegah terbentuknya ROS (*reactive oxygen species*) dengan mencegah reaksi redoks dan melindungi antioksidan lipofilik sehingga dapat menguatkan antioksidan seluler didalam tubuh¹².

Antioksidan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif dengan beberapa mekanisme diantaranya mengurangi konsentrasi oksidan, mencegah pembentukan singlet oksigen yang reaktif, menangkap radikal primer, memutus rantai hidroperoksida dan melakukan dekomposisi produk-produk primer radikal menjadi non radikal. Kandungan flavonoid dalam *S. betaceum* bersifat sebagai penangkal radikal bebas. Konfigurasi rantai hidroksil flavonoid berfungsi menangkap ion ROS. *S. betaceum* berpotensi sebagai anti oksidan alami untuk menghadapi produksi ROS yang berlebih⁶.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak *S. betaceum* dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik pada mencit (*M. musculus*) yang dipapar timbal asetat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gusnita D. Pencemaran logam berat timbal (pb) di udara dan upaya penghapusan bensin bertimbal. *Berita Dirgantara*. 2012;**13(3)**:95-101.
2. Awadalla NJ, El-Helaly M, Gouida M, Mandour R, Mansour M. Sperm chromatin structure, semen quality and lead in blood and seminal fluid of infertile men. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2011;**2(1)**:27-36.
3. World Health Organization. No Title. Lead poisoning and health [internet]. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>. Published 2019.

4. Li C, Zhao K, Zhang H, et al. Lead exposure reduces sperm quality and DNA integrity in mice. *Environmental Toxicology*. 2018;**33(5)**:594-602. doi:10.1002/tox.22545
5. Ramu S JR. No Title. In: In Carrell D AK, ed. *Methods in Molecular Biology*. Totowa: Humana Press; 2013.
6. Khaerunnisa S, Hidayati HB, Susanto J, Setiawati Y, Suhartati S. Atheroprotective effect of *Solanum betaceum* on rat exposed to cigarette smoke. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019;**11(Special Issue 5)**:145-149. doi:10.22159/ijap.2019.v11s5.T1005
7. Safitri I, Hidayati HB, Turchan A, Suhartati, Khaerunnisa S. *Solanum betaceum* improves cognitive function by decreasing N-Methyl-D-aspartate on Alzheimer rats model. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019;**11(Special Issue 5)**:167-170. doi:10.22159/ijap.2019.v11s5.T1015
8. Diana AN, I'tishom R, Sudjarwo SA. *Nigella sativa* Extract Improves Seminiferous Tubule Epithelial Thickness In Lead Acetate-Exposed Balb/C Mice. *Folia Medica Indonesiana*. 2017;**53(3)**:180. doi:10.20473/fmi.v53i3.6444
9. De Rooij DG. The nature and dynamics of spermatogonial stem cells. *Development (Cambridge)*. 2017;**144(17)**:3022-3030. doi:10.1242/dev.146571
10. Nurkarimah DA, Hestianah EP, Wahjuni RS, Hariadi M, Kuncorojakti S, Hermadi HA. Effect of Propolis on Spermatogenic Cells Number and Diameter of Seminiferous Tubules in Male Mice (*Mus musculus*). *KnE Life Sciences*. 2017;**3(6)**:677. doi:10.18502/cls.v3i6.1197
11. Widawati T, Sudjarwo SA, Hermadi HA. Protective Effect of Propolis Extract Against Lead Acetate Toxicity in Mice (*Mus Musculus*) Testes. *KnE Life Sciences*. 2017;**3(6)**:557. doi:10.18502/cls.v3i6.1183
12. Ramah A, EL-shwarby R, M.A. N, El-shewey E. The effect of lead toxicity on male albino rats reproduction with ameliorate by vitamin E and pumpkin seeds oil. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2015;**28(1)**:43-52. doi:10.21608/bvmj.2015.32538
13. Masbintoro A, Agustini SM, NS TD. Pengaruh Ekstrak Buah Terong Belanda (*Solanum Betaceum*) Sebagai Antioksidan Terhadap Kadar Malondialdehida Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi CCL4. *Saintika Medika*. 2016;**12(1)**:38. doi:10.22219/sm.v12i1.5258