

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf11nk320>

Ekstrak *Solanum betaceum* Mampu Meningkatkan Tebal Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus pada Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Timbal Asetat

Nurul Fatimah Susanti

Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga;

nurulfatimahsusanti@gmail.com (koresponden)

Reny I'tishom

Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; ritishom@fk.unair.ac.id

Siti Khaerunnisa

Departemen Biokimia Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; st.khaerunnisa@fk.unair.ac.id

ABSTRACT

*One of the environmental factors that cause male infertility is heavy metal pollution such as lead. Lead can interfere with male fertility. Flavanoids are antioxidants that can prevent the negative effects caused by lead. The flavanoids contained in the Solanum betaceum extract have the potential to prevent the adverse effects of lead on the reproductive tract of mice because it can prevent oxidative stress. So it can affect the thickness of the seminiferous tubule epithelium and the diameter of the seminiferous tubules of mice exposed by lead acetat. The research method was a pure experimental laboratory (true experimental) randomized posttest only control group design approach. The total sample of 40 heads was divided into 5 groups. The study used 5 treatments. The concentration of Solanum betaceum for research group 100 mg/kg BW/day, 200 mg/kg BW/day, 400 mg/kg BW/day. Data analysis was performed analytically using One Way Anova. The results showed the mean \pm standard deviation of the highest seminiferous tubular epithelium was highest 76.63 ± 7.17 and the mean \pm standard deviation of the highest seminiferous tubule diameter was highest at 219.98 ± 17.06 in the P3 group. The results of this study indicate that there were significant differences between groups with $p < 0.05$. The administration of Solanum betaceum extract can increase the thickness of the seminiferous tubules epithelium and the diameter of the seminiferous tubules in mice (*Mus musculus*) which are exposed to lead acetat.*

Keywords: lead acetat; seminiferous tubule epithelial thickness; diameter seminiferous tubule; Solanum betaceum

ABSTRAK

Salah satu faktor lingkungan yang menyebabkan infertilitas pria adalah pencemaran logam berat seperti timbal. Timbal dapat mengganggu kesuburan pria. Flavanoid adalah antioksidan yang mampu mencegah efek negatif yang disebabkan oleh timbal. Flavanoid yang terkandung dalam ekstrak *Solanum betaceum* berpotensi mencegah efek buruk timbal pada saluran reproduksi tikus karena dapat mencegah stres oksidatif. Tujuan penelitian adalah membuktikan pengaruh pemberian ekstrak *Solanum betaceum* terhadap ketebalan epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus mencit yang terpapar timbal asetat. Jenis penelitian adalah dengan laboratorium eksperimental murni (*true eksperimental*), desain penelitian menggunakan pendekatan desain *randomized posttest only control group design*. Total sampel berjumlah 40 kepala dibagi menjadi 5 kelompok. Hewan coba adalah mencit dengan 5 perlakuan. Dosis ekstrak *Solanum betaceum* adalah 100 g/KgBB, 200 g/KgBB, 400g/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan rerata \pm standar deviasi tebal epitel tubulus seminiferus tertinggi 76.63 ± 7.17 dan rerata \pm standar deviasi diameter tubulus seminiferus tertinggi tertinggi 219.98 ± 17.06 pada kelompok P3. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan nilai $p < 0.05$. Pemberian ekstrak *Solanum betaceum* meningkatkan ketebalan epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus pada tikus (*Mus musculus*) yang terpapar timbal.

Kata kunci: timbal asetat; tebal epitel tubulus seminiferus; diameter tubulus seminiferus; *Solanum betaceum*

PENDAHULUAN

Infertilitas pada pria merupakan masalah kesehatan yang erat kaitannya dengan faktor lingkungan. Laki-laki yang mengalami infertilitas berkisar antara 20-30%.⁽¹⁾ Logam berat dapat menimbulkan toksisitas yang cukup serius, contohnya Plumbum (Pb) atau timbal. Timbal bersifat toksik dan mudah larut dalam air. Setelah terabsorpsi didalam tubuh, timbal dapat mengikat komponen salurer penting meliputi struktur protein, enzim dan *nucleid acid* dan berpengaruh pada fungsi komponen salurer tersebut. Proses eliminasi timbal juga lambat mengakibatkan timbal terakumulasi didalam tubuh.⁽²⁾ *Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)* memperkirakan bahwa pada tahun 2017 paparan timbal mengakibatkan 1.06 juta kematian.⁽³⁾ Efek toksik timbal juga berpengaruh pada sistem reproduksi pria berupa penurunan kualitas spermatozoa. Berdasarkan hasil penelitian I'tishom dkk (2011) bahwa paparan timbal mengakibatkan turunnya konsentrasi spermatozoa.⁽⁴⁾

Timbal dapat berpengaruh pada proses spermatogenesis. Hal ini disebabkan karena timbal pada tingkat testikuler mengakibatkan stres oksidatif karena timbal meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) termasuk hidroperoksida sehingga mengganggu keseimbangan oksidan dan antioksidan dan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Selain itu terjadi penurunan antioksidan endogen seperti, *katalase* (CAT), *glutation perioksida* (GPx) dan *glutation* (GSH).⁽⁵⁾ Stres oksidatif mengakibatkan kerusakan membran sel, kerusakan asam nukleat dan menghambat DNA *repair*.⁽⁶⁾ Proses spermatogenesis yang terganggu mengakibatkan kualitas spermatozoa menurun. Pada mencit proses spermatogenesis dapat dievaluasi dengan memeriksa histologi yaitu tebal epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus. Antioksidan dapat meningkatkan tebal epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus. Salah satu buah yang mengandung antioksidan adalah *Solanum betaceum*.

Solanum betaceum adalah tanaman perdu dari famili *Solanaceae*. Berdasarkan penelitian Khaerunnisa (2018) antioksidan terkandung dalam ekstrak *Solanum betaceum* terbukti dapat memperbaiki kerusakan memori akibat merokok, hal ini disebabkan oleh efek neuroprotektif pada biosignaling pembentukan memori.⁽⁷⁾ *Solanum betaceum* juga dapat mencegah perkembangan aterosklerosis akibat stres oksidatif yang terjadi.⁽⁸⁾ *Solanum betaceum* terbukti meningkatkan daya ingat pada tikus yang Alzheimer.⁽⁹⁾ Hasil analisis skrining fenolik bahwa ekstrak *Solanum betaceum* mengandung senyawa diantaranya flavonoid, antosiannin, dan asam fenolat.⁽⁷⁾

Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik dapat berperan sebagai anti-oksidan. Aktivitas antioksidan flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogen atau melalui kemampuannya mengkelat logam. Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid juga dapat mencegah terbentuknya ROS dengan mencegah reaksi redoks yang menghasilkan oksidan baru. Flavonoid juga antioksidan yang dapat melindungi antioksidan lipofilik sehingga dapat menguatkan antioksidan seluler didalam tubuh. Salah satu tanaman yang tinggi flavanoid adalah *Solanum betaceum*.⁽¹⁰⁾ Buah *Solanum betaceum* mengandung flavonoid seperti antosianin, fenolat dan flavonol.⁽⁷⁾

Secara umum tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis potensi pemberian ekstrak etanol *Solanum betaceum* terhadap peningkatan tebal epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal. Dosis ekstrak *Solanum betaceum* sebanyak 100 mg / kgBB, 200 mg / kgBB dan 400 mg/kgBB selama 35 hari.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian eskperimental murni laboratorium (*true experimental*) dengan desain *randomized posttest only control group design* dimana terdapat kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Rancangan ini memungkinkan untuk mengetahui pengaruh perlakuan dengan membandingkan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dipilih dengan teknik *simple random sampling*. Berdasarkan pada perhitungan rumus dalam penelitian Habib *et al* dalam Khaerunnisa (2018), total sampel keseluruhan berjumlah 40 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok K-: kelompok kontrol tanpa pemberian timbal asetat dan ekstrak *Solanum betaceum*, kelompok K+: kelompok dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB selama 32 hari, kelompok P1: kelompok perlakuan dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB selama 32 hari + ekstrak *Solanum betaceum* 100 mg/gBB selama 35 hari, kelompok P2: kelompok perlakuan dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB selama 32 hari+ekstrak *Solanum betaceum* 200 mg/KgBB selama 35 hari, dan kelompok P3: kelompok perlakuan dengan pemberian timbal asetat 75 mg/KgBB selama 32 hari + ekstrak *Solanum betaceum* 400 mg/gBB selama 35 hari.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian ekstrak *Solanum betaceum*. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah tebal epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus mencit yang dipapar timbal asetat.

Penelitian dilakukan dari bulan Desember 2019 hingga Maret 2020. Lokasi penelitian untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan dan pengambilan sampel dilakukan di laboratorium hewan coba Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, sedangkan pemeriksaan tebal epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus dilakukan di Laboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Analisis data menggunakan uji statistik *one-way ANOVA*. Nilai signifikansi yang digunakan adalah nilai $p < 0.05$.

HASIL

Tebal Epitel Tubulus Seminiferus

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok yang diberikan timbal asetat. Peningkatan tebal epitel tubulus seminiferus terjadi pada seluruh kelompok yang

mendapatkan pemberian ekstrak *Solanum betaceum* seperti yang disajikan pada tabel 1. Hasil analisis data tebal epitel tubulus seminiferus dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis tebal epitel tubulus seminiferus

Kelompok	Rerata±Simpang baku (sel)	Normalitas	Homogenitas	Nilai p
K-	75.37±6.55	0.179	0.06	0.002*
K+	66.00±1.96	0.278		
P1	73.71±5.83	0.246		
P2	67.85±5.91	0.424		
P3	76.63±7.17	0.098		

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok K+ mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok K-. Jika dibandingkan kelompok K+ dengan kelompok P1, P2 dan P3 maka tebal epitel tubulus seminiferus mengalami kenaikan. Data tebal epitel tubulus seminiferus kelompok P2 mengalami penurunan dibandingkan P1 dan P3, tetapi rerata tebal epitel tubulus seminiferus lebih tinggi pada kelompok P3 dibandingkan dengan K-. Diantara kelompok P1, P2, P3, kelompok P3 mengalami kenaikan paling besar jika dibandingkan dengan K+.

Berdasarkan analisis statistik menggunakan *one-way* Anova didapatkan ada perbedaan yang signifikan ketebalan epitel tubulus seminiferus setelah pemberian ekstrak *Solanum betaceum* pada mencit yang dipapar timbal asetat.

Diameter Tubulus Seminiferus

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus pada kelompok yang diberikan timbal asetat. Peningkatan diameter tubulus seminiferus terjadi pada seluruh kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak *Solanum betaceum* seperti yang disajikan pada tabel 2. Hasil analisis data tebal epitel tubulus seminiferus dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis diameter tubulus seminiferus

Kelompok	Rerata±Simpang baku (μm)	Normalitas	Homogenitas	Nilai p
K-	209.02±13.38	0.203	0.360	0.014*
K+	199.78±9.16	0.851		
P1	213.82±11.13	0.194		
P2	199.91±13.25	0.187		
P3	219.98±17.06	0.193		

Tabel 2 menunjukkan bahwa rerata diameter tubulus seminiferus pada kelompok K+ mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok K-. Jika dibandingkan kelompok K+ dengan kelompok P1, P2 dan P3 maka diameter tubulus seminiferus mengalami peningkatan. Diameter tubulus seminiferus kelompok P2 mengalami penurunan dibandingkan dengan K-, rerata diameter tubulus seminiferus lebih tinggi pada kelompok P1 dan P3 dibandingkan dengan K-. Diantara kelompok P1, P2, P3, kelompok P3 mengalami kenaikan paling besar jika dibandingkan dengan K+.

Berdasarkan analisis statistik didapatkan ada perbedaan yang signifikan diameter tubulus seminiferus setelah pemberian ekstrak *Solanum betaceum* pada mencit yang dipapar timbal asetat.

PEMBAHASAN

Tebal Epitel Tubulus Seminiferus

Berdasarkan hasil analisis data yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan terdapat peningkatan yang signifikan tebal epitel tubulus seminiferus pada kelompok kontrol negatif (K-) yang diberikan paparan timbal dengan kelompok kontrol positif (K+). Jika dilihat dari rerata tebal epitel tubulus seminiferus antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif terdapat penurunan rerata. Hal ini menunjukkan bahwa timbal dapat menurunkan tebal epitel tubulus seminiferus. 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. Apoptosis merupakan kematian sel secara fisiologis dan terprogram melalui jalur caspase dan disfungsi organel yang mengakibatkan jumlah sel spermatogenik menurun. Akibatnya terjadi juga penurunan tebal epitel tubulus seminiferus. Menurunnya ketebalan epitel tubulus seminiferus disebabkan karena menurunnya jumlah sel spermatogenik dan sel Leydig yang menyusun tubulus seminiferus. Induksi timbal asetat mengakibatkan meningkatnya radikal bebas yang terbentuk dan menurunkan cadangan antioksidan endogen sehingga mengakibatkan ketidakseimbangan antioksidan dan oksidan kemudian terjadi stress oksidatif. Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan mitokondria yang mengatur mekanisme apoptosis. Apoptosis berlebihan pada testis memicu kerusakan dan degenerasi seminiferus tubulus.⁽¹¹⁾

Hasil pengukuran data ketebalan epitel tubulus seminiferus setelah perlakuan pemberian ekstrak *Solanum betaceum* bahwa ketebalan epitel tubulus seminiferus berbeda nyata terdapat adanya perbedaan K+ dengan kelompok perlakuan P1 dan P3 ($p < 0.05$). Jika dilihat dari rerata tebal epitel tubulus seminiferus antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 terdapat peningkatan rerata. Hal ini disebabkan pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) mengandung senyawa flavonoid bertindak sebagai prooksidan dan flavanoid merupakan anti inflamasi. Ekstrak etanol terong belanda memiliki aktivitas antioksidan terbesar dibandingkan tomat cherry kuning, tomat cherry merah dan buah tomat.⁽¹²⁾ Flavanoid dapat berpengaruh terhadap proses spermatogenesis yang mengakibatkan peningkatan epitel tubulus seminiferus. Flavanoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat menghambat stres oksidatif, mendestruksi radikal bebas dan mempercepat mekanisme perbaikan membran sel yang rusak.⁽¹³⁾

Diameter Tubulus Seminiferus

Berdasarkan hasil analisis data yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan terdapat peningkatan yang signifikan diameter tubulus seminiferus pada kelompok kontrol negatif (K-) yang diberikan paparan timbal dengan kelompok kontrol positif (K+). Jika dilihat dari rerata diameter tubulus seminiferus antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif terdapat penurunan rerata. Hal ini menunjukkan bahwa timbal dapat menurunkan diameter tubulus seminiferus. Timbal dapat berpengaruh pada proses spermatogenesis dan mengurangi sel spermatogenik. Induksi timbal mengakibatkan stres oksidatif pada tingkat testikuler karena meningkatnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) termasuk hidrogen peroksida. Ketika ROS terus terbentuk dan paparan ROS yang terjadi terus menerus memicu mekanisme apoptosis sel germinal.⁽¹⁴⁾

Timbal dapat mempengaruhi proses spermatogenesis disebabkan karena timbal dapat mengganggu mekanisme pre-testikuler dengan melewati sawar darah otak sehingga mengakibatkan kerusakan pada nukleus arkuata di hipotalamus sehingga membuat gangguan aksis hipotalamus-pituitari-testikuler (HPT) yaitu mempengaruhi pulsasi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) sehingga menyebabkan sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) menurun.⁽¹¹⁾

Hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus setelah perlakuan pemberian ekstrak *Solanum betaceum* bahwa diameter tubulus seminiferus berbeda nyata terdapat adanya perbedaan K+ dengan kelompok perlakuan P1 dan P3 ($p < 0.05$). Jika dilihat dari rerata diameter tubulus seminiferus antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 terdapat peningkatan rerata. Hal ini disebabkan pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) mengandung senyawa flavonoid bertindak sebagai prooksidan dan flavanoid merupakan anti inflamasi. Ekstrak etanol terong belanda memiliki aktivitas antioksidan terbesar dibandingkan tomat cherry kuning, tomat cherry merah dan buah tomat.⁽¹¹⁾ Flavanoid dapat berpengaruh terhadap proses spermatogenesis yang mengakibatkan peningkatan epitel tubulus seminiferus. Flavanoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat menghambat stress oksidatif, mendestruksi radikal bebas dan mempercepat mekanisme perbaikan membran sel yang rusak.⁽¹²⁾

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dapat meningkatkan ketebalan epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus pada tikus (*Mus musculus*) yang dipapar timbal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A Unique View on Male Infertility around the Globe. *Reproductive biology and endocrinology*. 2015;13(37): 1-10.
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. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2011;2(1): 27-36.

3. World Health Organization. Lead poisoning and health [internet]. 2019 [cited 2019 Des 3]. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>.
4. I'tishom R, Lubis HS, Sono OP, Lunardhi H. Perubahan Konsentrasi Spermatozoa pada Pria Terpapar Emisi Gas Buang Kendaraan Bermotor di Surabaya Tahun 2007. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*. 2011;1(2): 67-72.
5. Vigh M, Smith D, Ping Chi Hsu. Review article: How does lead induce male infertility?. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 2011; 9(1): 1-8.
6. Ramu S, Jeyendran RS. The Hypo-osmotic Swelling Test for Evaluation of Sperm Membrane Integrity. In: Carrell D., Aston K. (eds) *Spermatogenesis, Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*. Totowa: Humana Press; 2013.
7. Khaerunnisa S. Mekanisme Preventif Ekstrak Etanol Solanum betaceum terhadap Penurunan Memori, Jumlah Sel Neuron dan Glia, NMDAR, BDNF pada Hipokampus Rattus Norvegicus yang Dipapar Asap Rokok. Disertasi. FK Universitas Airlangga; 2018.
8. Khaerunnisa S, Hidayati EB, Susanto J, Setiawati Y, Suhartati. Atheroprotective Effect of Solanum betaceum on Rat Exposed to Cigarette Smoke. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019;11(5): 167-170.
9. Safitri I, Hidayati EB, 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(5): 167-170.
10. Hardiningtyas SD, Sri P, Ekowati H. Aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif daun bakau api-api putih. *JPHPI*. 2014;17(1).
11. Diana AN, I'tishom R, Sudjarwo SA. Nigella sativa Extract Improves Seminiferous Tubule Epithelial Thickness Inlead Acetate-Exposed Balb/C Mice. *Folia Medica Indonesiana*. 2017.53(3): 180-184.
12. Atiqoh, Noor, Maisarah AM, Asmah R. Comparison of antioxidant properties of Tamarillo (*Cyphomandra betacea*), Cherry Tomato (*Solanum lycopersicum var. cerasiform*) and Tomato (*Lyopersicon esculentum*). *International Food Research Journal*. 2014;21(6): 2355-2362.
13. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, and Pessaraki M. Review Article Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. 2012;1(1): 21-26.
14. 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): 677-683.