

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf11nk313>

Potensi Ekstrak *Solanum betaceum* sebagai Agen Protektif Sel Leydig pada Mencit yang Dipapar Timbal Asetat

Anak Agung Istri Dalem Cinthya Riris

Ilmu Kesehatan Reproduksi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; a.a.istri.dalem.cinthy-a-2017@fk.unair.ac.id (koresponden)

Reny I'tishom

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

Siti Khaerunnisa

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

ABSTRACT

Lead exposure as environmental pollution can cause male reproductive problems. Provision of natural antioxidants can be an alternative solution to protect male reproductive function. This research was conducted to investigate the potential of Solanum betaceum extract as a protective agent for Leydig cells in mice exposed to lead acetate. The entire research process with a replication unit of 40 male mice. Mice were divided into five groups with each treatment given orally. The negative control group (K0) only gets aquadest for 35 days, the positive control group (K1) gets aquadest day 1-3, day 4-35 get lead acetate at a dose of 0.075 mg/kg BW/day, the treatment group (P1), (P2), and (P3) only given Solanum betaceum extract at day 1-3 with sequential doses of 100 mg/ kg BW /day, 200 mg/ kg BW /day, and 400 mg/ kg BW /day, then 4-35 days were given Solanum extract betaceum and after 1 hour given lead acetate. The results of this study indicate that there were significant differences between groups with $p < 0.05$. Based on the mean value, administration of Solanum betaceum extract at a dose of 100 mg/ kg BW /day showed the most optimal increase in Leydig cells number.

Keywords: lead; antioxidant; Leydig cells; Solanum betaceum

ABSTRAK

Paparan timbal sebagai polusi lingkungan dapat menimbulkan masalah kesehatan reproduksi pria. Pemberian antioksidan alami menjadi solusi alternatif untuk melindungi fungsi reproduksi pria. Penelitian ini dilakukan untuk menemukan potensi ekstrak *Solanum betaceum* sebagai agen protektif sel Leydig pada mencit yang dipapar timbal asetat. Pelaksanaan seluruh proses penelitian dengan unit replikasi berjumlah 40 ekor mencit jantan. Mencit dibagi dalam lima kelompok dengan setiap perlakuan diberikan secara oral. Kelompok kontrol negatif (K0) hanya mendapatkan aquadest selama 35 hari, kelompok kontrol positif (K1) mendapatkan aquadest hari 1-3, hari 4-35 mendapatkan timbal asetat dengan dosis 0.075 mg/kgBB/hari, kelompok perlakuan (P1), (P2), dan (P3) hanya diberikan ekstrak *Solanum betaceum* pada hari 1-3 dengan dosis secara berurutan 100 mg/kgBB/hari, 200 mg/kgBB/hari, dan 400 mg/kgBB/hari, kemudian hari 4-35 diberikan ekstrak *Solanum betaceum* dan setelah 1 jam diberikan timbal asetat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan nilai $p < 0.05$. Berdasarkan nilai rerata, pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dengan dosis 100 mg/kgBB/hari menunjukkan peningkatan jumlah sel Leydig yang paling optimal.

Kata kunci: timbal; antioksidan; sel Leydig; *Solanum betaceum*

PENDAHULUAN

Polusi lingkungan dapat menimbulkan masalah kesehatan yang serius, terutama permasalahan reproduksi. Kasus infertilitas pria sebesar 40% dan salah satu penyebabnya adalah gangguan fungsi akibat kontaminasi lingkungan.⁽¹⁾ Paparan timbal sebagai salah satu xenobiotik yang berbahaya dapat meningkatkan risiko gangguan fertilitas. Timbal merupakan logam berat yang beracun bagi tubuh baik pada hewan maupun manusia. Sekitar 65% timbal masuk dari paparan timbal pada makanan kemudian beredar dalam tubuh melalui aliran darah.⁽²⁾ Timbal merusak fungsi reproduksi karena dapat menginduksi *reactive oxygen species* (ROS), dan 30-80% kasus menunjukkan ROS berhubungan dengan infertilitas pria.⁽³⁾ Sumber timbal didapatkan dari asap rokok, asap kendaraan bermotor, industri pengecatan, atau panas dari mesin-mesin pabrik dapat meningkatkan konsentrasi timbal dalam tubuh. Produksi ROS yang meningkat akibat akumulasi timbal dalam tubuh menimbulkan keadaan stres oksidatif.

Stres oksidatif mempengaruhi hipotalamus dan timbal juga memiliki efek gonadotoksik yang menekan sekresi *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH).⁽⁴⁾ Kedua hormon ini pada pria berperan penting dalam spermatogenesis dan kemampuan reproduksi. Peran LH yakni dalam menstimulasi sel Leydig untuk proses produksi hormon testosteron dan bila sekresi LH menurun menyebabkan penurunan fungsi sel Leydig. Kondisi stres oksidatif akibat paparan timbal berdampak pada integritas sel, khususnya sel-sel yang

aktif berproliferasi.⁽⁵⁾ Sel Leydig berperan penting dengan aktivitas sel yang sangat aktif dalam proses spermatogenesis, sehingga sangat rentan terhadap kontaminasi timbal. Dampak berikutnya sel Leydig mengalami gangguan dalam produksi testosteron sehingga proses spermatogenesis juga terganggu.⁽⁶⁾ Sementara itu, toksisitas timbal juga dapat menginduksi apoptosis sel Leydig sehingga menurunkan jumlah sel Leydig dan mengganggu proses steroidogenesis dan spermatogenesis.

Homeostasis tubuh dalam menetralisir ROS yang diakibatkan oleh paparan timbal sehingga tidak terjadi kerusakan sel adalah dengan pertahanan antioksidan endogen. Namun pada kondisi kadar timbal yang melebihi kapasitas pertahanan antioksidan endogen, maka diperlukan suplementasi antioksidan. Masyarakat saat ini pada umumnya memilih antioksidan eksogen alami.⁽⁷⁾ Sumber antioksidan eksogen alami dapat berasal dari sayur maupun buah. *Solanum betaceum* atau Tamarillo, di Indonesia dikenal dengan buah terong belanda. Buah ini mudah ditemukan dan terjangkau bagi masyarakat umum.⁽⁸⁾ Terong belanda menjadi salah satu antioksidan alami yang potensial untuk melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif.

Metabolit sekunder tanaman seperti polyphenol dan antosianin juga dikenal sebagai antioksidan. *Solanum betaceum* memiliki kandungan antosianin yang tinggi dan diyakini memiliki aktivitas antioksidan yang baik untuk menangkal radikal bebas dan mempertahankan integritas sel. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dapat menjadi neuroprotektif dan atheroprotektif.⁽⁹⁾ Sel Leydig dalam jaringan testis berada di interstisial tubulus seminiferus yang rentan mengalami kerusakan sel akibat stres oksidatif.⁽¹⁰⁾ Kandungan antosianin dalam ekstrak terong belanda diharapkan mampu melindungi sel Leydig dari kerusakan akibat akumulasi ROS yang ditimbulkan oleh kontaminasi timbal. Saat ini belum ada penelitian yang membahas pemberian ekstrak *Solanum betaceum* untuk melindungi jaringan testis, terutama sel Leydig. Hal itu menjadi dasar bahwa penelitian ini bertujuan untuk menemukan manfaat pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dalam melindungi sel Leydig mencit yang dipapar timbal asetat.

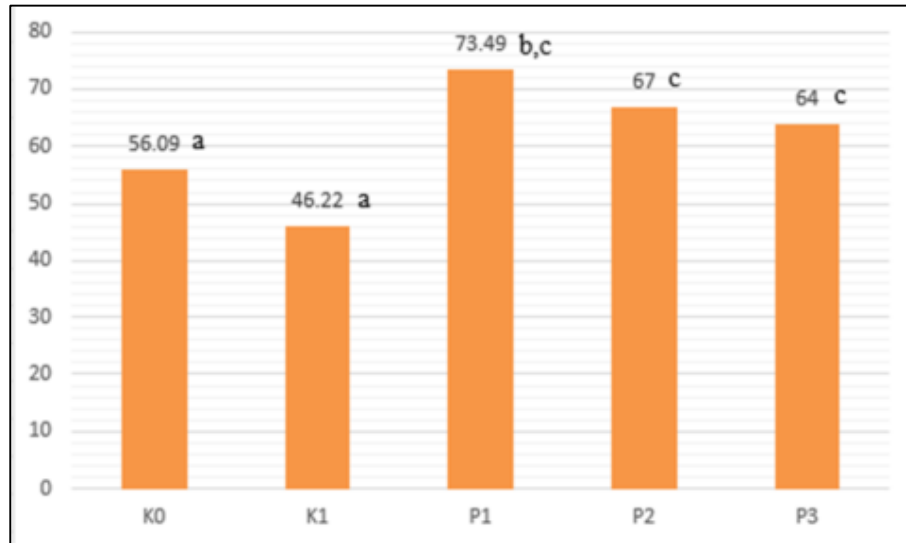
METODE

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental murni dengan desain *posttest only* dan *sampling* secara acak sederhana. Unit replikasi dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) strain Balb-c usia 12-16 minggu dengan berat 25-30 gram sebanyak 40 ekor. Mencit yang sakit atau mati dalam masa penelitian menjadi kriteria eksklusi dalam penelitian ini. Mencit dibagi menjadi lima kelompok dengan setiap kelompok terdiri dari 8 ekor mencit. Mencit mendapatkan makan dan minum secara *ad libitum* serta penerangan yang cukup. Kelompok kontrol negatif (K0) hanya diberikan aquadest selama 35 hari, kelompok kontrol positif (K1) mendapatkan aquadest pada hari 1-3, kemudian hari 4-35 diberikan timbal asetat dengan dosis 0.075 mg/kgBB. Pada kelompok yang diberikan intervensi ekstrak terong belanda dalam berbagai dosis, yaitu P1, P2, dan P3. Kelompok P1 diberikan ekstrak *Solanum betaceum* dengan dosis 100 mg/kgBB, kelompok P2 diberikan ekstrak *Solanum betaceum* dengan dosis 200 mg/kgBB, dan kelompok P3 diberikan ekstrak *Solanum betaceum* dengan dosis 400 mg/kgBB pada hari 1-3, kemudian pada hari 4-35 diberikan ekstrak *Solanum betaceum* dan setelah satu jam diberikan timbal asetat 0.075 mg/kgBB. Pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dan timbal asetat seluruhnya secara oral pada waktu pagi hari dengan menggunakan sonde. Hari ke-36 setiap mencit dikorbankan, selanjutnya dibedah dan dibuat preparat histologi testis untuk diamati jumlah sel Leydig. Pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*.

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan *One-way ANOVA* dan untuk menentukan dosis yang optimal dilanjutkan dengan *LSD post-hoc test* dengan tingkat kepercayaan 95%. Pelaksanaan penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan telah mendapatkan sertifikat kelaikan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

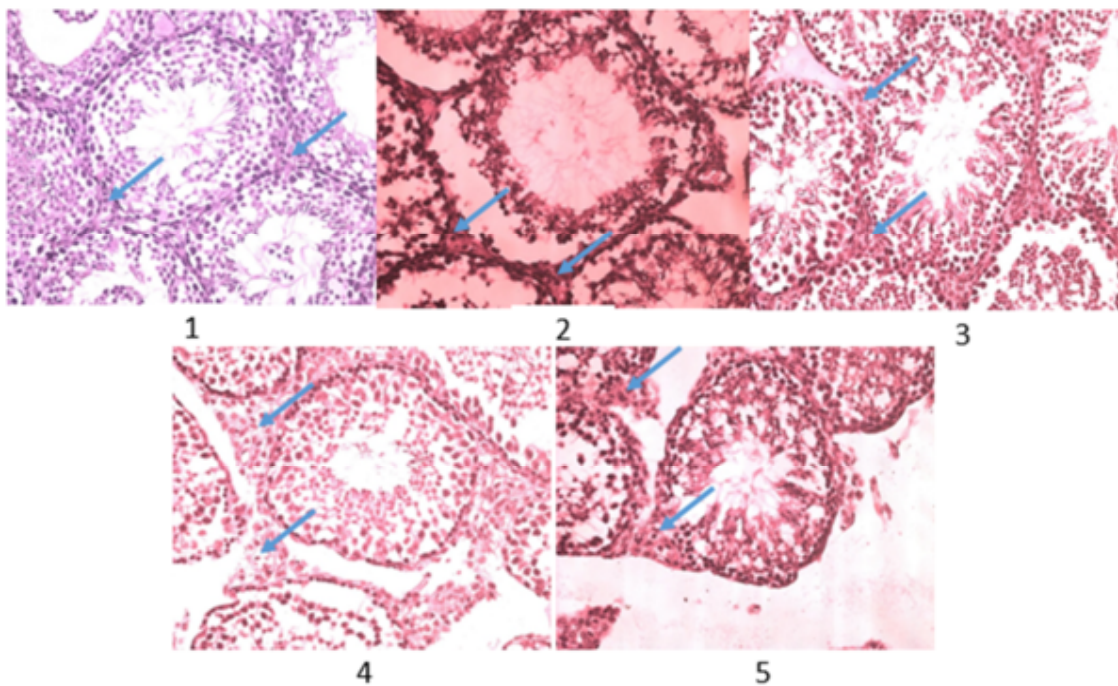
HASIL

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan jumlah rerata sel Leydig pada kelompok yang diberikan timbal asetat. Peningkatan jumlah sel Leydig terjadi pada seluruh kelompok yang mendapatkan pemberian ekstrak *Solanum betaceum* seperti yang disajikan pada Gambar 1. Pada Gambar 1 dapat diketahui bahwa rerata jumlah sel Leydig terlihat paling tinggi dalam kelompok P1 dan terendah kelompok K1. Hasil uji statistik juga menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak terong belanda menunjukkan peningkatan sel Leydig dibandingkan kelompok yang hanya mendapatkan paparan timbal asetat. Perbedaan tersebut ditunjukkan menggunakan notasi abjad yang berbeda yakni kelompok kontrol memiliki jumlah sel Leydig lebih rendah daripada kelompok yang diberikan ekstrak terong belanda. Diagram tersebut juga menunjukkan bahwa pemberian timbal asetat dapat menurunkan jumlah sel Leydig. Pemberian dosis ekstrak *Solanum betaceum* dengan berbagai jenis memberikan pengaruh yang berbeda pada masing-masing kelompok perlakuan.



Gambar 1. Rerata jumlah sel Leydig

Berdasarkan hasil preparat histologi sel Leydig setiap kelompok yang telah dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop Olympus BX 41 pembesaran 400x dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Preparat histologi sel Leydig K0 (1), K1 (2), P1 (3), P2 (4), dan P3 (5)

Hasi preparat histologi seperti ditunjukkan pada Gambar 2 bahwa kelompok mencit yang diberikan timbal asetat memiliki rongga yang lebih lebar dan tidak beraturan pada tubulus seminiferus. Kelompok yang mendapatkan ekstrak *Solanum betaceum* memiliki bentuk tubulus seminiferus yang rapi, padat, dan menyerupai kontrol normal serta pengamatan sel Leydig lebih mudah dilakukan.

Analisis data jumlah sel Leydig menggunakan uji *One-way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penentuan perbedaan dosis pada setiap kelompok dilakukan dengan uji *LSD post-hoc* atau uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji BNT

menunjukkan bahwa kelompok perlakuan P1 dengan dosis ekstrak terong belanda 100 mg/kgBB sudah dapat meningkatkan jumlah sel Leydig mencit jantan yang dipapar timbal asetat.

PEMBAHASAN

Sel Leydig termasuk jenis sel yang sensitif terhadap pengaruh senyawa kimia toksik dan radikal bebas. Kerusakan sel Leydig yang diakibatkan oleh timbal berkaitan dengan reaksi timbal sebagai senyawa toksik yang memicu radikal bebas⁽¹¹⁾ Radikal bebas yang terus-menerus dipaparkan ke dalam tubuh akan menimbulkan keadaan stres oksidatif. Paparan timbal dalam dosis tinggi secara langsung dapat memengaruhi aksis hormonal reproduksi sehingga memberikan efek toksisitas langsung pada tubulus seminiferus dalam testis.⁽¹²⁾ Penurunan sel Leydig juga mengindikasikan bahwa toksisitas akibat paparan timbal asetat dapat berdampak langsung baik melalui jalur aksis hormonal maupun testikuler.

Pemberian timbal asetat menginduksi terjadinya sitotoksitas dalam testis sehingga memengaruhi fungsi reproduksi.⁽¹³⁾ Beberapa penelitian lainnya juga menemukan bahwa paparan timbal asetat secara oral berdampak pada perubahan histologi.⁽¹⁴⁾ Perubahan tampak pada pengamatan mikroskop yaitu tubulus seminiferus yang mengerut dengan pinggiran yang bergelombang, penebalan membran basalis dengan hyalinisasi, dan abnormalitas pada sel Leydig. Logam berat seperti timbal menjadi bahaya toksik yang memberikan dampak buruk pada biosintesis steroid.⁽¹⁵⁾ Mekanisme sitotoksik akibat paparan timbal asetat diketahui merusak mitokondria sel Leydig sehingga meningkatkan apoptosis dan penurunan jumlah sel Leydig akibat rusaknya fungsi mitokondria sel. Kerusakan seluler yang ditimbulkan hingga mengganggu komunikasi antar sel dan menurunkan jumlah sel Leydig hingga kehilangan fungsi steroidogenesis.⁽¹⁶⁾ Penelitian lain yang mendukung juga menyatakan bahwa substansi xenobiotik seperti paparan timbal asetat memberikan dampak buruk pada sel Leydig dan memengaruhi fungsi testikuler.⁽¹⁷⁾

Solanum betaceum atau terong belanda memiliki kandungan antioksidan yang mampu menghambat reaksi peroksidasi lipid yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Mekanisme terong belanda sebagai antioksidan telah diketahui dalam penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kandungan flavonoidnya mampu menjadi *radical scavenger*.⁽¹⁸⁾ Mekanisme ini menunjukkan bahwa antioksidan dalam *Solanum betaceum* sebagai antioksidan eksogen sehingga tidak terjadi stress oksidatif.⁽¹⁹⁾ Hal tersebut dapat dilihat dari hasil penelitian ini yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan yang diberikan *Solanum betaceum* dan juga dipapar timbal asetat. Pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dalam penelitian ini diberikan dalam tiga variasi dosis yaitu 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Solanum betaceum* pada dosis 100 mg/kgBB sebagai dosis optimal. Pada dosis ini jumlah sel Leydig lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif maupun positif secara bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pada dosis 100 mg/kgBB memberikan dampak positif sebagai penangkal radikal bebas dan dapat menjaga ketahanan sel Leydig. Sementara itu, pada pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dosis 200 mg/kgBB menunjukkan terjadinya penurunan sel Leydig meskipun tidak signifikan. Fakta berikutnya adalah pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dosis 400 mg/kgBB menunjukkan penurunan jumlah sel Leydig bila dibandingkan dengan dosis 200 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa dosis yang lebih tinggi tidak menjamin jumlah sel Leydig menjadi lebih baik.⁽²⁰⁾

Penelitian mengenai berbagai jenis dosis antioksidan juga menunjukkan bahwa ada hubungan yang berbanding terbalik antara aktivitas antioksidan dan konsentrasi antioksidan.⁽²¹⁾ Semakin besar konsentrasi antioksidan mengakibatkan aktivitas antioksidan semakin kecil.⁽²²⁾ Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Semakin tinggi konsentrasi antioksidan semakin padat molekul sehingga elektron dari antioksidan tersebut menjadi tidak dapat bereaksi dengan radikal bebas. Laju oksidasi dapat dipengaruhi oleh bertambahnya besar konsentrasi antioksidan. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa pemberian konsentrasi antioksidan dengan konsentrasi yang tinggi dapat menjadi prooksidan.⁽²³⁾

Antioksidan menjadi efektif sebagai upaya protektif bila diberikan pada sasaran, waktu, dan durasi yang tepat. Hal ini juga dinyatakan beberapa bukti yang menemukan bahwa mekanisme antioksidan dalam menyeimbangkan radikal bebas dipengaruhi oleh suplementasi antioksidan yang tepat. Pemberian antioksidan dapat mengganggu komunikasi seluler dan meningkatkan risiko terjadinya penyakit bila kadar antioksidan dalam tubuh terlalu tinggi dan ROS dalam tubuh terlalu rendah. Pada kondisi tertentu seperti paparan timbal asetat dapat meningkatkan ROS dalam tubuh sehingga memerlukan tambahan antioksidan eksogen. Peran antioksidan eksogen adalah mendukung peran antioksidan endogen dalam mencegah terjadinya stres oksidatif sehingga ketahanan sel akan tetap terjaga dengan baik. Pemberian ekstrak terong belanda dapat menyeimbangkan kadar ROS dan antioksidan karena kandungan antosianin yang tinggi. Hal ini menunjukkan ekstrak terong belanda sebagai antioksidan eksogen, khususnya berperan dalam memutus rantai radikal bebas sehingga menjaga ketahanan dan fungsi sel Leydig. Viabilitas sel Leydig yang dipapar timbal asetat meningkat dan terlindungi oleh mekanisme antioksidan dalam ekstrak terong belanda.

KESIMPULAN

Kesimpulan dalam penelitian ini menemukan bahwa pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) berpotensi sebagai agen protektif sel Leydig mencit yang dipapar timbal asetat. Pemberian ekstrak *Solanum betaceum* memengaruhi ketahanan sel Leydig mencit yang dipapar timbal asetat. Dosis yang dapat meningkatkan jumlah sel Leydig paling tinggi dari tiga varian dosis yang diberikan adalah pemberian ekstrak *Solanum betaceum* dosis 100 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wagner H, Cheng JW, Ko EY. Role of reactive oxygen species in male infertility: an updated review of literature. Arab J Urol [Internet]. 2018;16(1):35–43.
2. Agustina T, Teknik F. Kontaminasi logam berat pada makanan dan dampaknya pada kesehatan. 2014;1(1):53–65.
3. Li C, Zhao K, Zhang H, Liu L, Xiong F, Wang K, et al. Lead exposure reduces sperm quality and DNA integrity in mice. 2018;(September 2017):594–602.
4. Asadi N, Bahmani M, Kheradmand A, Rafieian-kopaei M. The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it : a review. J Clin Diagnostic Res. 2017;11(5):1–5.
5. Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Giwercman A, Kopa Z, Krausz C, et al. Male Infertility. 2015;
6. Diana AN, Reny I, Sudjarwo SA. Nigella sativa extract improves seminiferous tubule epithelial thickness in lead acetate-exposed balb/c mice. 2017;53(3):180–4.
7. Selvaratnam JS, Robaire B. Effects of aging and oxidative stress on spermatozoa of superoxide-dismutase 1- and catalase-null mice 1. Biol Reprod. 2016;95(3):1–13.
8. Lahdji A, Novitasari A. The effect of purple eggplant extract (*solanum melongena* l) on the motility of spermatozoa. Proceeding Int Semin Occup Heal Med Sci 2017 “Traveler Int Work Dis Updat. 2017;2017:155–8.
9. Masbintoro A, Agustini SM, Djauhari T. Pengaruh ekstrak buah terong belanda (*Solanum betaceum*) sebagai antioksidan terhadap kadar malondialdehid pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi CCL4. J Univ Muhammadiyah Malang. 2016;12(1):38–42.
10. Smith L, O’Shaughnessy PJ, Rebourcet D. Cell-specific ablation in the testis: what have we learned? Andrologia. 2015;2015(3):1035–49.
11. Wulandari E, R RI, Sudjarwo SA. The potency of *Hylocereus polyrhizus* peel extract as protector on lead acetate-induced testicular toxicity in mice. 2019;96(September):49–51.
12. Martin LUCJ. Cell interactions and genetic regulation that contribute to testicular leydig cell development and differentiation. Mol Reprod Dev. 2016;2016(83):470–87.
13. Zhou R, Wu J, Liu B, Jiang Y, Chen W, Li J, et al. The roles and mechanisms of Leydig cells and myoid cells in regulating spermatogenesis. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2019;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03101-9>
14. Riaz M, Mahmood Z, Shahid M, Saeed MUQ, Tahir IM, Shah SMA, et al. Impact of reactive oxygen species on antioxidant capacity of male reproductive system. Int J Immunopathol Pharmacol. 2016;29(3):421–5.
15. Ye L, Li X, Li L, Chen H, Ge R. Insights into the development of the adult leydig cell lineage from stem leydig cells. 2017;8(June):1–18.
16. Jenardhanan P, Panneerselvam M, Mathur PP. Effect of environmental contaminants on spermatogenesis. Semin Cell Dev Biol [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.03.024>
17. Rebourcet D, Shaughnessy PJO, Monteiro A, Milne L, Cruickshanks L, Jeffrey N, et al. Sertoli cells maintain leydig cell number and peritubular myoid cell activity in the adult mouse testis. 2014;9(8):1–13.
18. Khaerunnisa S, Kusumastuti K, Mustika A, Aminah NS, Suhartati S. Mechanism of *solanum betaceum* to prevent memory impairment in cigarette smoke-exposed rat. 2019;11(3).
19. Safitri I, Hidayati HB, Turchan A, Khaerunnisa S. *Solanum betaceum* improves cognitive function by decreasing n-methyl-d-aspartate on Alzheimer rats model Research Article. 2019;11(5):3–6.
20. Fastawa R, Nahariah, Maharuddin F. Optimasi antioksidan dengan lama fermentasi yang berbeda pada telur infertil sisa penetasan. JITP. 2016;5(1):58–65.
21. Hassan SHA, Bakar MFA. Antioxidative and anticholinesterase activity of *Cyphomandra betacea* fruit. Sci World J. 2013;2013:1–8.
22. Al-omary HL, Alawad ZM, Jaafar IF. Environmental lead exposure and male infertility. J Dent Med Sci. 2018;15(9):49–54.
23. Orororo OC, Asagba SO, Tonukari NJ, Okandeji OJ, Mbanugo JJ. Hibiscus Sabdariffa L . Anthocyanins-induced changes in reproductive hormones of cadmium-exposed rats. Int J Sci Res Publ. 2018;8(4):308–11.