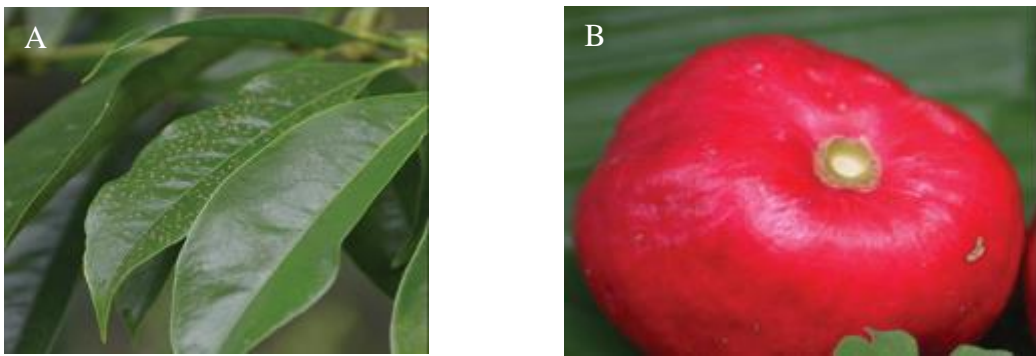


BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Mahkota Dewa

Tanaman mahkota dewa atau *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl merupakan tanaman asli Papua, Indonesia yang termasuk dalam famili Thymelaceae (Altaf *et al.*, 2013). Selain dengan nama mahkota dewa, tanaman ini juga dikenal dengan nama *God's Crown*, simalakama, makutadewa, makuto rajo, makuto ratu, dan makuto mewo (Nur *et al.*, 2014).



Gambar 1. Tanaman Mahkota Dewa. Daun tanaman mahkota dewa (A), Buah mahkota dewa matang (B) (Altaf *et al.*, 2013)

Tanaman ini termasuk dalam tanaman perdu yang tumbuh subur pada ketinggian 10-1.200 meter di atas permukaan laut (Altaf *et al.*, 2013; Soeksmanto *et al.* 2007). Pohon mahkota dewa merupakan pohon yang lengkap, karena memiliki batang, daun, bunga, dan buah. Tinggi pohon mahkota dewa berkisar 1-18 meter dengan batang berwarna coklat dan kayu berwarna putih. Umur produktif dari tanaman ini sekitar 10-20 tahun (Altaf *et al.*, 2013). Buah mahkota dewa memiliki warna hijau sebelum matang dan berwarna merah penuh saat matang seperti pada Gambar 1B (Parhizkar *et al.*, 2013). Daun mahkota dewa berwarna hijau dan meruncing dengan panjang sekitar 7-10 cm dan lebar 3-5 cm seperti pada Gambar 1A (Altaf *et al.*, 2013).

2.1.2 Kandungan Mahkota Dewa

Buah dan biji mahkota dewa memiliki berbagai macam aktivitas biologis yang penting dalam bentuk ekstrak seperti aktifitas antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan (Alara *et al.*, 2016). Buah mahkota dewa memiliki kadar flavonoid paling banyak, disamping senyawa-senyawa lain yang memiliki potensi

antioksidan seperti saponin, tanin, alkaloid, dan phalerin (Soeksmanto *et al.*, 2007; Sulistyoningrum *et al.*, 2012). Senyawa-senyawa tersebut merupakan metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya memiliki bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan (Aksara *et al.*, 2013). Beberapa manfaat kandungan pada buah mahkota dewa antara lain :

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau. Pada mahkota dewa, flavonoid dapat ditemui di batang, daun, bunga, dan buah. Jenis flavonoid yang ditemui pada buah mahkota dewa antara lain apigenin, kaempferol, quercetin, myricetin, isorhamnetin, catechin, hesperitin, dan naringenin. Flavonoid tersusun dari dua cincin aromatis yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga dengan susunan C₆-C₃-C₈ (Rohyami, 2008). Peran flavonoid sebagai antioksidan adalah pada penetralisir radikal bebas melalui reaksi oksidasi (Nugroho *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki 3 cara untuk memerankan antioksidan (1) supresi pembentukan ROS dengan cara inhibisi enzim yang terlibat pada pembentukan ROS; (2) mendeteksi ROS; (3) peningkatan proteksi antioksidan (Kumar & Pandey, 2013).

b. Saponin

Saponin merupakan steroid atau glikosida tripenoid yang biasa diproduksi oleh tumbuhan. Hidrolisis dari saponin menghasilkan senyawa glikon dan aglikon. Menurut struktur dari aglikon, saponin dibedakan menjadi tipe netral dan asam. Derivat dari saponin netral adalah steroid dengan memiliki sisi cincin spiroketal yang biasa terdapat pada tumbuhan monokotil, sedangkan derivat dari saponin asam adalah tripenoid yang umumnya terdapat pada tumbuhan dikotil. Derivat dari senyawa glikon adalah glukosa, arabinosa, dan asam glukoronat (Desai *et al.*, 2009).

Kandungan saponin pada buah mahkota dewa memiliki berbagai manfaat, salah satunya adalah potensi saponin untuk meningkatkan kadar testosteron. Peningkatan konsentrasi sperma memiliki perbandingan lurus dengan tingginya kadar testosteron pada jaringan testiskular. Fungsi lain dari testosteron adalah sebagai hormon utama yang memiliki tugas dalam spermatogenesis dan spermiogenesis pada tubulus seminiferus (Parhizkar *et al.*, 2014).

c. Alkaloid

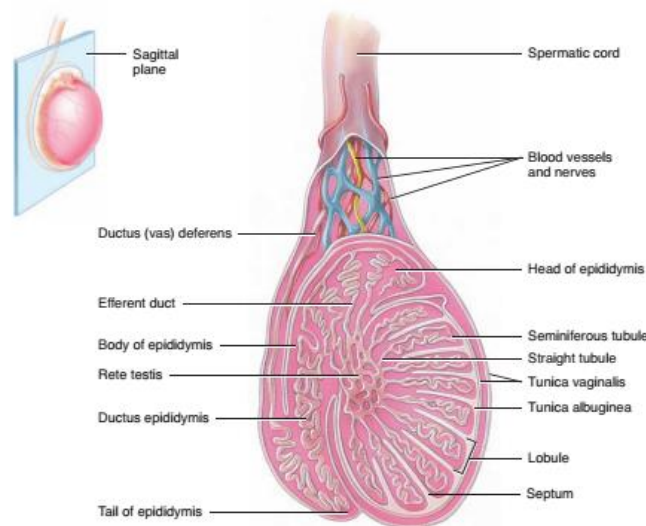
Alkaloid merupakan senyawa dengan struktur berbentuk cincin dan terdapat atom nitrogen. Umumnya, atom nitrogen terletak di dalam struktur heterosiklik pada cincin (Lu *et al.*, 2012). Senyawa alkaloid dapat diidentifikasi dan diisolasi melalui fraksinasi untuk memisahkan dengan senyawa aktif lain. Kandungan alkaloid total pada mahkota dewa yang ditetapkan dengan metode spektroskopi UV-Vis adalah sekitar 0,0037% (Okzelia, 2017).

Walaupun pada mahkota dewa diketahui bahwa alkaloid memiliki manfaat untuk detoksifikasi racun dalam tubuh, senyawa aktif ini dilaporkan memiliki sifat toksik pada larva *Artemia salina* Leach (Astutiningsih *et al.*, 2012). Astutiningsih *et al.* (2012) melaporkan bahwa senyawa alkaloid pada buah mahkota dewa memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ sebesar 33,8932 µg/ml dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.1.3 Testis

Testis merupakan salah satu alat reproduksi jantan yang terletak di bagian bawah penis dan berlokasi di dalam skrotum. Testis berjumlah dua buah dan berbentuk oval. Kedua testis ini terbungkus oleh skrotum (Varghese *et al.*, 2014). Testis orang dewasa memiliki panjang 40-50 mm, lebar 25 mm, tinggi 30 mm, dan berat 16-20 gram (Gartner & Hiatt, 2007). Testis ini memiliki peran dalam spermatogenesis (produksi spermatozoa), sekresi hormon (testosteron), dan protein seperti inhibin, protein pengikat androgen, dan transferin testis (Jiménez-Reina & Maartens, 2016).

Struktur testis dilapisi oleh lapisan yang disebut sebagai *tunica vaginalis* dan *tunica albuginea*. *Tunica albuginea* merupakan jaringan ikat padat dan akan menebal ke bagian posterior testis dan membentuk lobulus testis. Lobulus testis akan ditempati satu sampai tiga tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat yang diisi dengan pembuluh darah, limfe, dan sel interstisial (Sel Leydig) seperti terlihat pada Gambar 2. Fungsi dari tubulus seminiferus adalah sebagai tempat menghasilkan sel spermatozoa, sedangkan sel interstisial menyekresikan hormon androgen (Mescher, 2013).



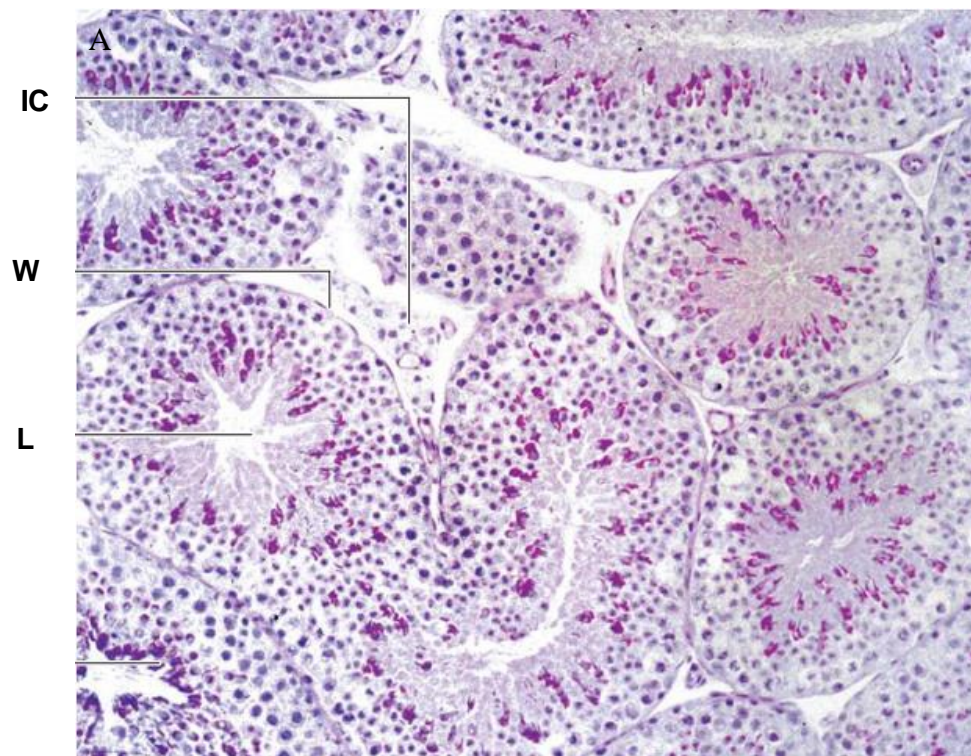
Gambar 2. Struktur Anatomis Testis (Tortora & Derrickson., 2012)

Secara histologis testis terdiri dari tubulus seminiferus dan sel interstisial. Tubulus seminiferus menghasilkan sekitar 2×10^8 sperma tiap harinya pada orang dewasa. Pada tiap lobulus testis, terdapat 250 sampai 1.000 tubulus seminiferus dengan tiap tubulus memiliki diameter 150 sampai 250 μm dan panjang 30 sampai 70 mm (Mescher, 2013). Epitel spermatogenik pada tubulus seminiferus terdiri dari 2 tipe sel, sel sertoli yang berfungsi sebagai pendukung dalam berkembangnya sperma dan sel germinal yang dapat membelah dan berdiferensiasi menjadi spermatozoa (spermatogenesis) (Cheng & Mruk, 2015).

Spermatogenesis yang terjadi pada epitel tubulus seminiferus tidak lepas dari peran *blood testis barrier* (BTB). BTB atau bisa disebut *Sertoli cell seminiferous epithelium barrier* merupakan suatu “benteng” yang terletak pada epitel tubulus seminiferus. Benteng ini terbentuk dari beberapa tautan yang ada pada sel sertoli yang saling berdampingan, antara lain adalah *gap junction*, *tight junction*, *desmosome*, dan *basal ectoplasmic specialization* (Cheng & Mruk, 2015). BTB membagi tubulus seminiferus menjadi dua bagian, yaitu bagian basal dan apikal (Su *et al.*, 2011). Bagian basal tubulus seminiferus terjadi proses diferensiasi dan miosis spermatogonium, sedangkan pada bagian apikal (adluminal) terjadi meiosis I, meiosis II, dan spermiogenesis (Cheng & Mruk, 2012).

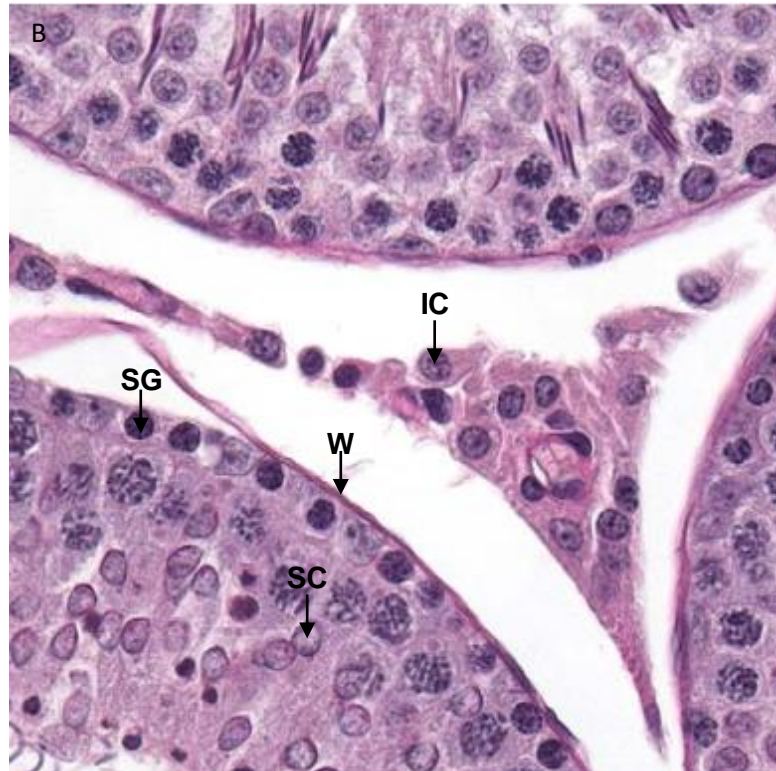
Fungsi dari BTB mirip dengan *blood brain barrier* (BBB) maupun *blood retina barrier* (BRB), antara lain adalah sebagai “*Fence and Gate Keeper*” dan dinding pertahanan imunologis. “*Fence and Gate Keeper*” adalah fungsi utama dari

BTB di mana akan ada pembatasan dan seleksi masuknya senyawa-senyawa seperti nutrisi, hormon, senyawa toksik dari sel sertoli ke kompartemen bagian apikal (Chen & Mruk, 2012). Obat yang terdistribusi ke dalam tubulus seminiferus mengalami proses seleksi dibantu dengan adanya pengangkut obat dalam bentuk pompa *efflux* dan *influx* pada sel sertoli. Pengangkut obat inilah yang menentukan obat mana yang memiliki akses pada sel germinal yang sedang berkembang. BTB juga membentuk pertahanan imunologis dengan cara menghalangi terbentuknya antibodi anti-sperma yang ada di peredaran darah sistemik karena terdapat kemungkinan munculnya antigen pada saat proses spermiogenesis (Su *et al.*, 2011).



Gambar 3. Struktur Histologis Testis Secara Umum (Kierszenbaum & Tres, 2012)

Keterangan : dinding tubulus seminiferus (W), sel interstisial atau sel leydig (IC), lumen (L)



Gambar 4. Struktur Histologis Sel Interstitial. Struktur diamati pada perbesaran 400x dengan pewarnaan Hematoksilin (HE) (Tortora & Derrickson, 2012)
 Keterangan : spermatogonium (SG), spermatosit (SC), dinding tubulus seminiferus (W), sel interstitial atau sel leydig (IC)

Peran tubulus seminiferus sebagai tempat spermatogenesis tidak lepas dari fungsi sel interstitial atau bisa disebut Sel Leydig. Sel Leydig memiliki bentuk bundar besar dengan letak inti sel di tengah dan sitoplasma eosinofilik yang kaya akan titik-titik lemak kecil (Mescher, 2013). Letak Sel Leydig berada diantara tubulus seminiferus (Tortora & Derrickson, 2012). Sel ini memproduksi dan mensekresi salah satu hormon steroid (steroidogenesis), yaitu testosteron (D’Cruz, 2010). Produksi hormon ini dimulai ketika awal masa pubertas. Hormon ini bertanggung jawab dalam perkembangan karakter (ciri sekunder) maskulin pada individu (Mescher, 2013).

2.1.4 Efek Tanaman Herbal Terhadap Testis

Obat yang dikonsumsi manusia akan mengalami serangkaian proses farmakokinetik untuk sampai pada organ target yang diinginkan. Proses farmakokinetik terdiri dari absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Caterina *et al.*, 2013). Proses absorpsi umumnya terjadi pada saluran cerna. Beberapa faktor dapat mempengaruhi absorpsi, seperti pH dan bentuk sediaan obat (Caterina *et al.*,

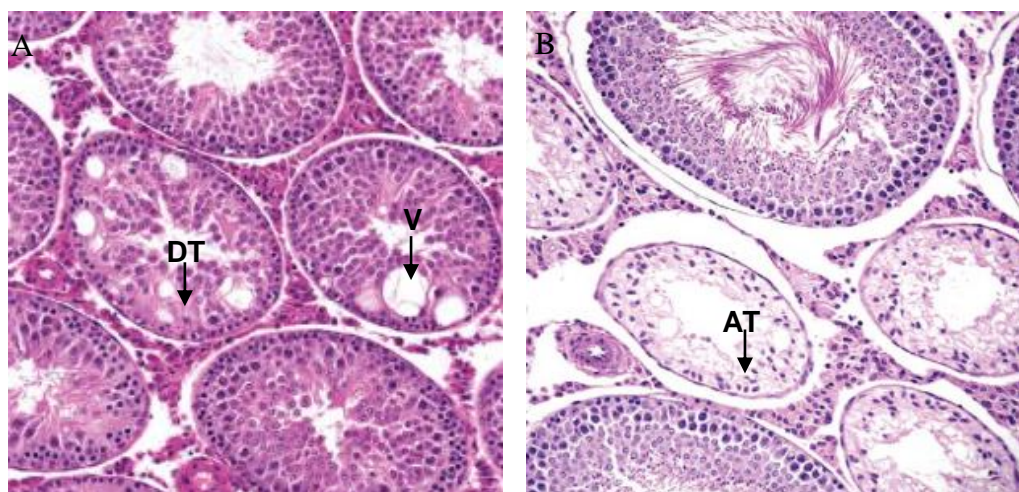
2013). Obat yang diberikan secara oral, sebagian besar akan diabsorpsi pada usus melalui proses difusi menuju pembuluh darah (Katzung, 2012). Obat yang masuk dalam pembuluh darah terbagi menjadi dalam 2 bentuk, bentuk larut bebas dalam plasma dan bentuk terikat oleh protein darah (albumin) (Brunton *et al.*, 2008) Pada distribusi awal, obat akan dibawa ke hati dan mengalami metabolisme sebelum mencapai sirkulasi sistemik. Setelah mengalami metabolisme, maka sebagian obat akan didistribusikan secara sistemik untuk menuju ke organ target sedangkan sisanya akan dieksresikan melalui ginjal (Katzung, 2012).

Beberapa tanaman herbal dilaporkan dapat berperan untuk mendorong maupun menghalangi dari fungsi testis dalam spermatogenesis dan steroidogenesis. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Parhizkar *et al.* (2013), pemberian ekstrak air mahkota dewa pada tikus selama 7 hari dengan dosis 240 mg/kg berdampak pada bertambahnya ketebalan tubulus seminiferus yang bermakna dan jumlah spermatogonium yang meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Bertambahnya ketebalan tubulus seminiferus salah satunya diakibatkan peran dari hormon testosteron yang meningkat (Parhizkar *et al.*, 2013). Flavonoid yang merupakan kadar tertinggi pada buah mahkota dewa memiliki efek peningkatan spermatogenesis pada tikus diabetik secara bermakna (Sulistyoningrum *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian Shafe *et al.* (2016), pemberian ekstrak metanol buah alpukat secara oral dengan dosis 150 mg/kg pada tikus wistar selama 56 hari memberikan efek berupa peningkatan jumlah sperma dan kadar testosteron.

Walaupun terdapat laporan bahwa olahan tanaman herbal bermanfaat untuk sistem reproduksi, juga perlu diketahui bahwa alat reproduksi laki-laki sangat sensitif terhadap berbagai faktor kondisi, seperti makanan dan obat-batan. Pemberian ekstrak *Cannabis* dosis 40-80 mg secara injeksi intraperitoneal pada tikus albino dewasa dilaporkan berdampak pada mengkerutnya tubulus seminiferus, berkurangnya sitoplasma dan mengkerutnya inti sel pada sel germinal, serta tidak adanya spermatogenesis (Mandal & Das, 2009). Pemberian ekstrak alkohol *Momordica charantia* pada tikus albino dengan dosis 25 mg per 100 gram berat tikus selama 35 hari dilaporkan menyebabkan berkurangnya jumlah spermatisit dan spermatid (D'Cruz *et al.*, 2010).

Menurut D'Cruz *et al.* (2010), salah satu jenis alkaloid, piperin, yang didapat dari ekstrak buah lada hitam menunjukkan adanya dampak jejas pada sel germinal dan tubulus seminiferus ketika diberikan secara oral selama 30 hari pada dosis 100 mg. Hal ini dijelaskan dengan menurunnya kadar enzim antioksidan dan meningkatkan peroksidasi lipid pada testis dan epididimis. Alkaloid yang ditemukan pada tanaman *Chromolaena odoratum* memberikan efek bermakna dalam menekan kadar testosteron pada testis dan serum (Kuete, 2014).

2.1.5 Efek Senyawa Toksik pada Testis



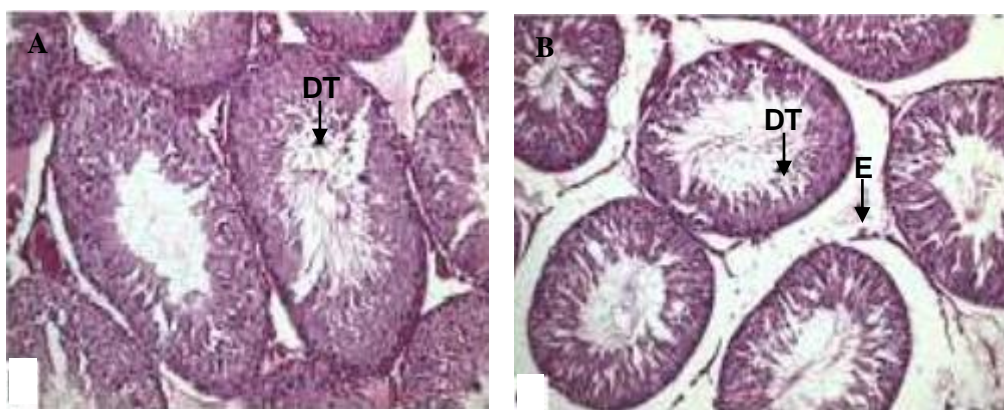
Gambar 5. Efek Toksik pada Gambaran Histologi Testis. Gambaran degenerasi tubulus (A), Gambaran atrofi tubulus (B) (Creasy *et al.*, 2012)

Keterangan : degenerasi tubulus (DT), vakuolisasi (V), atrofi tubulus (AT)

Menurut Creasy *et al.*(2012), penilaian secara histologis pada testis merupakan bagian penting dalam penilaian keamanan pada penggunaan obat-obatan yang memiliki kemungkinan memberikan efek toksik. Manifestasi klinis efek toksik pada testis antara lain adalah ditemukan degenerasi tubulus dan atrofi tubulus seperti pada Gambar 4A dan 4B. Degenerasi tubulus terlihat berawal dari adanya jejas pada Sel Sertoli, sel germinal, gangguan hormonal, atau terdapat gangguan vaskularisasi. Atrofi tubulus adalah lesi tingkat akhir yang ditandai dengan tidak ditemukannya sel germinal pada tubulus, sehingga tubulus hanya disusun oleh Sel Sertoli. Hal ini disebabkan karena proses degenerasi yang progresif dan fagositosis pada sel germinal. Atrofi tubulus seminiferous dan berkurangnya sel spermatogenik merupakan salah satu indikator morfologis dari kegagalan spermatogenesis (Guneli *et al.*, 2008). Berkurangnya sel germinal pada testis mengakibatkan menurunnya spermatogenesis atau bahkan tidak ada

spermatogenesis, maka keadaan ini dapat berdampak pada berkurangnya diameter tubulus seminiferus. Dapat disimpulkan bahwa produksi spermatozoa berpengaruh pada ukuran diameter tubulus seminiferus (Nurkarimah *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian Apaydin *et al.* (2015), pemberian timah nitrat dengan dosis 22,5 mg/kgBB dengan cara oral selama 4 minggu pada tikus wistar jantan model diabetik dan non diabetik menunjukkan terdapat perubahan degeneratif dan nekrosis beberapa tubulus seminiferus serta adanya edema pada Sel Leydig terlihat seperti pada Gambar 6A dan 6B. Gambaran ini ditemukan pada kelompok diabetik dan non diabetik dengan pemberian timah nitrat.



Gambar 6. Efek Toksik pada Gambaran Histologi Testis yang Diinduksi Timah Nitrat. Tampak gambaran degenerasi tubulus seminiferus (A), gambaran edema Sel Leydig (B) (Apaydin *et al.*, 2015)

Keterangan : Degenerasi tubulus seminiferus (DT), edema Sel Leydig (E)

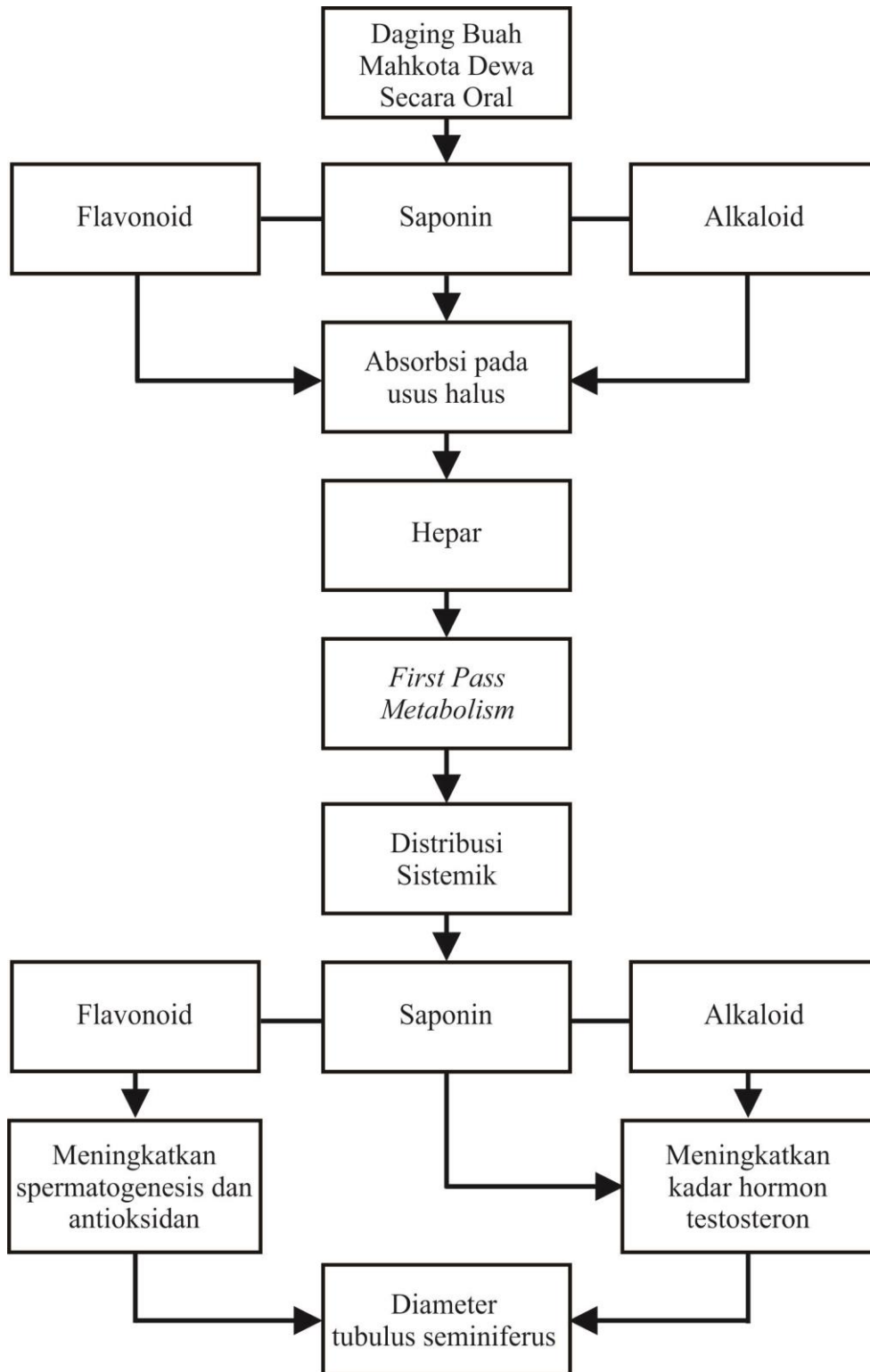
2.1.6 Uji Toksisitas Subkronis

Uji toksisitas secara umum berarti suatu uji untuk mendeteksi efek toksik sediaan uji untuk memperoleh data dosis-respon yang khas. Data yang didapat dapat dijadikan informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji bila terpapar manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan model untuk menilai adanya berbagai reaksi pada manusia. Menurut waktu pemberian sediaan uji, uji toksisitas terbagi menjadi uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2014).

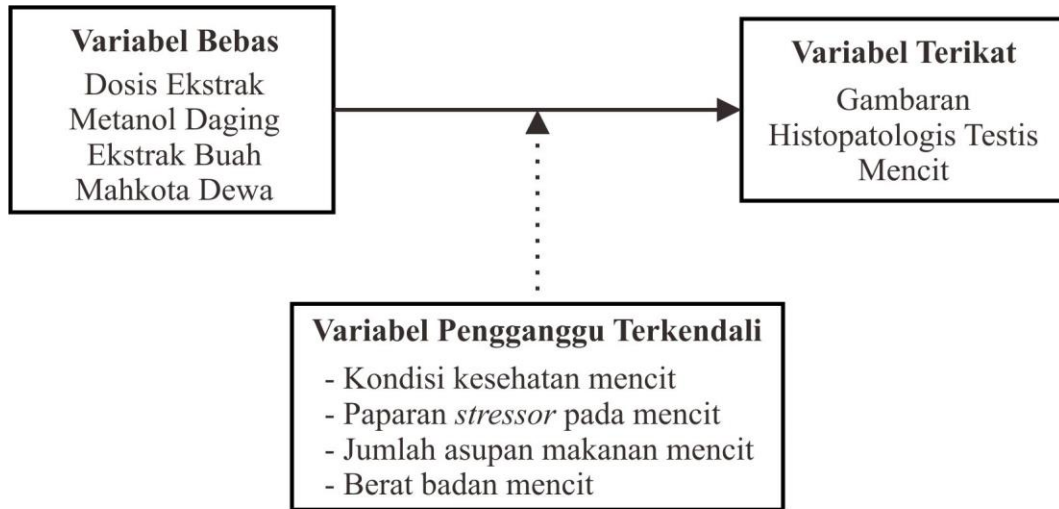
Uji toksisitas subkronis adalah suatu metode yang bertujuan untuk mengetahui efek toksik suatu sediaan uji yang diberikan secara berulang pada hewan uji selama sebagian umur hewan. Uji toksisitas jenis ini dapat dilakukan selama 28 atau 90 hari. Selama dalam masa uji toksisitas, hewan harus selalu diamati untuk menentukan adanya toksisitas. Penilaian toksisitas pada jaringan

hewan uji dapat dilakukan secara makropatologi maupun mikropatologi. Selain itu juga bias dilakukan pemeriksaan hematologi, histopatologi, dan biokimia (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2014).

2.2 Kerangka Teori



2.3 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

—————▶ : memiliki efek langsung pada variabel terikat

.....▶ : menghambat efek langsung pada variabel terikat

2.4 Hipotesis

Pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa pada uji toksisitas subkronik oral tidak memberikan efek terhadap gambaran histopatologis testis mencit.

