

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Hasil Penelitian

#### 4.1.1. Karakteristik Hewan Coba

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Sebanyak 20 ekor hewan coba dapat mengikuti penelitian ini sampai akhir. Selama penelitian tidak terjadi *drop out* pada hewan coba. Penimbangan berat badan dilakukan pada 20 ekor hewan coba yang ada. Rerata berat badan dari tiap kelompok sebelum dan sesudah perlakuan selama 28 hari dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil uji *Saphiro-Wilk*, berat badan awal dan akhir hewan coba dari kelompok A sampai D terdistribusi normal ( $p>0,05$ ) sehingga dilanjutkan uji *paired t-test* untuk mengetahui adanya perubahan berat badan antara sebelum dan sesudah diberi perlakuan untuk masing-masing kelompok. Secara statistik terjadi peningkatan berat badan yang bermakna pada seluruh kelompok dengan nilai  $p=0,000$ . Hal ini menunjukkan bahwa selama penelitian, hewan coba diberi pakan dan minum yang cukup.

**Tabel 3. Karakteristik Hewan Coba Sebelum Perlakuan**

Kelompok	Jumlah Sampel	Rerata berat badan sebelum perlakuan (gram) $\pm$ SD	Nilai p
A	5	18,58 $\pm$ 0,589	p=0,828
B	5	18,34 $\pm$ 0,517	
C	5	18,28 $\pm$ 0,622	
D	5	18,5 $\pm$ 0,552	

Keterangan : Tidak berbeda bermakna pada tiap kelompok sebelum dilakukan perlakuan (hasil uji parametrik *One Way Analysis of Varian* (ANOVA)). Kelompok kontrol dengan pemberian akuades 1 ml (kelompok A), kelompok dengan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 17,5 mg/kgBB (kelompok B), kelompok dengan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 35 mg/kgBB (kelompok C), kelompok dengan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 70 mg/kgBB (kelompok D).

**Tabel 4. Karakteristik Hewan Coba Sesudah Perlakuan**

Kelompok	Jumlah Sampel	Rerata berat badan sesudah perlakuan (gram) $\pm$ SD	Nilai p
A	5	37,78 $\pm$ 1,109	p=0,83
B	5	37,71 $\pm$ 0,732	
C	5	38,16 $\pm$ 0,814	
D	5	38,22 $\pm$ 1,432	

Keterangan : Tidak berbeda bermakna pada tiap kelompok sesudah dilakukan perlakuan (hasil uji parametrik *One Way Analysis of Variance* (ANOVA)).

**Tabel 5. Karakteristik Hewan Coba Sebelum dan Sesudah Perlakuan**

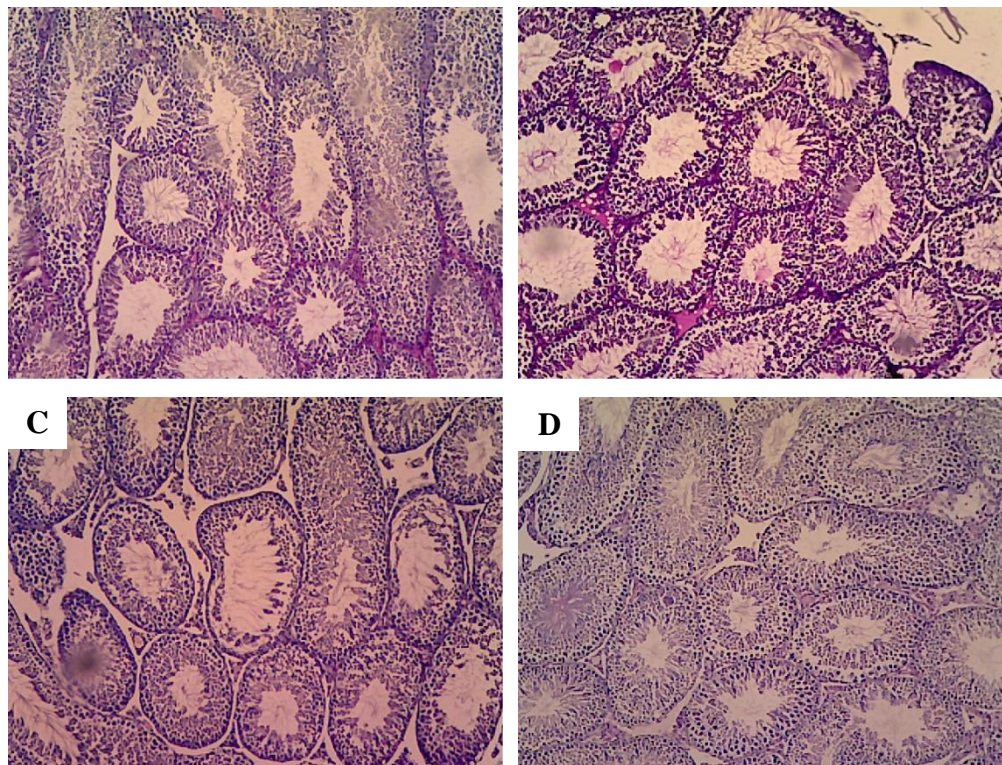
Kelompok	Jumlah Sampel	Rerata berat badan sebelum perlakuan (gram) $\pm$ SD	Rerata berat badan sesudah perlakuan (gram) $\pm$ SD	Nilai p
A	5	18,58 $\pm$ 0,589	37,78 $\pm$ 1,109	p=0,000
B	5	18,34 $\pm$ 0,517	37,72 $\pm$ 0,732	
C	5	18,28 $\pm$ 0,622	38,16 $\pm$ 0,814	
D	5	18,5 $\pm$ 0,552	38,22 $\pm$ 1,432	

Keterangan : Berbeda bermakna perubahan rerata berat badan sebelum dan sesudah perlakuan (hasil uji statistik *Paired T-Test*).

Perlakuan pada hari ke-28, hewan coba didekapitasi untuk diambil organ testis kanannya untuk selanjutnya dibuat preparat. Testis tersebut ditimbang menggunakan skala miligram dan segera dimasukkan dalam larutan dapar formaldehida 10% dan dibuat preparat histopatologi pada blok parafin. Pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan menggunakan mikroskop Olympus CX21 pada perbesaran 100x dengan *software* Image Raster. Semua sampel yang diikuti dalam penelitian tidak mengalami kerusakan secara makroskopis.

#### 4.1.2. Diameter Tubulus Seminiferus

Penghitungan diameter tubulus seminiferus pada setiap kelompok hewan coba dilakukan diakhir penelitian dengan cara mengukur dari satu titik pada **A** ana basalis ke titik lain pada **B** orana basalis yang berseberangan. Diameter tubulus seminiferus pada penelitian ini dihitung dari 2 tubulus seminiferus yang relatif bulat dan diamati pada 5 lapang pandang yang kemudian dirata-rata, sehingga dalam satu preparat testis terdapat 10 tubulus seminiferus. Selanjutnya dilakukan pengamatan oleh peneliti dan pengamat kedua.



**Gambaran 8. Gambaran Histopatologis tubulus seminiferus dari testis *Mus musculus Balb/C* dengan pewarnaan HE perbesaran 100x.**

Keterangan : Gambar A : kelompok A (kontrol (1ml akuades)), Gambar B : kelompok B (pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 17,5 mg/kgBB), Gambar C : kelompok C (pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 35 mg/kgBB), Gambar D : Kelompok D (pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 70 mg/kgBB)

Gambar B pada Gambar 4.2 menunjukkan morfologi diameter tubulus seminiferus dengan diameter terbesar dibandingkan dengan kelompok lain. Gambaran ketebalan epitel dan luas area interstisial tidak berbeda jauh antar keempat kelompok. Sel spermatogenik tampak teratur dengan area interstisial yang cukup rapat pada tiap kelompok.

Data pada tabel Tabel 6 menggambarkan diameter tubulus seminiferus hewan coba pada seluruh kelompok. Didapatkan rerata diameter tubulus seminiferus terbesar pada pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 35 mg/kgBB (kelompok B). Perbedaan histologis morfologi tubulus seminiferus tiap kelompok juga dapat dibandingkan dari tabel Gambar 4.2

**Tabel 6. Tabel Rerata Diameter Tubulus Seminiferus ( $\mu\text{m}$ )**

<b>Kelompok</b>	<b>Rerata diameter tubulus seminiferus <math>\pm</math>SD</b>	<b>Nilai p</b>
Kelompok A	185,85 $\pm$ 7,559	p=0,075
Kelompok B	201,30 $\pm$ 11,06	
Kelompok C	194,83 $\pm$ 15,345	
Kelompok D	184,43 $\pm$ 6,209	

\*Nilai uji parametrik *One Way Analysis of Variance* (ANOVA)  $p > 0,05$

Analisis dilanjutkan dengan melakukan uji normalitas pada data diameter tubulus seminiferus menggunakan *Saphiro-Wilk* yang menunjukkan distribusi data normal ( $p > 0,05$ ). Uji variansi yang dilakukan dengan *Test of Homogeneity of Variances Levene Statistic* didapatkan bahwa variansi data adalah homogen, oleh karena itu uji beda dilakukan dengan uji parametrik *One Way Analysis of Variance* (ANOVA).

Hasil uji ANOVA data diameter diperoleh nilai  $p = 0,075$  yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna diameter tubulus seminiferus pada minimal 2 kelompok perlakuan seperti pada Tabel 4. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa tidak menimbulkan efek toksisitas subkronik pada gambaran histopatologi testis hewan coba.

#### **4.2. Pembahasan**

Menurut Daniel *et al.* (2010), sel yang ada di dalam tubuh secara rutin menghasilkan beberapa zat yang mengakibatkan timbulnya stres oksidatif, diantaranya adalah radikal bebas dan ROS. Zat tersebut merupakan hasil dari metabolisme tubuh. Produksi radikal bebas maupun ROS yang melebihi kadar antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif (Sinaga, 2016). Diperlukan adanya keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan agar testis dapat menjalankan fungsinya, karena jika sistem biologis tubuh gagal menangani tingginya radikal bebas maka sel dan jaringan yang ada di dalam testis dapat menimbulkan jejas yang berarti (Asadi *et al.*, 2012). Kondisi stres oksidatif pada testis dapat mengakibatkan kerusakan sel germinal sehingga terjadi penurunan diameter pada tubulus seminiferus (Munaya *et al.*, 2018).

Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa sebagian besar tidak memiliki perbedaan diameter tubulus seminiferus yang bermakna. Hal ini disebabkan karena beberapa komponen dalam

ekstrak metanol buah mahkota dewa memiliki zat aktif yang cukup tinggi. Zat aktif tersebut berfungsi sebagai antioksidan, seperti saponin dan flavonoid. Zat antioksidan ini menghalangi aktifnya radikal bebas yang dapat merusak sel dalam tubulus seminiferus (Lukacinova, 2008). Flavonoid memiliki peran dalam meningkatkan jumlah dan aktivitas antioksidan yang ada di saluran reproduksi maskulin. Selain itu, zat aktif ini juga menghambat apoptosis pada sel germinal dan memiliki sifat sitoprotektif pada jaringan testis (Khaki *et al.*, 2009). Hal tersebut konsisten dengan penelitian sebelumnya oleh Sulistyoningrum (2012), peneliti melaporkan bahwa pemberian infusa daging buah mahkota dewa pada tikus putih *Rattus novergicus* jantan model diabetes melitus memiliki diameter tubulus seminiferus yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lain. Dapat disimpulkan bahwa dari penelitian tersebut infusa daging buah mahkota dewa tidak memiliki efek toksik, bahkan terdapat efek perbaikan pada jaringan testis.

Beberapa kondisi dapat menyebabkan kegagalan saat mengurangi ROS, antara lain adalah pada saat proses inflamasi, oksidasi, maupun oksigenasi. Kondisi tersebut memudahkan ROS untuk berikatan dengan molekul seperti DNA, lipid, dan protein. Tingginya kadar asam lemak tidak jenuh pada testis, berdampak pada rentannya ROS untuk bereaksi (Guerriero *et al.*, 2014) Stres oksidatif yang terjadi pada sel spermatogenik terjadi karena adanya proses peroksidasi lipid pada membran sel maupun kerusakan DNA (Khadrawy *et al.*, 2011). Dampak dari stres oksidatif dapat berupa apoptosis sel (Cuypres *et al.*, 2010).

Pengukuran diameter tubulus seminiferus merupakan salah satu indikator penting dalam penilaian fertilitas makhluk hidup. Menurut Gülkesen *et al.* (2002), terdapat hubungan yang dekat antara spermatogenesis dengan morfologi testis. Salah satu tanda proses spermatogenesis yang terganggu adalah mengecilnya diameter tubulus seminiferus (Nurkarimah *et al.*, 2017). Pernyataan ini didukung oleh Munaya *et al.* (2017) bahwa tingginya stress oksidatif pada testis menyebabkan apoptosis sel spermatogenik yang terjadi melalui jalur peroksidase lipid. Apoptosis sel spermatogenik berdampak pada abnormalitas parameter cairan semen. Jika hal ini berlangsung secara terus menerus, maka pada tahap akhir dapat menyebabkan infertilitas. Menurut penelitian dari Oyeyemi dan Okediran (2007), ukuran testis yang lebih besar merupakan salah satu tanda produktivitas sperma yang lebih

banyak. Hal ini berkaitan dengan struktur dari testis terbentuk dari sekitar 70-80% tubulus seminiferus (Gouletsou *et al.*, 2008). Konsentrasi spermatozoa yang tinggi juga merupakan indikasi tingginya fertilitas, karena kemungkinan sperma yang ada saat inseminasi juga lebih tinggi. Hasil penelitian Parhizkar *et al.* (2013), pemberian infusa mahkota dewa 240 mg/kgBB pada 18 tikus jantan memberikan efek viabilitas sperma yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol secara signifikan. Untuk mengevaluasi fertilitas hewan coba, maka diameter tubulus seminiferus menjadi salah satu informasi penting karena mampu menggambarkan morfologi tubulus seminiferus (Peixoto *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian ini didapatkan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan rentang dosis 17,5-70 mg/kgBB pada *Mus musculus* masih dalam batas aman pada uji toksisitas subkronik di bagian reproduksi jantan. Hal ini dapat menguatkan hasil penelitian dari Sulistyoningrum (2013), bahwa ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dosis 250 mg/kgBB dapat dijadikan dosis terapi untuk kasus diabetes melitus dengan hewan coba *Rattus novergicus*. Dikarenakan tidak ditemui efek toksik pada uji toksisitas subkronik, maka perlu ada penelitian lanjutan untuk uji toksisitas kronik. Uji pada jangka waktu yang berbeda bertujuan agar dapat mengetahui manfaat ekstrak metanol daging buah mahkota dewa secara holistik.