

Efek Ekstrak Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) terhadap Jumlah Sel Leydig pada Mencit Jantan Strain Balb/C yang Diinduksi Boraks

Effect of Green Tea Extract (Camellia Sinensis) on the Number of Leydig Cells in Male Mice Balb/C Strain Induced with Borax

^{1*} Dini Millatul Azka, ¹Ulfah Dian Indrayani, ¹Meidona Nurul Milla

¹Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Jl. Kaligawe KM 4 Semarang
Email: mihlatulazka@gmail.com

ABSTRAK

Boraks merupakan salah satu sumber radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Teh hijau mengandung *epigallocatechin gallat* yang dapat mengikat superoksida dan radikal hidroksil, serta meningkatkan CAT, SOD, dan GSH-PX sehingga dapat mengurangi kerusakan sel Leydig akibat stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak teh hijau terhadap sel Leydig yang diinduksi boraks. Penelitian eksperimental *posttest only control group design*, subjek uji 35 ekor mencit jantan strain Balb/C dibagi secara acak dalam 6 kelompok. Perlakuan dilakukan selama 35 hari. Hari ke-36 dilakukan pengambilan jaringan testis untuk dibuat preparat pengecatan HE dan diamati dengan perbesaran 400x sebanyak 3 lapang pandang. Jumlah sel Leydig dihitung dengan aplikasi *ImageJ* dan dihitung reratanya. Data dianalisis dengan uji *One Way Anova* dilanjutkan uji *Post Hoc* LSD. Rerata jumlah sel Leydig K1 24,44±2,47; K2 18,33±4,84; K3 33,11±5,14; K4 26,28±6,42; K5 31,89±5,05; dan K6 25,61±6,87. Hasil uji *One Way Anova* 0,001 ($p<0,05$) menunjukkan hasil yang signifikan. Hasil uji *Post Hoc* LSD menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara: K1 dengan K2; K2 dengan K4, K5, K6; antara K5 dengan K6 tidak berbeda bermakna. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak teh hijau dapat meningkatkan jumlah sel Leydig pada mencit jantan yang diinduksi boraks.

Kata Kunci: Ekstrak teh hijau, sel Leydig, boraks.

ABSTRACT

Borax is one of free radical resources that can cause oxidative stress. Green tea contains *epigallocatechin gallat* that can scavenge superoxide and hydroxyl radical, and increase the number of CAT, SOD, and GSH-PX leading to reduced Leydig cell damage. This study was aimed to determine effect of green tea extract on the number of Leydig cell in boric acid testicular toxicity in mice. This experimental study using *posttest only control group design*. 35 BALB/c male mice, divided randomly into 6 groups. The treatments were given during 35 days. On day 36, the testicular tissues were taken for H&E stained histological preparation and observed under microscope with 400x magnification. The number of Leydig cell was counted with an application named *ImageJ* to 3 field of view and counted the mean. Data were analyzed using *One Way Anova* and continued with *Post Hoc* test LSD. The mean of Leydig cell number of K1, K2, K3, K4, K5, K6 were 24,44±2,47; 18,33±4,84; 33,11±5,14; 26,28±6,42; 31,89±5,05; 25,61±6,87 respectively. The result of *One Way Anova* test was 0,001 ($p<0,05$) showing that green tea extract could increase the number of Leydig cell. The result of *Post Hoc* test with LSD showing that there was a significantly different between: K1 and K2; K2 and K4, K5, K6. The conclusion is green tea extract could increase the number of Leydig cell in boric acid induced testicular toxicity in mice.

Keywords: green tea extract, Leydig cell, borax

PENDAHULUAN

Teh hijau merupakan minuman yang gemar dikonsumsi oleh banyak orang di dunia setelah air mineral. Selama dekade terakhir, teh hijau telah menarik banyak perhatian karena memiliki banyak manfaat untuk kesehatan, yakni sebagai antikarsinogenik, antiviral, anti-inflamasi, anti-iskemik, anti-alergi, dan antioksidan (Kalender, *et al.*, 2011). Sebagai antioksidan, teh hijau dapat memberikan proteksi pada struktur histologi testis dari kerusakan yang diakibatkan oleh stres oksidatif (Mosbah, *et al.*, 2015). Penelitian Mosbah *et al.*, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau *ad libitum* sebagai satu-satunya minuman dengan konsentrasi 2% memberikan proteksi terhadap stres oksidatif yang disebabkan oleh nikotin dengan memperbaiki berat testis, motilitas sperma, morfologi sperma, jumlah sperma dan spermatid, konsentrasi testosteron, serta histopatologi testis.

Teh hijau sebagai antioksidan dapat menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan kematian sel. Salah satu sumber radikal bebas yang banyak disalahgunakan oleh masyarakat adalah boraks yang mengandung boron yang banyak digunakan sebagai pengental dan pengawet pada makanan-makanan seperti mie, bakso, lontong, batagor, dan ketupat. Penggunaan boraks dilarang oleh pemerintah karena memberikan efek negatif bagi kesehatan, salah satunya terhadap sistem reproduksi pria (Utami, 2015). Kandungan boron dalam boraks akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yaitu superoksida (Ramadhan dan Nisa, 2015). Radikal bebas tersebut dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel Leydig di testis sehingga dapat menyebabkan destruksi membran sel (Pramesti, *et al.*, 2016), akibatnya, dapat terjadi gangguan pada proses spermatogenesis yang bisa mengakibatkan terjadinya infertilitas pada pria (Utami, 2015).

Pada pasangan suami istri, presentase infertilitas yang terjadi pada pria sebesar 40%, wanita 40%, dan pada keduanya 30%. WHO menaksir sekitar 50-80 juta pasangan suami istri (1 dari 7 pasangan) mempunyai masalah infertilitas, dimana pada tiap tahunnya terdapat 2 juta pasangan yang infertil (Saraswati, 2015). Menurut Konsensus

Penanganan Infertilitas tahun 2013, presentase infertilitas pada laki-laki yang disebabkan karena radikal bebas sebesar 30%.

Berdasarkan data di atas, maka dibutuhkan upaya untuk mengurangi angka infertilitas yang disebabkan oleh boraks. Salah satunya yaitu menggunakan teh hijau sebagai antioksidan. Teh hijau mengandung EGCG (epigallocatechin gallat) yang merupakan salah satu jenis flavonoid yang mampu mengikat ROS yaitu superoksida dan radikal hidroksil (Mao, *et al.*, 2017). Flavonoid juga dapat mengikat ion logam seperti besi dan tembaga yang menyebabkan terbentuknya radikal hidroksil dan menstimulasi enzim antioksidan seperti glutathione dan superoksida dismutase (Mosbah, *et al.*, 2015).

Penelitian oleh Maharani (2018) menunjukkan pemberian ekstrak teh hijau dengan dosis 40mg/ekor/hari pada mencit yang dipapar boraks 10mg/ekor dalam 0,1 ml akuabides memberikan efek peningkatan viabilitas spermatozoa (Maharani, 2018). Berdasarkan penjelasan di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui efek pemberian ekstrak teh hijau dengan dosis 20mg/hari, 40 mg/hari, dan 60 mg/hari pada mencit yang diinduksi boraks 10mg/ekor dalam 0,1 ml akuabides terhadap jumlah sel Leydig. Pada penelitian ini juga akan menilai efek pemberian vitamin C dengan dosis 0,6mg/gBB/hari dilarutkan dalam 0,5 ml akuades yang diinduksi dengan boraks dan dibandingkan keefektifannya dengan pemberian ekstrak daun teh hijau.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group*. Subjek uji menggunakan mencit jantan strain *Balb/C* berjumlah 36 ekor berusia 8 sampai 12 minggu dengan berat 15-35 gram. Mencit diadaptasi selama 7 hari dan dibagi menjadi 6 kelompok secara acak sebagai berikut:

K1 : makan standar.

K2 : makan standar + boraks 10 mg/ekor selama 35 hari.

K3 : makan standar + boraks 10 mg/ekor selama 35 hari + vitamin C 0,6 mg/gBB/hari mulai hari ke-21 sampai hari ke-35.

K4 : makan standar + boraks 10 mg/ekor selama 35 hari + ekstrak daun teh hijau 20 mg/ekor/ hari mulai hari ke-21 sampai hari ke-35.

K5 : makan standar + boraks 10 mg/ekor selama 35 hari + ekstrak daun teh hijau 40 mg/ekor/ hari mulai hari ke-21 sampai hari ke-35.

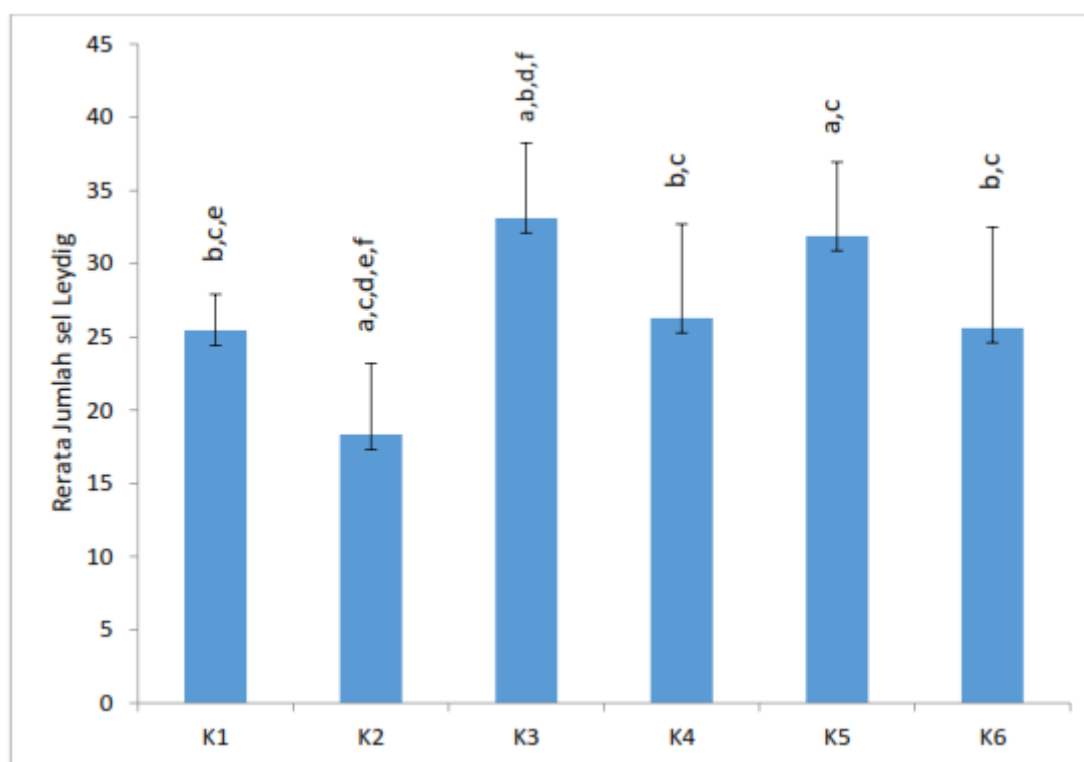
K6 : makan standar + boraks 10mg/ekor selama 35 hari + ekstrak daun teh hijau 60 mg/ekor/ hari mulai hari ke-21 sampai hari ke-35.

Tikus determinasi pada hari ke-36 dengan metode servikal dislokasi untuk diambil testis. Jaringan testis dibuat preparat dengan menggunakan pengecatan HE dan

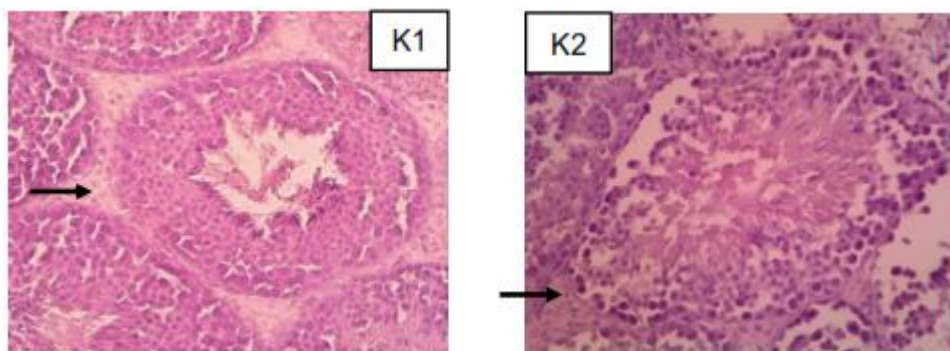
diamati dengan mikroskop perbesaran 400x sebanyak 3 lapang pandang. Sel Leydig dihitung dengan aplikasi *ImageJ* dan dihitung reratanya. Data rerata jumlah sel Leydig dilakukan uji beda dengan *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* LSD.

HASIL PENELITIAN

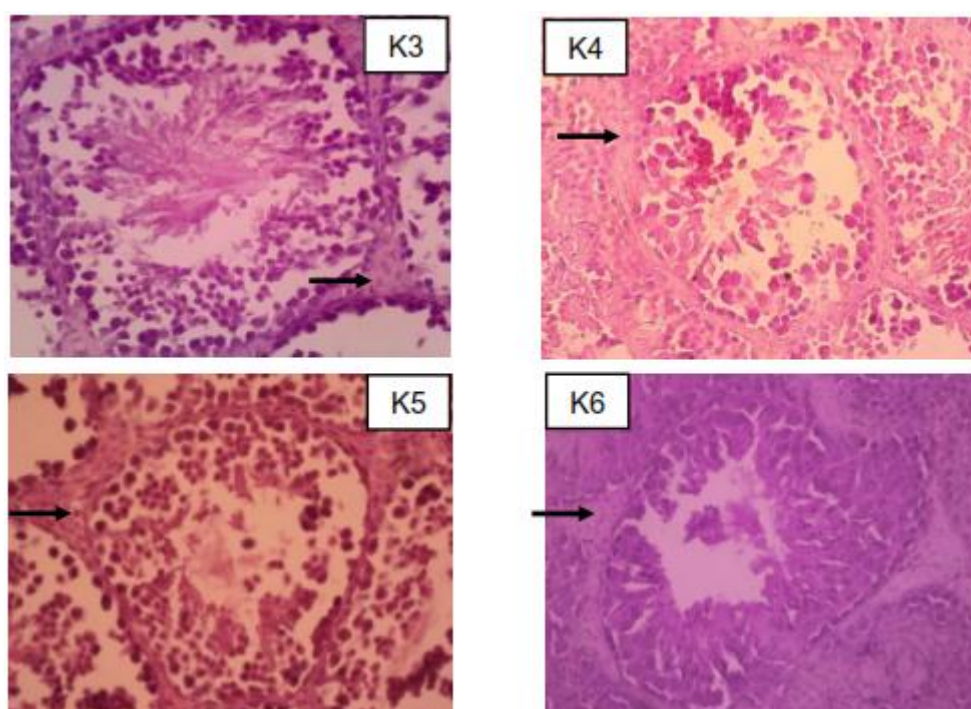
Hasil uji parametrik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dapat meningkatkan jumlah sel Leydig pada mencit jantan strain *Balb/C* yang diinduksi boraks ($p < 0,05$). Hasil penghitungan rerata jumlah sel Leydig pada semua kelompok dapat dilihat pada table 1.



Tabel 1. Rerata Jumlah Sel Leydig. ^a berbeda bermakna dengan K1. ^b berbeda bermakna dengan K2. ^c berbeda bermakna dengan K3. ^d berbeda bermakna dengan K4. ^e berbeda bermakna dengan K5. ^f berbeda bermakna dengan K6. ($p < 0,05$)



Gambar 1. Gambaran mikroskopik testis, pengecatan HE, perbesaran 400x, K1 dan K2.
 → : sel Leydig



Gambar 2. Gambaran mikroskopik testis, pengecatan HE, perbesaran 400x, K3, K4, K5, dan K6
 → : sel Leydig

PEMBAHASAN

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kelompok boraks berbeda bermakna dengan kelompok diet standar dimana reratanya lebih rendah. Hal ini berarti bahwa boraks berperan sebagai oksidan yang dapat menurunkan jumlah sel Leydig. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menerangkan bahwa pemberian boraks dapat menyebabkan kematian sel Leydig (Pramesti, *et al.*, 2016). Boraks mengandung senyawa kimia dengan toksisitas yang tinggi (Mayasari dan Mardiroharjo, 2012). Boraks akan berubah menjadi asam boraks ketika dikonsumsi secara

peroral, lalu terdisosiasi menjadi boron yang akan diabsorpsi dan didistribusikan ke seluruh tubuh termasuk testis (Ramadhan dan Nisa, 2015). Testis merupakan organ yang sensitif terhadap toksisitas boraks (Pongsavee, 2009).

Akumulasi boron akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yaitu superoksida yang dapat menimbulkan stres oksidatif dengan cara merusak asam lemak tak jenuh (PUFA), DNA, dan protein (Parwarta, 2016). Membran sel Leydig memiliki asam lemak yang tinggi sehingga sensitivitas terhadap ROS juga tinggi yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Taufiqurrachman, 2012).

Peroksidasi lipid akan menghasilkan MDA yang dapat memutus untai dan modifikasi DNA serta merusak membran sel. ROS juga dapat merusak sel dengan cara merangsang pengeluaran proteolisis (Birben, *et al.*, 2012)

Kelompok dengan pemberian vitamin C berbeda bermakna dengan kelompok diet standar dan kelompok boraks. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dapat berperan sebagai antioksidan dengan meningkatkan jumlah sel Leydig. Hasil ini serupa dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian vitamin C 0,6 mg/g berat badan dapat memberikan efek antioksidan dan mempertahankan jumlah sel Leydig (Anindita dan Sutyarso, 2012). Vitamin C berubah menjadi askorbat radikal dengan mendonasikan satu elektron radikal lipid untuk memutus rantai peroksidasi lipid (Nimse dan Pal, 2015).

Kelompok teh hijau 20 mg, 40 mg, dan 60 mg memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok boraks dimana rerata jumlah sel Leydig pada ketiga dosis teh hijau tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok boraks. Teh hijau mengandung EGCG, suatu flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. EGCG mampu mengikat ROS yaitu superoksida dan hidroksil radikal. Flavonoid juga bekerja secara tidak langsung dengan meningkatkan enzim glutathione peroksidase, katalase, dan superoksida dismutase sehingga mampu mengurangi efek dari stres oksidatif (Mao, *et al.*, 2017).

Hasil uji beda antara kelompok vitamin C dengan teh hijau 40 mg menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa kedua perlakuan tersebut memberikan efek antioksi dan yang sama. Hasil uji beda pada kelompok teh hijau 20mg, 40 mg, dan 60 mg tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Kelompok teh hijau 40 mg berbeda bermakna dengan kelompok diet standar sedangkan kelompok teh hijau 20 mg dan 60 mg tidak berbeda bermakna. Hasil ini menunjukkan bahwa diantara ketiga dosis teh hijau, teh hijau 40 mg dapat menjadi dosis yang efektif dalam penelitian ini.

Hasil uji beda antara kelompok teh hijau 40 mg dan teh hijau 60 mg tidak berbeda bermakna, tetapi rerata jumlah sel Leydig pada kelompok teh hijau 60 mg mengalami penurunan. Hal ini karena teh hijau juga dapat menjadi pro-oksidan yang dapat menyebabkan

kerusakan sel pada konsentrasi ekstrak yang tinggi (Nasri dan Rafieian-kopaei, 2014).

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak teh hijau dapat meningkatkan jumlah sel Leydig pada mencit jantan yang diinduksi boraks.

DAFTAR PUSTAKA

- Anindita, K., Sutyarso (2012). Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Berat Testis, Jumlah Sel Leydig, dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus Musculus* L) Jantan Dewasa yang diinduksi Monosodium Glutamat. Universitas Lampung, hal. 36–48.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C. (2012). *Oxidative Stress and Antioxidant Defense*. World Allergy Organization, hal. 9–19.
- Kalender, Y., Kaya, S., Durak, D. (2011). *Protective Effects of Catechin and Quercetin on Antioxidant Status, Lipid Peroxidation and Testis-histoarchitecture induced by Chlorpyrifos in Male Rats*. Environmental Toxicology and Pharmacology 3, hal. 141–148.
- Maharani, V. M. (2018). Efek Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camellia Sinensis* L.) Terhadap Peningkatan Viabilitas Spermatozoa, Skripsi, Fakultas Kedokteran Umum, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang.
- Mao, X., Gu, C., Chen, D. (2017). *Oxidative stress-induced diseases and tea polyphenols*. Impact Journals 8(46), hal. 81649–81661.
- Mayasari, D. dan Mardiroharjo, N. (2012) “Pengaruh Pemberian Boraks Peroral Sub Akut terhadap Terjadinya Atrofi Testis Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus* Strain Wistar), Universitas Muhammadiyah Malang hal. 22–27.
- Nasri, H. dan Rafieian-kopaei, M. (2014) Medicinal Plants And Antioxidants : Why They Are Not Always Beneficial?. Iranian Journal Public Health, 43(2), hal. 255–257.
- Nimse, S. dan Pal, D. (2015). Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. RSC

- Advances. Royal Society of Chemistry.
- Parwarta, I. M. (2016). Antioksidan Kimia Terapan. Universitas Udayana hal. 1–54.
- Pongsavee, M. (2009). *Effect of Borax on Immune Cell Proliferation and Sister Chromatid Exchange in Human Chromosome*. Journal of Occupational Medicine and Effect of borax on immune cell proliferation and sister chromatid exchange in human chromosomes, 6, hal. 1–6.
- Pramesti, C.A Arimbi, Srianoto, P. (2016). Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E dan Vitamin C sebagai Tindakan Preventif terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit. Veterina Medika.
- Ramadhan, A. Y. dan Nisa, K. (2015) “Efektivitas Buah Tomat sebagai Penghambat Kerusakan Hepar Akibat. Universitas Lampung.
- Saraswati, A. (2015). *Infertility*. Universitas Lampung, 4, hal. 5–9.
- Taufiqurrachman (2012). The effect of Oxygen free Radicals on Human Sperm Function and Aging. in Pertemuan Ilmiah Tahunan Persandi VI Pandi XX. Semarang.
- Utami, D. K. (2015). Pengaruh Boraks Terhadap Sistem Reproduksi Pria The Effect of Borax on Male Reproductive System. Jurnal majority.