

Efek Preventif Bayam Merah terhadap Organ Reproduksi Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Paracetamol Dosis Toksik

(PREVENTIVE EFFECT OF RED SPINACH ON REPRODUCTIVE ORGANS OF MALE WISTAR RATS INDUCED BY TOXIC DOSE OF PARACETAMOL)

**Haris Setiawan¹, Irfan Yuniyanto², Ario Tejosukmono³,
Cucu Cahyani¹, Isma Sakinati¹**

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan,

²Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,

³Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Ahmad Dahlan,

Jl. Jend. A Yani (Ringroad Selatan), Tamanan, Banguntapan,
Bantul, Yogyakarta, Indonesia 55191

Tlp +62 274 563 515, Email: haris.setiawan@bio.uad.ac.id.

ABSTRACT

Paracetamol which is used excessively (toxic dose) can form N-acetyl-p-benzoquinone (NAPQI) compounds that cause an increase in free radicals in the body and potentially reduce the quality of reproductive organs. Red spinach (*Amaranthus tricolor* L.) is one of the herbal plants that has the potential as a source of antioxidants in counteracting free radicals caused by paracetamol. The study was aimed to determine the potential of ethanol extract from Red Spinach on the reproductive organs (sperm quality and testicular histology) of Wistar rats induced by toxic doses of paracetamol. The research used 24 Wistar rats (four treatments with six replicates) consisting of Control (distilled water), KN (paracetamol dose 0.5 g/kg BW), P1 (extract dose 0.4 g/kg BW and paracetamol dose 0.5 g/kg BW), P2 (extract dose 0.8 g/kg BW and paracetamol dose 0.5 g/kg BW). Reproductive organ parameters consist of sperm quality and testicular histology structure (number of Leydig cell and spermatogenesis index). The administration of the extract was carried out on days 1-15, while paracetamol was given on days 11-15. On day 16, rats were sacrificed to observe sperm quality and make histological preparations of the testes (paraffin method; HE staining). All data were analyzed using One-Way Analysis of Variance with the Duncan test ($P < 0.05$). The results showed that the sperm quality of the 0.4 g/kg BW dose had a higher number of motility, number of cells, viability, and sperm morphology than between treatments ($P < 0.05$). The number of Leydig cells and spermatogenesis index also showed that doses of 0.4 and 0.8 g/kg BW were higher than between treatments ($P < 0.05$). The conclusion shows that the administration of ethanol extract from Red Spinach leaves at a dose of 0.4 g/kg BW can potentially protect the quality of sperm and testicular organs of Wistar rats induced by toxic doses of paracetamol for 15 days.

Keywords: red spinach; testicular histology; sperm quality; paracetamol

ABSTRAK

Penggunaan parasetamol dalam dosis toksik dapat membentuk senyawa N-asetil-p-benzokuinona (NAPQI) yang menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh dan

berpotensi menurunkan kualitas organ reproduksi. Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang berpotensi sebagai sumber antioksidan dalam menangkal radikal bebas akibat parasetamol. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi bayam merah sebagai antioksidan terhadap organ reproduksi (kualitas sperma dan histologi testis) tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Penelitian menggunakan 24 ekor tikus wistar (empat perlakuan dengan enam ulangan) yang terdiri atas Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kgBB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kgBB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB). Parameter organ reproduksi terdiri atas kualitas sperma dan struktur histologi testis (jumlah sel leydig dan indeks spermatogenesis). Pemberian ekstrak dilakukan pada hari ke-1 sampai 15, sedangkan parasetamol diberikan pada hari ke-11 sampai 15. Pada hari ke-16, tikus dikorbankan untuk diamati kualitas sperma dan pembuatan sediaan histologis testis (metode paraffin; pewarnaan HE). Seluruh data dianalisis menggunakan uji sidik ragam satu arah dan dilanjutkan dengan uji duncan ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan kualitas sperma pada perlakuan dosis 0,4 g/kg BB memiliki motilitas, jumlah sel, viabilitas dan morfologi sperma lebih tinggi dibandingkan antar perlakuan ($P < 0,05$). Jumlah sel leydig dan indeks spermatogenesis juga memperlihatkan bahwa pada dosis 0,4 dan 0,8 g/kg BB lebih tinggi dibandingkan antar perlakuan ($P < 0,05$). Simpulan penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bayam merah dosis 0,4 g/kg BB berpotensi melindungi kualitas sperma dan organ testis tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik selama 15 hari.

Kata-kata kunci: bayam merah; kualitas sperma; testis; paracetamol dosis toksik

PENDAHULUAN

Parasetamol merupakan obat analgesik yang sering dikonsumsi oleh masyarakat terutama masyarakat yang tinggal di kota-kota besar. Data dari *American Association of Poison Control Centers* tahun 2006 menunjukkan terdapat 140.000 kasus keracunan parasetamol dan lebih dari 100 pasien meninggal dunia. Pada bulan Februari 2022, *British Broadcasting Corporation* (BBC) *News* Indonesia melaporkan kadar parasetamol yang ditemukan di Sungai Citarum mencapai 1630 ng/L dan 1590 ng/L, kadar tersebut lebih tinggi dari penemuan sebelumnya di Teluk Sudah. Hal tersebut sudah bahwa terdapat peningkatan jumlah konsumsi parasetamol oleh manusia yang tidak terkendali dan berdampak buruk pada pencemaran air di wilayah Sudah. Konsumsi parasetamol di kota besar akan sulit diturunkan, karena masyarakat masih sangat bergantung pada obat tersebut untuk meredakan pusing dan nyeri yang diderita (BRIN, 2021).

Konsumsi parasetamol yang berlebihan akan membentuk senyawa *N-asetil-p-benzokuinon* (NAPQI) yang bersifat toksik dengan membentuk radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas tersebut bersifat reaktif, sehingga memicu kerusakan sel dan jaringan di dalam tubuh secara destruktif melalui reaksi oksidasi (Rosahdi *et al.*, 2013; Ramadhan *et al.*, 2019). Radikal bebas juga dengan mudah merusak sistem reproduksi, seperti sel-sel spermatogenik di dalam testis (termasuk sel Leydig). Sistem metabolit oksidatif pada testis lebih sedikit daripada organ ekskresi, sehingga radikal bebas dapat menginduksi kerusakan organ tersebut (Luangpirom *et al.*, 2012). Produksi hormon testosteron juga dapat terganggu akibat radikal bebas, sehingga menyebabkan penurunan kualitas sperma (Hurtado-Gonzales dan Mitchell, 2017; Sari *et al.*, 2018). Hasil penelitian lain sudah bahwa Parasetamol dosis toksik dapat menghambat sintesis pros-taglandin (senyawa yang berperan dalam memetabolisme *arachidonic acid* menjadi prostanoids / *prostaglandin H2 synthetase*

(PGHS) yang memiliki situs aktif *Cyclooxygenase Site* (COX) dan *Peroxidase Site* (POX) pada sistem saraf pusat (Wahyuni *et al.*, 2019). Hal tersebut dapat membuat sekresi hormon testosteron terganggu dan kualitas sperma menurun (Sharma dan Mehta, 2014).

Antioksidan eksogen (dari luar tubuh) juga dibutuhkan untuk menangkal dan melindungi tubuh dari stress oksidatif akibat paparan parasetamol yang berlebih. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan adalah bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) (Wedhasari, 2014). Bayam merah mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi di dalam tubuh. Bayam merah juga memiliki keunggulan dengan kadar flavonoid yang lebih tinggi (2,62%) dibandingkan dengan bayam hijau (1,31%) (Isrul *et al.*, 2020). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun bayam merah sebagai sumber antioksidan alami dalam menangkal radikal bebas pada kualitas sperma dan organ testis tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan hewan uji yaitu tikus wistar untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun bayam merah terhadap gambaran histologi testis dan kualitas sperma yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari – Agustus 2023 di Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Sudah Dahlan. Penelitian ini juga dilakukan berdasarkan prosedur yang disetujui oleh Komite Etik UAD dengan nomor 012212199. Daun bayam merah diperoleh dari Kebun Eduwisata Narakupu, Hargobinangun, Sleman, Sudah. Identifikasi tanaman bayam merah dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada dengan nomor 0274/5.Tb./III/2023.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah

Tanaman bayam merah (\pm 1 bulan) diambil daunnya kemudian dicuci bersih dan dikeringkan dengan oven (suhu 50°C). Daun kering tersebut kemudian dihaluskan sampai terbentuk simplisia (1.049 g). Simplisia diekstraksi dengan metode mase-rasi (pelarut etanol 96%) selama tiga hari. Filtrat kemudian disaring dan di-evaporasi dengan *rotary evaporator* (suhu 45°C, dan kecepatan 100 rpm) sampai diperoleh sediaan kental berupa ekstrak sebanyak 62,06 g.

Perlakuan Hewan Uji

Tikus wistar (24 tikus jantan, umur \pm 4 bulan, bobot 180-250 g) diaklimatisasi selama 14 hari. Tikus kemudian dikelompokkan ke dalam empat kelompok dengan enam ulangan (rumus Federer). Perlakuan terdiri atas Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB). Pemberian ekstrak dilakukan pada hari ke-1 hingga 15, sedangkan parasetamol diberikan pada hari ke-11 hingga 15. Parasetamol diberikan dengan selang waktu dua jam setelah pemberian ekstrak (Aksu *et al.*, 2016; Muhammed dan Sabry, 2020).

Preparasi dan Pembuatan Suspensi Sperma

Pada hari ke-16, tikus dibedah dan diambil kauda epididimisnya. Kemudian kauda epididimis dimasukkan ke dalam *Phospat Buffer Saline* (PBS) dan digunting secara acak agar sperma keluar. Suspensi sperma diinkubasi selama tiga menit dan suspensi yang terkumpul diencerkan dengan akuades dengan perbandingan 1:20 (suhu 37°C), suspensi digunakan untuk pengamatan parameter kualitas sperma yang terdiri atas motilitas sperma, jumlah sel sperma, viabilitas sperma dan morfologi sperma.

Pengamatan Motilitas dan Jumlah Sperma

Suspensi sperma diambil 10 μ L menggunakan mikropipet, kemudian diletakkan pada bilik hitung hemositometer, dan diamati di bawah mikroskop (Olympus CX23). Motilitas dan jumlah sperma dihitung di bawah mikroskop pada bagian kepala sperma dalam lima kotak besar berdasarkan rumus Parhizkar *et al.*, (2013).

Pengamatan Morfologi dan Viabilitas Sperma

Morfologi dan viabilitas sperma diamati dengan cara suspensi sperma diteteskan di atas gelas objek, kemudian diberi pewarna eosin sebanyak tiga tetes, dan kemudian dibuat preparat apus. Pre-parat apus kemudian dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop (Olympus CX23) untuk pengamatan viabilitas dan morfologi sperma. Persentase kedua parameter tersebut dihitung berdasarkan rumus Parhizkar *et al.* (2013).

Pembuatan Preparat Histologi Testis

Setelah pengamatan kualitas sperma selesai, organ testis diambil untuk ditimbang dan dihitung indeks organ (%), serta dibuat preparat histologi (metode paraffin). Testis dicuci menggunakan NaCl (0,9%) dan difiksasi menggunakan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%. Testis diiris menggunakan pisau bedah (ukuran \pm 1 cm), kemudian dimasukkan ke dalam kaset untuk dilakukan proses dehidrasi menggunakan 189eydig189 (Setiawan *et al.*, 2022). Testis kemudian direndam ke dalam xylol untuk proses *clearing*, kemudian dilanjutkan proses *embedding* untuk ditanamkan ke dalam paraffin cair (suhu 55°C), paraffin cair beserta testis kemudian dibentuk blok paraffin dan disimpan di dalam lemari pendingin (suhu 5°C). Blok paraffin dipotong menggunakan *rotary micotom* (ketebalan 5-6 μ m) untuk mendapatkan

potongan jaringan. Potongan jaringan diletakkan di atas penangas air/*waterbath* (45°C), kemudian diambil menggunakan gelas objek dan diinkubasi selama 24 jam di dalam 189eydig189og. Preparat kemudian diwarnai menggunakan pewarnaan Hema-toksilin-Eosin/HE (Setiawan *et al.*, 2018^a, Setiawan *et al.*, 2018^b).

Perhitungan Indeks Spermatogenesis dan Jumlah Sel Leydig

Preparat diamati menggunakan mikroskop (Olympus CX23) dan gambar diambil menggunakan *betaview* (perbesaran 40x lensa objektif). Parameter yang diamati pada jaringan testis adalah jumlah sel leydig dan indeks spermatogenesis. Jumlah sel leydig dihitung dengan menjumlahkan seluruh sel yang diamati pada 10 bidang lapang pandang, sedangkan Indeks spermatogenesis dihitung menggunakan rumus: Indeks spermatogenesis = [(jumlah spermatosit+jumlah spermatid) x (jumlah spermatogonia+jumlah spermatosit + jumlah spermatid)⁻¹] x 100%

Analisis Data

Seluruh parameter dianalisis menggunakan uji sidik ragam satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan ($P < 0,05$) untuk melihat perbedaan antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Sperma

Hasil penelitian sudah pemberian ekstrak etanol bayam merah dapat melindungi penurunan kualitas sperma akibat parasetamol dosis toksik dengan beberapa parameter seperti motilitas, morfologi dan viabilitas sperma ($P < 0,05$), namun pada jumlah sel sperma tidak berbeda nyata secara signifikan ($P > 0,05$). Hasil pengamatan kualitas sperma disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas sperma tikus wistar setelah perlakuan

Variabel	Kontrol	KN	P1	P2
Motilitas (%)	82,03±13,24 ^b	60,70±17,21 ^a	90,59±6,53 ^b	83,97±12,87 ^b
Jumlah Sperma (x10 ⁶ sel/ml)	381,25±101,68 ^a	290,00±114,67 ^a	375,00±77,13 ^a	342,50±31,22 ^a
Morfologi (%)	69,37±5,49 ^c	39,23±6,57 ^a	59,04±10,23 ^{bc}	55,80±5,32 ^b
Viabilitas (%)	46,68±19,14 ^b	15,16±4,94 ^a	47,89±8,84 ^b	31,44±9,34 ^{ab}

Keterangan: Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB). Superscript a-b yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P < 0,05$). Mean \pm SD.

Seperti yang tersaji pada Tabel 1, hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas, morfologi dan viabilitas sperma terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P < 0,05$). Pemberian ekstrak dosis 0,4 g/kg BB memiliki motilitas, morfologi dan viabilitas paling tinggi, sedangkan pada perlakuan yang diberikan parasetamol memiliki nilai yang paling rendah ($P < 0,05$). Namun, hasil penelitian tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan pada jumlah sperma antar perlakuan ($P > 0,05$). Hasil tersebut memperlihatkan parasetamol dosis toksik (0,5 g/kg BB) dapat menurunkan motilitas, morfologi dan viabilitas sperma tikus wistar. Terdapat upaya preventif terhadap penurunan kualitas sperma tikus wistar dengan dosis yang paling optimum pada 0,4 g/kg BB.

Parasetamol (*acetaminophen*) dalam jumlah berlebih menyebabkan kualitas sperma rendah akibat tingginya *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam tubuh yang berperan memicu reaksi stress oksidatif. Senyawa NAPQI hasil 190eydig190oge dari konsumsi parasetamol memicu reaksi stress oksidatif (terjadi peroksidasi lipid), sehingga berakibat pada penurunan kualitas sperma (Ko *et al.*, 2014). Salah satu dampak dari penurunan kualitas sperma adalah menurunnya kemampuan gerak sel sperma atau motilitas sperma (Rayburn *et al.*, 2017). Peningkatan peroksidasi lipid mengakibatkan hilangnya fluiditas dan integritas membran pada sel sperma. Hal tersebut yang menyebabkan proses spermatogenesis terganggu dan meningkatkan jumlah sperma

dengan morfologi abnormal (Ko *et al.*, 2014). Morfologi sperma abnormal dapat mengganggu kemampuan pergerakan sel sperma, sehingga berpengaruh terhadap penurunan motilitas sperma. Kemampuan pergerakan (motilitas) sel sperma berperan penting dalam proses fertilisasi sperma dengan ovum (Setiawan *et al.*, 2022^b).

Reactive Oxygen Species memiliki sifat reaktif dalam mengganggu permeabilitas sel sperma terutama lapisan lipid sebagai struktur pembentuk lapisan membran sel (El-Tantawy, 2016; Bardweel *et al.*, 2018; Riesco *et al.*, 2021). Permeabilitas membran yang terganggu dapat menyebabkan viabilitas sperma (kemampuan hidup) menurun (Octaviani *et al.*, 2021). Pemberian dosis parasetamol 0,5 g/kg BB tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan pada jumlah sel sperma, namun secara fisiologis dapat menurunkan viabilitas dan morfologi sperma, serta peningkatan morfologi sperma abnormal (Setiawan *et al.*, 2020). Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah diduga dapat menangkal radikal bebas akibat induksi parasetamol dosis toksik. Bayam merah diduga memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Pratiwi *et al.*, 2022). Daun tersebut memiliki senyawa quercetin (golongan flavonoid) sebesar 4,89 (mg QE/100 g). Senyawa tersebut diduga melindungi DNA dan membran pada sel sperma akibat radikal bebas dan mencegah terjadinya kematian sel sperma (memertahankan viabilitas sel) dengan menghambat proses peroksidasi lipid (Hasanah,

2015). Dengan demikian, mekanisme antioksidan dalam me-ningkatkan motilitas sperma yaitu dengan melindungi sel-sel sperma dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Vinnata *et al.*, 2018). Antioksidan pada bayam merah diduga juga melindungi mitokondria pada sel sperma dari kerusakan oksidatif. Hal tersebut menyebabkan perlindungan pada mitokondria, sehingga sel viabilitas dan

motilitas sperma dapat stabil (Arundani *et al.*, 2021).

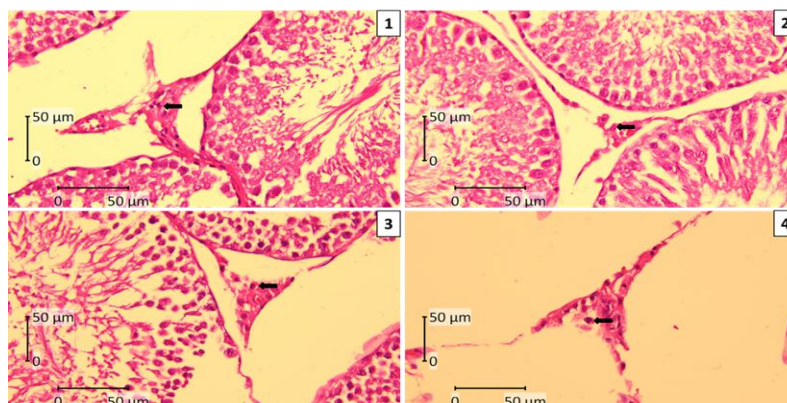
Indeks Gonad dan Struktur Histologi Testis

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bayam merah dapat melindungi kerusakan testis akibat pemberian parasetamol dosis toksik. Hal tersebut disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil indeks gonad dan histologi testis tikus wistar setelah perlakuan

Variabel	Kontrol	KN	P1	P2
Bobot testis (g)	1,37±0,12 ^a	1,40±0,15 ^a	1,34±0,12 ^a	1,27±0,09 ^a
Indeks gonad (%)	0,56±0,09 ^a	0,68±0,05 ^a	0,62±0,07 ^a	0,57±0,08 ^a
Jumlah sel Leydig	144,25±6,76 ^b	108,75±7,69 ^a	147,00±7,45 ^b	161,00±12,92 ^b
IS (%)	84,76±0,74 ^b	78,78±1,52 ^a	82,08±0,50 ^{ab}	83,59±2,10 ^b

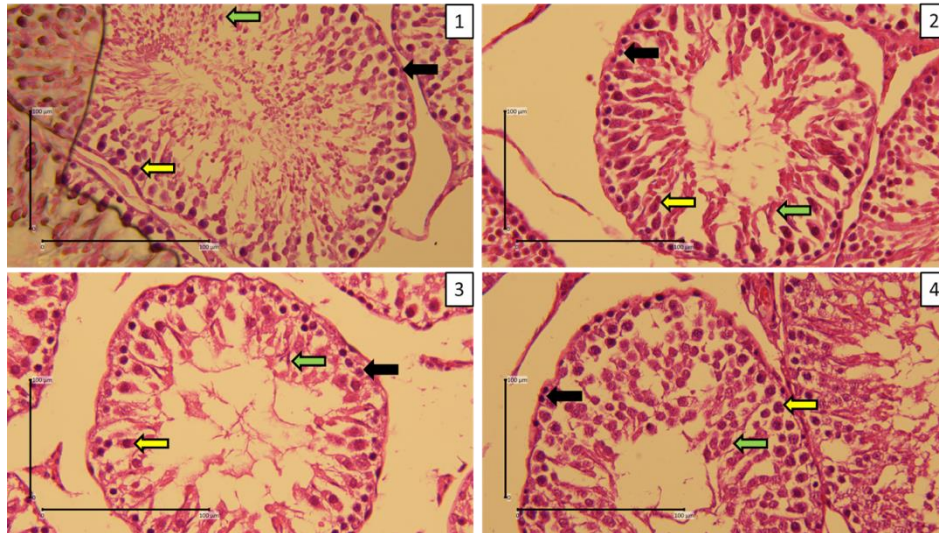
Keterangan: Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), IS (Indeks Spermatogenesis). Superscript a-b yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P<0,05$). Mean ± SD.



Gambar 1. Histologi sel leydig setelah perlakuan. Keterangan: 1(Kontrol/pemberian akuades), 2 (KN/ parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), 3 (P1/ ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), 4 (P2/ ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), Panah hitam (sel leydig di jaringan interstitial tubulus seminiferus), scale bar 50 µm, pewarnaan HE

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara signifikan pada bobot testis dan indeks gonad ($P<0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis toksik dan pemberian bayam merah tidak memengaruhi perubahan pada bobot testis

selama perlakuan, namun pada jumlah sel leydig dan indeks spermatogenesis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P<0,05$). Hasil menunjukkan pada dosis 0,4 g/kg BB dan 0,8 g/kg BB memiliki jumlah sel 191leydig dan indeks 191leydig191ogenic191s



Gambar 2. Histologi tubulus 192eydig192ogeni setelah perlakuan. Keterangan: 1(Kontrol/pemberian akuades), 2 (KN/ parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), 3 (P1/ ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), 4 (P2/ ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), Panah hitam (sel spermatogonium), panah kuning (sel spermatisit), panah hijau (sel spermatid)), scale bar 100 μ m, pewarnaan HE.

Pada Gambar 1 diperlihatkan susunan sel 192eydig pada seluruh perlakuan dengan sel 192eydig pada dosis 0,4 g/kg BB dan 0,8 g/kg BB memiliki jumlah yang banyak dan tersusun padat. Pada Gambar 2, terlihat susunan sel 192eydig192ogeni pada Kontrol cenderung padat, sedangkan pada KN sel 192eydig192ogeni tersusun tidak beraturan dengan lumen yang luas. Pada dosis 0,4 g/kg BB dan 0,8 g/kg terdapat upaya sel dalam memperbaiki susunan dari sel spermatogenic di dalam tubulus seminiferous (Gambar 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dapat melindungi sel 192eydig dan indeks spermatogenesis akibat pemberian parasetamol dosis toksik.

Parasetamol di dalam tubuh dimetabolisme di organ hati melalui proses oksidasi oleh protein-protein sitorom 450 (CYP-450) yang menghasilkan NAPQI (produk radikal bebas yang berikatan dengan *gluthation* di hati). Ketika parasetamol dikonsumsi secara berlebihan, maka NAPQI akan meningkat dan tidak sebanding dengan jumlah *gluthation* di hati, sehingga NAPQI didistribusikan ke seluruh tubuh dan berikatan dengan sel dan komponennya

seperti lemak, protein, karbohidrat, DNA dan RNA (Indahsari, 2017; Rosahdi *et al.*, 2013). Sel leydig juga mengandung lipid (kolesterol) yang menyebabkan senyawa radikal bebas mu-sudah berikatan dengan sel tersebut (Gartner, 2019; Darbandi *et al.*, 2018). Hal ini menyebabkan terbentuknya stress oksidatif dengan cara mengaktifkan aksis *hipo-talamus-pituitari-adrenal* (HPA) dan melepaskan hormon kortikosteron sebagai respons terhadap stres. Meningkatnya hormon kortisol akan mengganggu sekresi hormon *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH), sehingga menurunkan sekresi hormon *Leutenizing Hormon* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormon* (FSH). Menurunnya LH akan mengakibatkan penurunan proliferasi sel germinativum yang berdampak terjadinya apoptosis (Sari, 2018). Proses apoptosis ini dapat mengurangi jumlah sel spermatogenic yang berproliferasi di dalam tubulus seminiferous.

Testis sebagian besar tersusun oleh *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Radikal bebas NAPQI yang dihasilkan oleh parasetamol mudah bereaksi dengan PUFA,

sehingga mengakibatkan peroksidasi lipid (Marianti *et al.*, 2013). Peroksidasi lipid ini akan menghambat kerja aksis *hypothalamus-hipofisis-testis*, sehingga mengganggu sekresi FSH dan LH. Hal tersebut menyebabkan produksi hormon testosteron pada sel leydig menurun dan akan berdampak pada proses spermatogenesis (Plunk dan Richards, 2017). Hal tersebut diduga menjadi penyebab berkurangnya sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus, sehingga persentase indeks spermatogenesis menurun pada perlakuan kontrol negatif.

Kandungan kuersetin pada bayam merah memiliki kemampuan untuk memperlambat atau mencegah reaksi oksidasi (Gustia *et al.*, 2017). Kuersetin berperan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan dari dalam tubuh, seperti *glutathione s-transferase* (GST), *Superoksida Dismutase* (SOD) dan katalase untuk menangkal radikal bebas (Diao *et al.*, 2019, Bharti *et al.*, 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks spermatogenesis dan jumlah sel leydig pada dosis 0,4 g/kg BB dan 0,8 g/kg BB memiliki nilai rerata yang sama dengan kontrol ($P < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat upaya pre-ventif dari ekstrak dalam menangkal radikal bebas akibat parasetamol. Berdasarkan dari beberapa parameter yang telah diteliti, dosis 0,4 g/kg BB merupakan dosis yang paling efektif ekstrak etanol daun bayam merah dalam melindungi organ reproduksi tikus wistar setelah diinduksi parasetamol dosis toksik.

SIMPULAN

Simpulan penelitian adalah ekstrak etanol daun bayam merah mampu melindungi kerusakan organ reproduksi sehingga kualitas sperma dan histologi testis tikus wistar setelah diinduksi parasetamol dengan dosis toksik tidak terganggu.

SARAN

Saran untuk penelitian perlu dilakukan analisis kadar MDA dan SOD untuk mengetahui aktivitas enzimatis

antioksidan di dalam tubuh, serta analisis kadar hormon testosteron untuk mengetahui informasi efek hormonal antioksidan daun bayam merah dalam melindungi sistem reproduksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Ahmad Dahlan 2023 dengan nomor PD-032/SP3/LPPM-UAD/VIII/2023. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksu E H, Özkaraca M, Kandemir FM, Ömür AD, Eldutar E, Küçükler S, dan Çomaklı S. 2016. Mitigation of Paracetamol-Induced Reproductive Damage by Chrysin in Male Rats via Reducing Oxidative Stress. *Andrologia* 48(10): 1145-1154 <https://doi.org/10.1111/and.12553>
- Arundani P, Itishom R, dan Purwanto B. 2021. Pemberian Ekstrak Rumpuk Kebar (*Biophytum petersianum* Klotszsch) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus. *Oceana Biomedicina Journal* 4(1): 26-37. <https://doi.org/10.30649/obj.v4i1.58>
- Bardaweel SK, Gul M, Alzweiri M, Ishaqat A, ALSalamat HA, Bashatwah RM. 2018. Reactive Oxygen Species: the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. *Eurasian J Med* 50: 193-201. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2018.17397>.
- BRIN. 2021. Penelitian BRIN Ungkap Teluk Jakarta Tercemar Paracetamol. <https://www.cnbcindonesia.com/tech/20211004122122-37-281208/penelitian-brin-ungkap-teluk-jakarta-tercemar-paracetamol>. Diakses pada tanggal 24 Agustus 2023.

- British Broadcasting Corporation* (BBC). 2022. Paracetamol di Sungai Citarum lebih tinggi dua kali lipat dari Teluk Jakarta, menurut penelitian. <https://www.bbc.com/indonesia/majalah-60389741>. Diakses pada tanggal 24 Agustus 2023.
- Bharti S, Misro MM, Rai U. 2014. Quercetin supplementation restores testicular function and augments germ cell survival in the estrogenized rats. *Molecular and Cellular Endocrinology* 383(1-2): 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.11.021>
- Darbandi M, Darbandi S, Agarwal A, Sengupta P, Durairajanayagam D, Henkel R, & Sadeghi MR. 2018. Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology* 16(1): 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0406-2>
- Diao R, Gan H, Tian F, Cai X, Zhen W, Song X, & Duan YG. 2019. In vitro antioxidation effect of Quercetin on sperm function from the infertile patients with leukocytospermia. *American Journal of Reproductive Immunology* 82(3): e13155. <https://doi.org/10.1111/aji.13155>.
- El-Tantawy WH. 2016. Antioxidant Effects of Spirulina supplement Against Lead Acetate-Induced Hepatic Injury in Rats. *J Tradit Complement Med* 6(4): 327-331. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.02.001>
- Gartner LP. 2019. *BRS Cell Biology and Histology*. Eighth Edition. Wolters Kluwer.
- Gustia SJ, Septiawan I, Iskandinata I. 2017. Ekstraksi Flavonoid dari Bayam Merah (*Alternanthera amoena* Voss). *Jurnal Integrasi Proses* 6(4): 162-167. <http://dx.doi.org/10.36055/jip.v6i4.2470>.
- Hasanah A. 2015. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Saintika Medika* 11(2): 92-101. <https://doi.org/10.22219/sm.v11i2.4203>
- Hurtado-Gonzalez P, Mitchell RT. 2017. Analgesic use in pregnancy and male reproductive development. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity Journal* 24(3): 225. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000338>
- Indahsari NK. 2017. Histopatologi Hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan parasetamol dosis toksik pasca pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Kimia Riset* 2(2): 123-130. <https://doi.org/10.20473/jkr.v2i2.6700>
- Isrul M, Dewi C, Wahdini V. 2020. Uji Efek Antiinflamasi Infusa Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Mandala Pharmacoin Indonesia* 6(2): 97-103. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i1.61>
- Ko EY, Sabanegh ES, Agarwal A. 2014. Male Infertility Testing: Reactive Oxygen Species and Antioxidant Capacity. *Fertility and Sterility* 102(6): 1518-1527. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.020>
- Luangpirom A, Kourchampa W, Junaimuang T. 2012. Attenuating Effect of *Allium ascalonicum* L. on Paracetamol Induced Seminal Quality Impairment in Mice. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(13): 2655-2659. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1602>
- Marianti A, Utami NR, Christijanti W. 2013. Aktivitas antioksidan madu floral terhadap profil lipid darah tikus putih hiperlipidemik. *Saintekno* 11(1): 1-8. <https://doi.org/10.15294/saintekno.v11i1.5559>.
- Mohammed HO, Sabry RM. 2020. The Possible Role of Curcumin against Changes Caused by Paracetamol in

- Testis of Adult Albino Rat (Histological, Immunohistochemical and Biochemical Study). *Egyptian Journal of Histology* 43(3): 819-834. <https://doi.org/10.21608/EJH.2019.18599.1189>
- Octaviani NAA, Utomo B, Sunarso A, Hamid I S, Madyawati SP, Suprayogi TW. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Paparan Panas. *Ovozoa* 10(3): 65-71. <https://doi.org/10.20473/ovz.v10i3.2021.65-71>
- Parhizkar S, Yusoff MJ, Dollah MA. 2013. Effect of Phaleria macrocarpa on Sperm Characteristics in Adult Rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 3(2): 345-352. doi: <http://dx.doi.org/10.5681/apb.2013.056>
- Plunk EC, Richards SM. 2020. Endocrine Disrupting Air Pollutants and Their Effects on the Hypothalamus-Pituitary-Gonadal Axis. *Int J Mol Sci* 21: 1-24. <https://doi.org/10.3390/ijms21239191>
- Pradana DA, Rahmah FS, Setyaningrum TR. 2016. Potensi antihiperlipidemia ekstrak etanolik daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terstandar secara in vivo berdasarkan parameter LDL (*Low Density Lipoprotein*). *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis* 2(2): 122-128. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2016.2.272>
- Pratiwi A, Aji OR, Sumbudi M. 2022. Growth Response and Biochemistry of Red Spinach (*Amaranthus tricolor* L.) with the Application of Liquid Organic Fertilizer *Lemna* sp. *Journal of Biotechnology and Natural Science* 2(2): 61-69. <https://doi.org/10.12928/jbns.v2i2.6877>
- Ramadhan A, Lubis YM, Nasution SW, Nasution R, Lestari S, Girsang E, Nasution AN. 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) dan Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai Nefroprotektor terhadap Tikus yang di Induksi Paracetamol. *Jurnal Farmacia* 1(1): 8-15.
- Rayburn ER, Gao L, Ding J, Ding S, Hongxia S, Jun H, Li H. 2017. FDA-Approved Drugs that are Spermatotoxic in Animals and the Utility of Animal Testing for Human Risk Prediction. *J Assist Reprod Genet* 35(2): 191-212. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1062-8>
- Riesco MF, Alvarez M, Anel-Lopez L, Neila-Montero M, Palacin-Martinez C, Montes-Garrido R, Boixo JC, de Paz P, Anel L. 2021. Multiparametric Study of Antioxidant Effect on Ram Sperm Cryopreservation-from Field Trials to Research Bench. *Animals* 11(283): 1-14. <https://doi.org/10.3390/ani11020283>
- Rosahdi TD, Kusmiyati M, Wijayanti FR. 2013. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih dengan Metode DPPH. *Jurnal Istek* 7(1): 1-15.
- Sari LM. 2018. Apoptosis: Mekanisme molekuler kematian sel. *Cakradonya Dental Journal*, 10(2): 65-70. <https://doi.org/10.24815/cdj.v10i2.11701>
- Sari RM, Rita RS, Anas E. 2018. Pengaruh pemberian isolat katekin gambir (*Uncaria gambir* Roxb) terhadap kadar hormon testosteron dan jumlah spermatozoa tikus *Rattus norvegicus* jantan hiperglikemia. *Jurnal Kesehatan Andalas* 7: 6-9. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i0.851>
- Setiawan H, Wulandari SW, Aruan SY, Prihandana PR. 2022^a. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina terhadap Indeks Gonadosomatik dan Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Wistar. *Acta Veterinaria Indo-nesiana* 10(3): 245-252.

<https://doi.org/10.29244/avi.10.3.245-252>

- Setiawan H, Wulandari SW, Fachmi MN. 2022^b. Efek Antispermatogenik Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina Terhadap Kualitas Sperma dan Morfologi Epididimis Tikus Wistar. *Berita Biologi* 20(3): 19-27.
- Setiawan H, Maliza R, Maulana SA, Hisbullah MI. 2020. The Effect of Coffee Fruit Skin Extract on Sperm Characteristics And Testicular of Mice With Ethanol-Induced. *Jurnal Biodjati* 5(2): 259-270. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v5i2.9280>
- Setiawan H, Utami LB, Zulfikar M. 2018^a. Serbuk Daun Jambu Biji Memperbaiki Performans Pertumbuhan dan Morfologi Duodenum Ayam Jawa Super. *Jurnal Veteriner* 19(4): 554-567. DOI:10.19087/jveteriner.2018.19.4.5.
- Setiawan H, Jingga ME, Saragih HT. 2018^b. The effect of cashew leaf extract on small intestine morphology and growth performance of Jawa Super chicken. *Veterinary World* 11(8): 1047-1054. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1047-1054>.
- Sharma C, Mehta V. 2014. Paracetamol: mechanisms and updates. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain* 14(4): 153-158. <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkt049>
- Vinnata NN, Salni, Nita S. 2018. Pemberian Fraksi Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) Terhadap Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kesehatan* 9(3): 366-375. <https://doi.org/10.26630/jk.v9i3.1021>
- Wahyuni H, Diana VE, Suprianto. 2019. Rasionalitas Penggunaan dan Kelengkapan Resep Non Steroid Anti Inflamasi Drugs (NSAID) pada Tiga Puskesmas di Kabupaten Gayo Lues. *Jurnal Dunia Farmasi* 3(2): 69-78. <https://doi.org/10.33085/jdf.v3i2.4471>
- Wedhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* 3(2): 59-68.