

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infertilitas merupakan masalah di seluruh dunia dan dialami oleh 10-15% pasangan suami istri (Fritz dan Speroff, 2011). Anggapan yang berkembang di masyarakat bahwa infertilitas disebabkan oleh wanita, padahal pada pria juga dapat terjadi infertilitas sebesar 20-40%, pada wanita 30-55% , faktor gabungan 35% dan penyebab yang tidak dapat diketahui penyebabnya 5-15% (Mascarenhas *et al.*, 2012; Inhorn dan Patrizio, 2015).

Kumar dan Singh (2015) melaporkan bahwa infertilitas pada pria dapat disebabkan oleh: 1. Gangguan pretestikuler merupakan gangguan yang terdapat di luar testis dan berpengaruh terhadap proses spermatogenesis. Gangguan pretestikuler terjadi pada hipotalamus dan hipofisis yang berkaitan dengan menurunnya produksi hormon *Follicle Stimulating Hormon (FSH)* dan *Luteinizing Hormon (LH)* yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis; 2. Gangguan testikuler merupakan gangguan yang terjadi pada testis yaitu pada tubulus seminiferus yang dapat mempengaruhi proses spermatogenesis dan pada sel *Leydig* yang dapat mengganggu pembentukan hormon testosteron; 3. Gangguan postestikuler merupakan gangguan yang terjadi di luar testis yaitu pada spermatozoa di epididimis setelah keluar dari tubulus seminiferus. Terjadinya gangguan infertilitas pada pria ini dapat disebabkan oleh infeksi, trauma, merokok, alkohol, radiasi, diabetes melitus, penggunaan obat, keracunan logam berat (As, Pb, Cd, Hg) dan keracunan *Ethylene Glycol Monomethyl Ether (2-Methoxyethanol)* (WHO, 2009; Choy dan Ellsworth, 2012; Sharma, 2017).

2-Methoxyethanol (2-ME) adalah senyawa *glycol ether* yang terdapat dalam berbagai produk industri yang meliputi cat, tinta, tiner, pernis, cat kuku, cairan hidrolis, bahan plastik, bahan bakar pesawat dan industri makanan (Johanson, 2000; Brent, 2001; Boatman, 2005). *2-ME* masuk ke dalam tubuh hewan dan manusia melalui inhalasi, peroral dan topikal, yang selanjutnya akan di oksidasi oleh *Alcohol dehydrogenase* menjadi *methoxyaldehyde (MALD)*; dan *MALD* secara cepat di oksidasi oleh *aldehyde dehydrogenase* menjadi *methoxyacetic acid (MAA)* yang merupakan metabolit stabil dan sangat toksik (Hays *et al.*, 2000; Dayan dan Hales, 2014). Beberapa peneliti melaporkan bahwa *2-ME* dan metabolitnya yaitu *MAA* dapat menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi jantan dan spermatozoa sehingga dapat terjadi infertilitas (Berndtson dan Foote, 1997; Hayati dkk., 2005; Adedara dan Farombi, 2010). Paparan *2-ME* dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik (spermatogonia, spermatisit dan spermatid), viabilitas, motilitas, jumlah dan konsentrasi spermatozoa, serta menghambat ekspresi protein membran spermatozoa di epididimis dan di testis (Wang *et al.*, 2006; Suparniasri, 2007; Adeyemo-Salami dan Farombi, 2018). *2-ME* juga dapat menyebabkan kerusakan testis (Watanabe *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000; Welsch, 2005), menghambat sekresi *androgen binding protein* (Tirado *et al.*, 2003; Bagchi *et al.*, 2009), penurunan kadar testosteron dan kadar *Follicle Stimulating Hormone (FSH)* (Supadmi, 2009). *2-ME* juga dapat menghambat aktivitas antioksidan endogen seperti *Superoxide dismutase (SOD)*, *Catalase (Cat)* dan *Glutathione Peroxidase (GPx)* (Adedara dan Farombi, 2012; Kumar and Singh, 2018; ElSawy *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan pada populasi manusia masih sedikit, namun telah dilaporkan bahwa pekerja pengecat di galangan kapal dan pengecoran logam yang

terpapar *2-ME* yang ditunjukkan dengan adanya metabolit *MAA* dalam urin, dapat terjadi oligospermia dengan kualitas spermatozoa yang rendah yang dapat menyebabkan infertil (Welch *et al.*, 1988; Ratcliffe *et al.*, 1989; Cherry *et al.*, 2007)

Stres oksidatif mempunyai peran yang sangat penting pada mekanisme kerja *2-ME* dan *MMA* dalam menyebabkan penurunan kualitas dan kuantitas sel spermatozoa pada epididimis, dan kerusakan testis (Hayati dkk., 2014; Kumar dan Sing, 2018). Stres Oksidasi dapat terjadi karena adanya peningkatan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang meliputi *superoxide (O_2^-)*, *hydroxyl radical (*OH)*, *hydrogen peroxides (H_2O_2)* dan penurunan antioksidan endogen yang meliputi *Superoxide Dismutase*, *Catalase* dan *Glutathion Peroxidase*. Enzim *catalase* dan *glutathion peroksidase* bekerja dengan cara mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 sedangkan *Superoxide Dismutase* bekerja dengan cara mengkatalisis reaksi dismutasi dari radikal anion superoksida menjadi H_2O_2 (Agarwal *et al.*, 2003; Aitken dan Roman, 2008; Adewoyin *et al.*, 2017). Radikal hidroksil adalah *ROS* yang paling toksik. *ROS* mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik. Reaksi *ROS* juga dapat secara langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida. *ROS* yang berlebihan dapat merusak lipid, protein, atau *Deoxyribonucleic acid (DNA)*, dan dapat menghambat fungsi normal sel (Bozhedomov *et al.*, 2009; Du Plessis *et al.*, 2015). *ROS* juga dapat memodulasi ekspresi gen, adhesi sel, metabolisme sel, siklus sel, dan kematian sel. Kejadian tersebut dapat menginduksi kerusakan oksidatif *DNA* dan dapat meningkatkan kerusakan kromosom yang berhubungan dengan transformasi sel. (Darmawan, 2007; Zribi *et al.*, 2011).

Ketidakeimbangan anantara *ROS* dan antioksidan ini akan menyebabkan oksidasi pada lemak, protein dan *DNA* sel spermatogenik, sel *Leydig* dan sel *Sertoli* pada testis dan sel spermatozoa pada epididimis sehingga akan terjadi kerusakan oksidatif pada lemak membran sel, molekul protein dan *DNA* yang dapat menghasilkan *Malondialdehyde (MDA)* (Bagchi *et al.*, 2010; Kumar dan Sing, 2018; Elsayy *et al.*, 2019). Kadar *MDA* yang tinggi dalam plasma dan jaringan dapat digunakan sebagai indikator adanya radikal bebas dan kerusakan oksidatif pada membran sel, karena radikal bebas yang menyerang membran sel yang mengandung asam lemak tak jenuh ganda akan membentuk *MDA* (peroksida lipid) yang merupakan salah satu produk akhir peroksidasi lipid (Del Rio *et al.*, 2005; Hayati *et al.*, 2006).

Kerusakan akibat paparan *2-ME* dan *MAA* pada spermatozoa dan testis dapat dihambat dengan pemberian antioksidan (Adedara and Farombi, 2012; Adeyemo-Salami dan Farombi, 2018; Kumar dan Sing, 2018). Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*) secara biologis. Pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat diredam (Carocho dan Ferreira, 2013). Antioksidan dapat menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas atau menetralkan dan merusak radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti *DNA*, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit (Darmawan, 2007; Sindhi *et al.*, 2013; Carocho dan Ferreira, 2013)

Antioksidan eksogen seperti vitamin C dan E telah dilaporkan dapat digunakan untuk melindungi kerusakan sel spermatozoa dan testis akibat meningkatnya produksi *ROS* (radikal bebas) pada paparan *2-ME* (Uzun *et al.*, 2009, Adewoyin *et al.*, 2017).

Indonesia sebagai negara tropis yang dikenal dengan julukan *The Second Mega Biodiversity*, memiliki berbagai jenis tanaman yang diketahui mempunyai khasiat antioksidan. Beberapa peneliti melaporkan bahwa antioksidan yang berasal dari tanaman seperti *Tribulus terrestris*, *Withania somnifera*, *Garcinia kola* dan *Garcinia mangostana* dapat digunakan sebagai protektor pada kerusakan sel spermatozoa dan testis akibat paparan *2-ME* (Zheleva-dimitrova *et al.*, 2012; Hayati dkk., 2017; Kumar dan Sing, 2018).

WHO menyatakan sekitar 80% penduduk di dunia menggunakan obat tradisional yang berasal dari tanaman (Verma dan Singh, 2008). Pemanfaatan tanaman obat tersebut meliputi pencegahan dan pengobatan suatu penyakit maupun pemeliharaan kesehatan. Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk pengobatan tradisional adalah manggis (*Garcinia mangostana L.*), terutama pemanfaatan kulit buahnya (Jung *et al.*, 2006; Konda *et al.*, 2009; Nugroho, 2011). Beberapa penelitian telah membuktikan aktivitas farmakologi dari senyawa yang terkandung dalam kulit buah manggis dapat digunakan sebagai antioksidan (Zarena dan Sankar, 2009; Hadriyono, 2011; Suttirak dan Manurakchinakorn, 2014). *Garcinia mangostana* mengandung senyawa aktif *Xanthones*, *Benzophenones*, *Hydroxycitric Acid*, dan *Anthocyanins* (Chin and Kinghorn, 2008; Obolskiy *et al.*, 2009; Jindarat, 2014). *Xanthone* merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa *polyphenolic*. Kulit buah manggis dapat menghasilkan senyawa *xanthone*

yang kadarnya dapat mencapai 123,97 mg/ml. *Xanthone* memiliki gugus *hidroksida* (OH^-) yang efektif mengikat radikal bebas di dalam tubuh (Martinez *et al.*, 2012). Dilihat dari nilai *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) *xanthone* mencapai 17.000-20.000 per 100 ons (sekitar 2,835 gram kulit buah manggis) (Gutierrez-Orozco dan Mark, 2014). Dibandingkan dengan sumber antioksidan lain seperti anggur yang hanya 1.100, sedangkan apel 1.400. ORAC merupakan kemampuan antioksidan menetralkan radikal bebas. Kemampuan antioksidan *xanthone* bahkan melebihi vitamin A, C dan E yang selama ini dikenal sebagai antioksidan paling efektif dalam melawan radikal bebas yang ada dalam tubuh (Kurniawati *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2017). Oleh karena *xanthone* mempunyai efek antioksidan yang sangat kuat maka sangat perlu dilakukan penelitian untuk menjelaskan mekanisme kerja *xanthone* dalam mencegah kerusakan sel spermatozoa dan testis mencit yang di induksi dengan 2-*ME*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan motilitas spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*) ?
2. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan viabilitas spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*) ?
3. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan morfologi spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*) ?
4. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan konsentrasi

- spermatozoa pada mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
5. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan jumlah sel spermatogenik pada mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 6. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan jumlah sel *Sertoli* pada mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 7. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan jumlah sel *Leydig* pada mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 8. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 9. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan diameter epitel tubulus seminiferus pada mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 10. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat peningkatan ekspresi MDA pada testis (sel permatogenik, sel *Sertoli* dan sel *Leydig*) mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 11. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan ekspresi *glutathione peroxidase (GPx)* pada testis (sel permatogenik, sel *Sertoli* dan sel *Leydig*) mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?
 12. Apakah pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan ekspresi *superoxide dismutase (SOD)* pada (sel permatogenik, sel *Sertoli* dan sel *Leydig*) testis mencit yang di induksi *2-Methoxyethanol (2-ME)* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum dalam penelitian ini adalah menjelaskan mekanisme kerja

xanthone dalam memproteksi testis mencit yang di induksi 2- *methoxyethanol* (2-*ME*).

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah :

1. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan motilitas spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
2. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan viabilitas spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
3. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan morfologi spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
4. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan konsentrasi spermatozoa pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
5. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan jumlah sel spermatogenik pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
6. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan jumlah sel *Sertoli* pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
7. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan jumlah sel *Leydig* pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
8. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan tebal epitel tubulus seminiferus pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).

9. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan diameter epitel tubulus seminiferus pada mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
10. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat peningkatan ekspresi *MDA* pada testis (sel permatogenik, sel *Sertoli* dan sel *Leydig*) mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
11. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan ekspresi *glutathione peroxidase* (*GPx*) pada testis (sel permatogenik, sel *Sertoli* dan sel *Leydig*) mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).
12. Membuktikan bahwa pemberian *xanthone* dapat menghambat penurunan ekspresi *superoxide dismutase* (*SOD*) pada testis (sel permatogenik, sel *Sertoli* dan sel *Leydig*) mencit yang di induksi 2-*Methoxyethanol* (2-*ME*).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi dan memberikan kontribusi dalam menyajikan informasi ilmiah tentang mekanisme kerja *xanthone* dalam memproteksi testis pada mencit yang di induksi 2-*methoxyethanol* (2-*ME*). Data ilmiah yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai rujukan penelitian selanjutnya yang terkait dengan *xanthone* sebagai senyawa antioksidan untuk mencegah kerusakan pada testis.

1.4.2 Manfaat praktis

Pada penelitian ini diharapkan dapat dilakukan penelitian lanjutan sehingga hasilnya nanti dapat memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang

xanthone dapat digunakan untuk mencegah terjadinya infertilitas akibat pemakaian bahan-bahan kimia seperti *2-ME*, yang berisiko terhadap kesehatan reproduksi terutama pada spermatozoa dan testis.