

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Potensi Ekstrak Rumput Kebar terhadap Konsentrasi Spermatozoa Mencit Diabetes Melitus

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar dapat meningkatkan jumlah konsentrasi spermatozoa pada kelompok perlakuan (P3) yang diberikan ekstrak rumput kebar dosis 270 mg/kgBB dan terapi obat metformin selama 35 hari. Pemberian ekstrak rumput kebar pada penelitian ini terbukti dapat meningkatkan jumlah konsentrasi spermatozoa. Antioksidan yang terkandung dalam rumput kebar diperlukan untuk menetralkan dan menghancurkan radikal bebas, mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif, mengubah oksigen reaktif menjadi kurang toksik dan memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang ditimbulkan. Terapi metformin diberikan sebagai obat antidiabetes yang bekerja dengan mengurangi kadar glukosa dan terapi metformin sebagai terapi primer untuk mencegah hiperglikemia yang menyebabkan terjadi stress oksidatif pada testis sedangkan pemberian ekstrak rumput kebar sebagai adjuvan yang dapat membantu perbaikan infertilitas yang diakibatkan oleh diabetes melitus.

Penelitian yang dilakukan oleh Lefaan (2014) menunjukkan rumput kebar mengandung tiga jenis senyawa kimia yang berpotensi memberikan pengaruh terhadap proses spermatogenesis, yaitu flavonoid, saponin dan tannin. Metabolisme flavonoid dalam tubuh akan menghasilkan *O-methylated* sebagai antioksidan. Kemampuan *O-methylated* yakni dapat mencegah kematian sel (apoptosis) yang diinduksi oleh hydrogen peroksida. Hal ini sehubungan dengan

aktivitasnya mendonorkan atom hydrogen yang berkaitan dengan radikal bebas (Spancer, 2003). Menurut Yasmin (2010) flavonoid bekerja sebagai antioksidan yang dapat menetralsir radikal bebas dan meningkatkan kualitas sperma. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Shabrina (2019) menunjukkan terjadi peningkatan jumlah spermatozoa pada kelompok yang diberikan *Spirulina Platensis* pada dosis 144 mg/KgBB. Hal ini menunjukkan bahwa *Spirulina platesis* mampu meningkatkan jumlah spermatozoa berdasarkan kandungan protein dan antioksidan yang terkandung dalam *Spirulina Platesis*.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa diabetes dapat menurunkan secara signifikan konsentrasi spermatozoa pada kelompok kontrol positif (K+). Hal ini disebabkan tingginya kadar glukosa darah pada penderita diabetes melitus berperan dalam kerusakan sel dengan cara peningkatan *Reactive Oxygen Spescies* (ROS). Hal ini dapat mengakibatkan stres oksidatif jaringan yang pada akhirnya merusak membran mitokondria. Stres oksidatif mengakibatkan kerusakan endotel pembuluh darah dan menyebabkan mikroangiopati yang dapat mengganggu pemberian nutrisi melalui pembuluh darah dalam membentuk spermatozoa sehingga tahapan spermatogenesis pada organ testis tidak sempurna (Adelati dkk., 2016). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Shabrina *et al*, (2019) tentang pengaruh *Spirulina platensis* suspensi pada kualitas dan kuantitas sperma dan ekspresi caspase-3 pada testis tikus yang diinduksi Streptozotocin menunjukkan bahwa jumlah spermatozoa pada tikus diabetes menurun secara signifikan dibandingkan dengan kelompok normal. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Khaki *et al.*, (2009) menunjukkan jumlah spermatozoa dan motilitas signifikan menurun pada tikus yang diinjeksi streptozotocin.

Hiperglikemia pada DM dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Berlebihnya kadar oksidan dapat menyebabkan kerusakan jaringan melalui lima mekanisme utama, yakni: meningkatkan aliran glukosa melalui jalur poliol, meningkatkan pembentukan Advanced Glycation End-products (AGE), peningkatan reseptor AGE, aktivasi protein kinase C (PKC), dan overaktivitas dari jalur hesoxamine (Giacco dan Brownlee, 2011). ROS menyebabkan kebocoran elektron spermatozoa melalui dua mekanisme, yaitu (1) nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase system, yang terjadi pada membrane plasma sperma dan/atau (2) reaksi nicotinamide adenine nucleotide-dependant oxido-reductase, yang terjadi pada mitokondria. Sel sperma kaya akan mitokondria karena sel sperma membutuhkan banyak energi untuk motilitasnya, sehingga mekanisme nomor (2) lebih dominan terjadi (Vignera *et al.*, 2012). Kerusakan mitokondria akibat stres oksidatif dapat memicu pelepasan sitokrom C dan aktivasi kaspase yang menyebabkan apoptosis sel spermatogenik (Guneli *et al.*, 2008).

Diabetes melitus juga menyebabkan berkurangnya produksi hormon testosteron yang diperlukan untuk mengawali, mempertahankan proses spermatogenesis dan mempertahankan kualitas spermatozoa hingga keluar dari tubuh, sehingga terjadi penurunan kadar testosteron yang signifikan pada kadar glukosa darah yang tinggi dan juga disertai penurunan LH dan FSH yang mengakibatkan terjadinya penurunan jumlah spermatozoa (Sinaga, 2016). Proses spermatogenesis yang terganggu yaitu proses perkembangan spermatogonium, spermatosit, spermatid dan spermatozoa. Gangguan pada mekanisme ini menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik (Marita, 2017).

## **6.2 Potensi Ekstrak Rumput Kebar terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit Diabetes Melitus**

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput kebar pada mencit model diabetes dapat meningkatkan tebal epitel tubulus seminiferus secara signifikan dan dosis 270 mg/kgBB/hari merupakan dosis maksimal dari ekstrak rumput kebar untuk bisa meningkatkan tebal epitel tubulus seminiferus namun ekstrak rumput kebar dengan dosis 135 mg/kgBB/hari dapat dikatakan dosis efektif karena sudah dapat tebal epitel tubulus seminiferus spermatozoa pada mencit dengan diabetes melitus. Pada kelompok perlakuan juga diberikan terapi metformin hal ini dimaksudkan agar dapat mencegah terjadinya hiperglikemia yang dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas sehingga menginduksi stress oksidatif pada jaringan testis. Rumput kebar diberikan sebagai terapi adjuvan guna untuk membantu perbaikan infertilitas yang diakibatkan oleh diabetes melitus.

Rumput kebar memiliki berbagai senyawa yang potensial untuk mencegah terjadinya oksidasi enzimatis yang diakibatkan oleh ROS. Lefaan (2014) menyatakan bahwa antioksidan aktif yang dikandung rumput kebar adalah flavonoid, saponin dan tannin. Menurut Sayuti (2015) flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang berfungsi untuk mengikat metal seperti  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Fe}^{2+}$ . Ion besi dan cuprum dalam sel dapat mengikat  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan membentuk ROS melalui jalur enzimatis. Hayati (2011) menyatakan dengan terikatnya ion-ion metal tersebut dapat mengurangi kerusakan oksidatif pada sel dan mencegah kematian sel-sel spermatogenik. Kandungan saponin pada rumput kebar memiliki fungsi untuk meningkatkan hormon testosteron melalui pembentukan prekursor testosteron yaitu pregnolon (Lefaan, 2014). Meningkatnya hormon testosteron dapat mempercepat proses spermatogenesis sehingga dengan meningkatnya

jumlah sel-sel spermatogenik maka berpotensi meningkatkan epitel germinatif penyusun lumen tubulus seminiferus.

Testis memiliki tubulus seminiferus dengan susunan lapisan sel spermatogenik sesuai dengan tingkat perkembangannya dari membran basalis menuju ke arah lumen tubulus yaitu spermatogonia, spermatosit, spermatid dan spermatozoa (Hargono dkk, 2013). Tubulus seminiferus juga dilapisi oleh sel Sertoli dan sel germinal, yang dikelilingi membran basalis (Ganong, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Clermont dan Perey (2008) tentang peningkatan rata-rata tebal tubulus seminiferus, membuktikan bahwa fertilitas pejantan tidak hanya dilihat dari jumlah sel-sel spermatogenik, tetapi juga dilihat dari tebal epitel tubulus seminiferus. Penelitian ini menunjukkan bahwa diabetes dapat berpengaruh secara signifikan pada ketebalan epitel tubulus seminiferus. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Roshankhah *et al.*, (2019) yang menunjukkan bahwa STZ sebagai inducer diabetes dapat menghasilkan kelainan pada jaringan dan parameter sperma pada testis. Selain itu, crocin sebagai antioksidan dapat meningkatkan kelangsungan hidup spermatozoa, jumlah spermatozoa, morfologi normal, motilitas tinggi serta dapat memulihkan germinal lapisan tubulus seminiferus pada tikus diabetes.

Streptozotocin mampu menginduksi DM dengan cepat, hal ini dijelaskan dalam penelitian menurut Deeds *et al.*, (2014) bahwa dalam waktu 24 jam STZ mampu menciptakan kondisi hiperglikemia. Nicotinamide dapat menghambat terjadinya DM tipe 1 dalam merusak fungsi sel beta pankreas, sehingga kombinasi NAD dan STZ hanya menyebabkan kerusakan parsial sel beta pankreas yang menciptakan hewan coba model DM tipe 2. Diabetes Melitus ditandai dengan

kondisi hiperglikemia kronis. Kondisi hiperglikemia kronis ini mampu untuk menciptakan kerusakan banyak organ didalam tubuh, salah satunya adalah organ reproduksi. Penurunan jumlah sperma berkaitan dengan peningkatan stres oksidatif karena peningkatan glukosa darah dalam jangka waktu lama. Sekitar 30 – 40% pada semen pria infertil ditemukan peningkatan ROS (Agarwal, 2014). Hewan coba yang menderita diabetes melitus karena STZ juga mempunyai tanda dan gejala yang sama pada manusia dengan diabetes melitus kronis seperti disfungsi kardial diastolik, katarak, dan neuropati (Srinivasan dan Ramarao, 2007). *Streptozotocin* dapat mempertahankan keadaan diabetik dalam periode waktu yang lama (52 minggu). STZ mampu mempengaruhi glukosa darah dalam 3 mekanisme yaitu : 1) hilangnya respon insulin terlambat dan gagal mengembalikan lonjakan gula darah prandial dalam waktu yang normal. 2) penurunan sensitifitas insulin sebagai respon terhadap glukosa sedemikian hingga menyebabkan hiperglikemia. 3) gagal memberikan stimulasi terhadap respon insulin yang wajar (Furman, 2016). STZ juga mampu menyebabkan perubahan anatomis pada organ reproduksi hewan coba dan meningkatkan stres oksidatif yang dapat mengakibatkan berkurangnya sel-sel testikuler melalui induksi apoptosis sel-sel organ reproduksi (Alkhamees, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian ini mencit DM tanpa diberikan metformin K- mengalami penurunan ketebalan epitel tubulus seminiferus secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa diabetes melitus dapat menyebabkan penurunan ketebalan epitel tubulus seminiferus. Diabetes meningkatkan glukosa darah dan menciptakan perubahan hispatologis yang luas pada tikus dan efek diabetes pada fungsi jaringan terhadap produksi insulin tidak memadai dan mengalami

pengurangan menyebabkan efek memburuk pada sel Sertoli dan sel Leydig. Bahkan kadar insulin menurunkan FSH sehingga mengganggu proses spermatogenesis (Kiyarifard *et al.*, 2010). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Khaneshi *et al.*, (2013) tentang pengaruh wijen pada kerusakan testis pada tikus diabetes yang diinduksi *streptozotocin* dimana terjadi atrofi dan pengurangan tebal epitel tubulus seminiferus dan diameter tubulus seminiferus serta sel-sel spermatogenik pada kelompok diabetes. Menurut Apriliani dkk (2013) Penurunan sekresi GnRH mengakibatkan penurunan sekresi LH dan FSH. LH berperan merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron, dimana testosteron dibutuhkan untuk perkembangan sel spermatogenik dan FSH berperan merangsang sel Sertoli merangsang sel Sertoli untuk menghasilkan ABP untuk mengikat testosteron sehingga memacu perkembangan spermatogonium. Adanya penurunan testosteron dan FSH memberikan pengaruh struktur testis seperti tebal tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik.

### **Keterbatasan Penelitian**

Pada penelitian ini sampel yang digunakan banyak mengalami kematian sehingga sampel yang dianalisis terbatas maka diperlukan sampel yang lebih banyak untuk hasil yang lebih valid.