

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN JUS BROKOLI (*Brasica oleracea L. var italica*)
TERHADAP KADAR MDA DARAH DAN FUNGSI ENDHOTEL
JARINGAN INTERSTISIAL TESTIS DAN JARINGAN TUBULUS
SEMINIFERUS PADA TIKUS JANTAN WISTAR
MODEL STRESS PSIKOLOGIS**



OLEH:

AHMAD NUR HUDA

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM MAGISTER
PROGRAM STUDI KESEHATAN MASYARAKAT
SURABAYA
2021**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN JUS BROKOLI (*Brasica oleracea L. var italica*)
TERHADAP KADAR MDA DARAH DAN FUNGSI ENDHOTEL
JARINGAN INTERSTISIAL TESTIS DAN JARINGAN TUBULUS
SEMINIFERUS PADA TIKUS JANTAN WISTAR
MODEL STRESS PSIKOLOGIS**



OLEH:

**AHMAD NUR HUDA
NIM 101714153014**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM MAGISTER
PROGRAM STUDI KESEHATAN MASYARAKAT
SURABAYA
2021**

**PENGARUH PEMBERIAN JUS BROKOLI (*Brasica oleracea L. var italica*)
TERHADAP KADAR MDA DARAH DAN FUNGSI ENDHOTEL
JARINGAN INTERSTISIAL TESTIS DAN JARINGAN TUBULUS
SEMINIFERUS PADA TIKUS JANTAN WISTAR
MODEL STRESS PSIKOLOGIS**

TESIS

**Untuk memperoleh gelar Magister Kesehatan
Minat Studi Gizi Kesehatan Masyarakat Program Studi Kesehatan
Masyarakat Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga**

OLEH:

**AHMAD NUR HUDA
NIM 101714153014**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM MAGISTER
PROGRAM STUDI KESEHATAN MASYARAKAT
SURABAYA
2021**

PENGESAHAN

**Dipertahankan di depan Tim Penguji Tesis
Minat Studi Gizi Kesehatan Masyarakat
Program Studi Kesehatan Masyarakat
Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga
dan diterima untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar
Magister Kesehatan (M.Kes)
Pada tanggal, 05 Februari 2021**

Mengesahkan

Universitas Airlangga Fakultas Kesehatan Masyarakat



Dekan,

**Dr. Santi Martini dr., M.Kes
NIP 196609271997022001**

Tim Penguji

- Ketua : Prof. Merryana Adriani, S.KM., M.Kes**
Anggota :
- 1. Prof. R.Bambang W., dr., M.S., M.CN., Ph.D., Sp.GK**
 - 2. Dr. Bambang Purwanto, dr., M.Kes**
 - 3. Dr. Mahmudah, Ir., M.Kes**
 - 4. Dr. Jujuk Proboningsih, S.Kp., M.Kes**

PERSETUJUAN

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Kesehatan Masyarakat (M.Kes)
Minat Gizi Kesehatan Masyarakat
Program Studi Kesehatan Masyarakat
Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga**

Oleh :

**Ahmad Nur Huda
NIM 101714153014**

Menyetujui,

Surabaya, 05 Februari 2021

Pembimbing Ketua,



**Prof. R. Bambang Wirjatmadi, dr.,MS.,MCN.,Ph.D.,Sp.GK
NIP 194903201977031002**

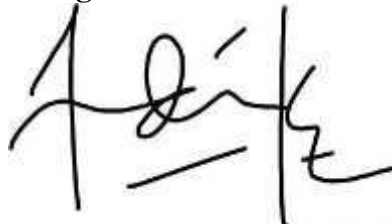
Pembimbing



**Dr. Bambang Purwanto, dr.,M.Kes
NIP 198008282006041002**

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Kesehatan Masyarakat



**Dr. Diah Indriani, S.Si., M.Si
NIP 197605032002122001**

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : Ahmad Nur Huda
NIM : 101714153014
Program Studi : Kesehatan Masyarakat
Minat Studi : Gizi Kesehatan Masyarakat
Angkatan : 2017
Jenjang : Magister

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan tesis saya yang berjudul :

Pengaruh Pemberian Jus Brokoli (*Brasica oleracea L. Var italica*) Terhadap Kadar MDA Darah Dan Fungsi Endhotel Jaringan Interstisial Testis Dan Jaringan Tubulus Seminiferus Pada Tikus Jantan Wistar Model Stress Psikologis.

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 05 Februari 2021



Ahmad Nur Huda

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur Kehadirat Allah SWT atas rahmat serta hidayah-Nya sehingga penelitian dan penyusunan tesis dengan judul **Pengaruh Pemberian Jus Brokoli (*Brasica oleracea L. Var italica*) Terhadap Kadar MDA Darah Dan Fungsi Endhotel Jaringan Interstisial Testis Dan Jaringan Tubulus Seminiferus Pada Tikus Jantan Wistar Model Stress Psikologis** ini dapat terselesaikan dengan baik.

Tesis ini berisikan tentang pemberian Jus Brokoli sebagai sumber antioksidan dalam peranannya terhadap menurunkan kadar Malondialdehide (MDA) dan penanda ekspresi HIF 1 alpha sel leydig, sel spermatozoa dan tubulus seminiferus terhadap keadaan stres oksidatif akibat paparan stres psikologis.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga, saya sampaikan kepada Prof. R. Bambang W., dr., M.S., M.CN., Ph.D., Sp.GK., selaku pembimbing ketua yang dengan perhatiannya dalam memberikan bimbingan, semangat, dan saran, hingga tesis ini bisa terselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih yang tak terhingga juga saya sampaikan kepada Dr. Bambang Purwanto, dr., M.Kes. selaku pembimbing kedua dengan kesabarannya dan perhatiannya yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan arahan, masukan, motivasi dan saran demi kesempurnaan tesis ini.

Dengan terselesaikan tesis ini, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Moh. Nasih, S.E., MT., AK., selaku Rektor Universitas Airlangga, Surabaya.
2. Dr. Santi Martini, dr., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga, Surabaya.
3. Dr. Diah Indriani, S.Si., M.Si, selaku Koordinator Program Studi Kesehatan Masyarakat Program Magister Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga, Surabaya.
4. Prof. Dr. Merryana Andriani., S.KM., M.Kes., Dr. Mahmudah, Ir., M.Kes., dan Dr. Jujuk Proboningsih, S.Kp., M.Kes., selaku penguji tesis yang telah memberi dukungan, arahan dan masukkan bagi sempurnanya penulisan tesis ini.
5. Seluruh dosen dan civitas akademik Program Studi Kesehatan Masyarakat Program Magister Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga, Surabaya.
6. Teman – teman Program Studi Kesehatan Masyarakat Program Magister Fakultas Kesehatan Masyarakat angkatan 2017 dalam mendukung, berdiskusi, dan berbagi informasi selama masa studi.
7. Kedua orang tua saya yang memberikan sumbangan dana, tenaga, pikiran dan dukungan dalam menyelesaikan pendidikan ini.
8. Semua pihak yang mendukung yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas segala bantuan tenaga, pikiran, dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan ini.

Terakhir penulis memohon maaf jika selama penyusunan dan penyelesaian tesis ini terdapat hal-hal yang kurang berkenan. Segala yang benar datangnya dari Allah SWT dan yang salah adalah kekhilafan penulis sebagai manusia biasa. Untuk itu, kritik dan saran yang bersifat membangun akan penulis terima terbuka.

Demikian semoga tesis ini bisa memberikan manfaat yang seluas-luasnya bagi diri saya sendiri, maupun bagi pihak lain.

Surabaya, 05 Februari 2021

Penulis

SUMMARY

Effect of Broccoli Juice (*Brasica oleracea L. Var italica*) on Blood MDA Levels And Andhotel Function Interstitial Testic And Seminiferus Tubulus Tissue Endhotel Functions Leydig Cells, Spermatozoa Cells, And Seminiferous Tubules In Wistar Male Rats Psychological Stress Model.

Infertility is a crisis in life that will affect various aspects of a person's life. It is very human and normal for an infertile partner to have feelings that affect self-confidence and self-image. According to The National Infertility Association, several symptoms that can occur include feelings of sadness, depression and significant changes in appetite and sleep disorders. From this it can be concluded that sleep disorders play an important role in causing psychological stress. Psychological stress can cause oxidative stress which leads to degenerative diseases. In more depth in other studies, psychological stress can increase free radicals which it causes oxidative stress. From here, the role of antioxidants as an early antidote to free radicals that can cause oxidative stress.

Stress is the body's response to external and internal stimuli, known as the fight or flight response. Sleep disturbances are psychological stimuli that cause the body's response to another name stressor. Psychological stress can activate the sympathetic nervous system and adrenal responses. Activation of the sympathetic nervous system by stressors causes local release of the neurotransmitter norepinephrine (NE) at postganglionic sympathetic nerve endings, whereas activation of stressors in the adrenal medulla stimulates the release of epinephrine (E). Apart from increasing levels of E and NE, stressors can also increase corticosteroid levels. This increase also causes vasoconstriction of the systemic blood vessels, as a result of which the blood supply to the testes will decrease and testicular function will be disturbed so that the spermatogenesis process will be disrupted.

Stressors also stimulate the hypothalamus to secrete CRH (corticotrophic releasing hormone) which then stimulates the pituitary to secrete ACTH (adreno cortico trophic hormone) into the blood. ACTH will stimulate the adrenal cortex to secrete glucocorticoids (cortisol). If cortisol levels increase, vasoconstriction occurs.

Vasoconstriction and turbulence cause hypoxia. Hypoxia is a condition of lack of oxygen supply that triggers the production of free radicals. Furthermore, there can be oxidative stress and increased calcium which can result in cell death through the mechanism of necrosis and apoptosis as a result of dysfunction. The formation of free radicals in the body becomes abnormal in mice that have been exposed to psychological stress resulting in oxidative stress. This reaction causes the release of Malondialdehyde (MDA).

Broccoli affects the decrease in blood pressure and pulse rate by reducing arterial contraction caused by vasocinstriction such as phenillaryine and endothelin-1. Broccoli aids in eNOS activation and increases NO bioactivation which results in relaxation of blood vessels by means of alpha adrenergic blockade thereby helping to decrease cardiac contractation. Decreased heart contractions

can prevent blood turbulence so that signs of hypoxia are stable. Sulforaphan is an isothiocyanate derivative as an anticancer and antioxidant. As an antioxidant, sulforaphan activates phase 2 detoxification of antioxidant enzymes through nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2). Sulforaphan has the ability to react with sulfhydryl (-SH) groups or bind with sulfur chemical compounds. Sulfhydryl is a group that plays a role in nitric oxide synthase in the endothelium

Our research aims to analyze and explain how SFN in broccoli can affect Malondialdehyde levels, and HIF 1 alpha expression in leydig cells, spermatozoa cells and seminiferous tubules where both of these variables affect the size of the presence of free radicals in the affected body. oxidative stress resulting from exposure to psychological stress. In this experimental laboratory study, we used 16 male white rats Wistar strain (*Rattus norvegicus*) as experimental animals, and divided them into 4 groups. The group without psychological stress treatment and without giving broccoli juice (K1), the group without treatment Psychological stress by giving broccoli juice after 24 hours (K2), Group with psychological stress treatment for 24 hours and without broccoli juice (P1), and Group with psychological stress treatment for 24 hours and with broccoli juice after 24 hours. The group treated with psychological stress in the form of sleep disorders with an inverted sleep guard pattern for 1x24 hours to condition the rats in a state of oxidative stress. The administration of broccoli juice after being converted to giving mice to 3.6 grams. Blood sampling, measurement, and testicular organ collection for the preparation of immunohistochemical preparations in each group were carried out and then tested for normality and homogeneity. Then, to determine the significant effect of the independent variables, the Anova statistical test was performed, if one of the Anova requirements was not met, the Kruskal Wallis test was used. The Post Hoc test used LSD (Least Significance Different) for Anova, while the Mann Whitney test for Kruskal Wallis was carried out to see significant differences between groups.

In this study, the results obtained for the oxidative stress marker Malondialdehyde (MDA), there were significant differences between K1 against P1 and P2, and there were significant differences between P1 and P2. In the expression of HIF 1 alpha spermatozoa cells, there is a significant difference between K1 and K2, P1 and P2, and there is a significant difference between P1 and P2. Another case with the expression of HIF 1 alpha leydig cells and the expression of HIF 1 alpha seminiferous tubules there were significant differences between each treatment group. Based on the results of the research obtained, it can be concluded that SFN in broccoli is able to provide an antioxidant effect on rats exposed to psychological stress.

Conclusion: The administration of broccoli juice to male white rats Wistar strain was able to affect the decrease in MDA levels, HIF 1 α expression of leydig cells, HIF 1 α expression of spermatozoa cells and HIF 1 α expression of seminiferous tubules exposed to psychological stress that caused oxidative stress.

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Jus Brokoli (*Brasica oleracea L. Var italica*) Terhadap Kadar MDA Darah Dan Fungsi Endhotel Interstitial Testis Dan Jaringan Tubulus Seminiferus Pada Tikus Jantan Wistar Model Stress Psikologis.

Infertilitas merupakan suatu krisis dalam kehidupan yang akan berpengaruh kepada berbagai aspek kehidupan seseorang. Sangat manusiawi dan normal bila pasangan infertilitas mempunyai perasaan yang berpengaruh kepada kepercayaan diri dan citra diri. Menurut *The National Infertility Association* menyebutkan beberapa gejala yang dapat terjadi antara lain timbul perasaan sedih, depresi dan perubahan signifikan dalam selera makan dan gangguan tidur. Dari sini dapat disimpulkan bahwa gangguan tidur memainkan peran penting dalam menyebabkan stres psikologis. Stres psikologis dapat menyebabkan stres oksidatif yang berujung pada penyakit-penyakit degeneratif. Lebih mendalam lagi dalam penelitian lain, stres psikologis dapat meningkatkan radikal bebas yang hal tersebut menyebabkan stres oksidatif. Dari sinilah peran antioksidan sebagai penangkal awal radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif.

Stress sebagai respons tubuh terhadap stimulus eksternal dan internal yang dikenal *fight or flight response*. Gangguan tidur merupakan stimuli psikologis yang menimbulkan respons tubuh dengan nama lain stressor. Stress psikologis dapat mengaktifkan sistem saraf simpatis dan respons adrenal. Aktivasi sistem saraf simpatis oleh stressor menyebabkan pelepasan *neurotransmitter norepinefrin* (NE) lokal pada ujung saraf simpatis postganglionic, sedangkan aktivasi stressor pada medulla adrenal merangsang lepasnya *epinephrine* (E). Selain meningkatkan kadar E dan NE, stressor juga dapat meningkatkan kadar kortikosteroid. Peningkatan tersebut juga menyebabkan vasokonstriksi dari pembuluh darah sistemik, sebagai akibatnya supply darah menuju testis akan menurun dan fungsi testis akan terganggu sehingga proses spermatogenesis akan terganggu.

Stressor juga merangsang hipotalamus untuk mensekresi *CRH* (*corticotrophic releasing hormone*) yang kemudian merangsang hipofise untuk mensekresi *ACTH* (*adreno cortico trophic hormone*) ke dalam darah. *ACTH* akan merangsang korteks adrenal untuk mensekresi glukokortikoid (kortisol). Jika kadar kortisol meningkat maka akan terjadi vasokonstriksi.

Vasokonstriksi dan turbulensi menyebabkan hipoksia. Hipoksia merupakan kondisi kekurangan pasokan oksigen sehingga memicu produksi radikal bebas. Selanjutnya dapat terjadi stress oksidatif dan peningkatan kalsium yang dapat berakibat kematian sel melalui mekanisme nekrosis dan apoptosis sebagai akibat disfungsi. Pembentukan radikal bebas dalam tubuh menjadi tidak normal pada tikus yang telah dipapar dengan stres psikis mengakibatkan stress oksidatif. Reaksi ini menyebabkan pelepasan Malondialdehyde (MDA).

Brokoli ini mempengaruhi penurunan tekanan darah dan denyut nadi dengan jalan mengurangi kontraksi arteri yang disebabkan vasokonstriksi seperti fenilerin dan endotelin-1. Brokoli membantu aktivasi *eNOS* dan meningkatkan bioaktivasi NO yang mengakibatkan relaksasi pada pembuluh darah dengan cara

blockade adrenegik alpha sehingga membantu menurunkan kontrakasi jantung. Penurunan kontrakasi jantung dapat mencegah terjadinya turbulensi darah sehingga tanda-tanda hipoksia stabil. Sulforaphan adalah derivat isothiocyanate sebagai anticancer dan antioksidan. Sebagai antioksidan sulfraphan mengaktifasi fase 2 detoksifikasi antioksidan enzim melalui nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2). Sulforaphan memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan kelompok sulfhydryl (-SH) atau berikatan dengan senyawa kimia sulfur. Sulfhydryl merupakan gugus yang berperan dalam sintase nitric oxide di dalam endotel.

Penelitian yang kami lakukan ini mempunyai tujuan untuk menganalisa dan menjelasakan bagaimana SFN dalam brokoli dapat mempengaruhi kadar *Malondialdehyde*, dan ekspresi HIF 1 alpha pada sel leydig, sel spermatozoa dan tubulus seminiferus yang mada kedua variable tersebut berpengaruh terhadap besar kecilnya adanya radikal bebas dalam tubuh yang terkena stres oksidatif akibat paparan stres psikologis. Pada penelitian eksperimental laboratoris ini, kami menggunakan 16 tikus putih jantan *strain wistar (Rattus norvegicus)* sebagai hewan coba, dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Kelompok tanpa perlakuan stres psikologis dan tanpa pemberian jus brokoli (K1), Kelompok tanpa perlakuan stres psikologis dengan pemberian jus brokoli setelah 24 jam (K2), Kelompok dengan perlakuan stres psikologis selama 24 jam dan tanpa pemberian jus brokoli (P1), dan Kelompok dengan perlakuan stres psikologis selama 24 jam dan dengan pemberian jus brokoli setelah 24 jam. Kelompok dengan perlakuan stres psikologis berupa gangguan tidur dengan pola jaga tidur terbalik selama 1x24 jam untuk mengkondisikan tikus dalam keadaan stres oksidatif. Pemberian jus brokoli setelah dikonversikan untuk pemberian tikus menjadi 3,6 gram. Pengambilan darah, pengukuran, dan pengambilan organ testis untuk pembuatan preparat imunohistokimia pada masing-masing kelompok dilakukan untuk kemudian diuji normalitas dan homogenitas. Kemudian untuk mengetahui pengaruh yang signifikan dari variabel independen dilakukan uji statistik *Anova*, jika salah satu syarat *Anova* tidak terpenuhi maka menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Uji *Pos Hoc* dengan menggunakan *LSD (Least Significance Different)* untuk *Anova*, sedangkan *Mann Whitney* untuk *Kruskal Wallis* dilakukan untuk melihat perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Dalam penelitian ini, hasil yang didapat pada penanda stres oksidatif *Malondialdehyde* (MDA), terdapat perbedaan yang signifikan antara K1 terhadap P1 dan P2, dan terdapat perbedaan signifikan antara P1 terhadap P2. Pada ekspresi HIF 1 alpha sel spermatozoa terdapat perbedaan yang signifikan K1 terhadap K2, P1 dan P2, dan terdapat perbedaan signifikan antara P1 terhadap P2. Lain halnya dengan ekspresi HIF 1 alpha sel leydig dan ekspresi HIF 1 alpha tubulus seminiferus terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil dari penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa SFN dalam brokoli mampu memberikan efek antioksidan terhadap tikus yang mendapatkan paparan stres psikologis.

Kesimpulan : Pemberian jus brokoli pada tikus putih jantan *strain wistar* mampu mempengaruhi penurunan kadar MDA, ekspresi HIF 1 α sel leydig, ekspresi HIF 1 α sel spermatozoa dan ekspresi HIF 1 α tubulus seminiferus yang terpapar stres psikologis yang menyebabkan stress oksidatif.