

# POTENSI REGENERASI SEL SERTOLI DAN SEL LEYDIG TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES PASCA PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH JENGKOL (*Archidendron pauciflorum*)

Desak Made Malini<sup>1\*</sup>, Nining Ratningsih<sup>2</sup>, Nurullia Fitriani<sup>3</sup>, Dwi Rahmi<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Padjadjaran, Jatinangor

\*Corresponding author: [desak.made@unpad.ac.id](mailto:desak.made@unpad.ac.id)

## Abstract

*Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease that causes disruption of spermatogenesis due to decreased numbers of Sertoli cells and Leydig cells. The aim of this study was to determine the potency of ethanol extract of Jengkol fruit peel (JFPEE) on increasing the regeneration of Leydig cells and Sertoli cells in diabetic rat models. This type of research is experimental research using a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 5 replications. Treatment was given orally for 54 consecutive days consisting of negative control (NC), positive control (PC), comparison (Glibenclamide dose 10 mg/kg BW), P1 and P2 (JFPEE dose 385 and 770 mg/kg BW). Diabetic induction was performed with streptozotocin dose 65 mg/kg BW in male Wistar rat except for NC group. The parameters observed were the number of Sertoli cells and Leydig cells in 25 seminiferous tubules. The results of histological structured showed that the highest number of Sertoli cells and Leydig cells were obtained in group P2 (4.40±0.55; 9.80±0.84) and it was not significantly different from the NC group (5.00±1.41; 12.20±2.77). It can be concluded that 770 mg/kg BW was the effective dose of JFPEE that can increase the regeneration of Sertoli cells and Leydig cells in diabetic rat models.*

**Keywords:** Jengkol Fruit Peel Ethanol Extract, Leydig Cells, Regeneration, Sertoli Cells.

## PENDAHULUAN

*International Diabetes Foundation* mengestimasikan bahwa prevalensi diabetes di dunia akan meningkat menjadi 552 juta jiwa pada tahun 2030 dan DM tipe II merupakan prevalensi terbanyak di dunia (WHO, 2018). Kondisi ini terjadi karena gaya hidup yang tidak sehat dan obesitas (IDF, 2013).

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kondisi meningkatnya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) karena terganggunya fungsi pankreas dalam memproduksi insulin (Kong *et al.*, 2018). Kondisi ini menyebabkan glukosa yang seharusnya ditranspor dari sirkulasi darah menuju sel jumlahnya menjadi sedikit dan

sel akan mencari sumber energi lain melalui mekanisme pemecahan karbohidrat, protein, dan lemak. Proses pemecahan tersebut menyebabkan produksi radikal bebas berlebih sehingga terjadi stress oksidatif (Budin *et al.*, 2018). Dampak lain yang diakibatkan oleh DM adalah dapat menyebabkan gangguan fungsi seksual, termasuk menurunnya libido, impotensi, gangguan ejakulasi dan infertilitas yang disebabkan oleh rendahnya konsentrasi hormon testosteron (Liu *et al.*, 2016).

Penyakit DM dapat menyebabkan vakuolisasi sel Sertoli dan dapat menyebabkan terjadinya peningkatan apoptosis sel spermatogenik dalam tubulus

seminiferus pada Tikus jantan (Sexton & Jarrow, 1997). Penelitian Kong *et al.* (2018) menunjukkan bahwa DM dapat menghentikan pertumbuhan dan perkembangan (*atrophy*) sel Leydig dan sel Sertoli.

Testis tersusun oleh asam lemak tak jenuh tinggi dan memiliki cadangan antioksidan dengan jumlah sedikit sehingga rentan terhadap serangan radikal bebas. Testis merupakan organ kunci penghasil sperma dan sebagai pengatur hormon-hormon reproduksi. Kondisi diabetes dapat menyebabkan disfungsi testis termasuk gangguan spermatogenesis dan menurunnya kualitas sperma yang semuanya berhubungan langsung dengan kesehatan testis (Aitken *et al.*, 2014). Proses spermatogenesis dikontrol oleh *hypothalamus-pituitary-gonadal* (HPG), *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) yang diproduksi oleh hipotalamus untuk menstimulasi produksi *luteinizing hormone* (LH) dan *follicle-stimulating hormone* (FSH). Sel Leydig atau sel interstisial terletak di luar tubulus seminiferus yang dapat memproduksi hormon testosteron yang dikontrol oleh LH. FSH memicu produksi *antigen-binding protein* (ABP) secara tidak langsung melalui sel Sertoli (Kong *et al.*, 2018). Sel Sertoli merupakan salah satu sel penyusun utama tubulus seminiferus yang melekat di dinding

tubulus seminiferus dan berfungsi memberikan nutrisi bagi sperma yang belum matang (Hayati, 2011).

Diabetes merupakan penyakit yang membutuhkan perawatan seumur hidup dan biaya yang besar. Obat oral sintesis yang sering digunakan oleh penderita diabetes yaitu *glibenklamid*. Obat ini bekerja dengan cara menstimulasi pengeluaran insulin pada sel  $\beta$  pankreas karena kandungan sulfonil urea namun obat ini memiliki efek samping yaitu hipoglikemia, lemas, pucat, muncul keringat, dan berdebar (Putra *et al.*, 2017).

Beberapa penelitian yang berasal dari tanaman herbal telah dilakukan untuk mengurangi dampak DM terhadap kerusakan fungsi reproduksi jantan. Salah satu tanaman yang telah digunakan secara tradisional di beberapa daerah di Indonesia untuk mengobati DM adalah kulit buah Jengkol. Ekstrak etanol kulit buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dari famili Fabaceae dapat menurunkan kadar glukosa darah (Syafnir *et al.*, 2014). Hasil penelitian Malini *et al.* (2017) menunjukkan bahwa masyarakat Desa Karangwangi, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat, mengonsumsi air rebusan kulit buah Jengkol yang telah dikeringkan sebagai obat antidiabetes. Ekstrak etanol kulit buah Jengkol memiliki kandungan kadar

flavonoid (0,23%), polifenol (28,82%) dan tanin (3,83%) (Saputri, 2016).

Flavonoid merupakan golongan polifenol yang memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi lipid, aktifitas reduksi-oksidasi khelasi logam dan menghambat proses yang berkaitan dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Heim *et al.*, 2002). Penelitian Adewoyin *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa kandungan flavonoid pada *Cardiospermum halicacabum* dan *Origanum majorana* dapat memulihkan gangguan fungsi reproduksi jantan yang dapat dilihat dari adanya peningkatan jumlah sperma pada caput epididimis dan hormon testosteron serta jumlah sel spermatogenik pada tubulus seminiferus. Penelitian Malini *et al.*, (2019) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit buah Jengkol dengan dosis 770 mg/kg BB merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan sekresi insulin dan menurunkan kadar glukosa.

Hewan model DM dapat dibuat dengan menggunakan zat kimia Streptozotosin (STZ). Induksi STZ bersifat sitotoksik terhadap sel  $\beta$  pankreas sehingga hewan coba menjadi hiperglikemia dan kondisi inflamasi kronis karena defisiensi insulin (Bozkurt *et al.*, 2018). Hewan coba DM dengan induksi *streptozotocin* dapat mempengaruhi proses spermatogenesis akibat dari stress oksidatif

(Bozkurt *et al.*, 2018). Efek dari induk STZ dapat terlihat setelah 72 jam kemudian.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi ekstrak etanol kulit buah Jengkol dalam meregenerasi sel Leydig dan sel Sertoli pada Tikus jantan diabetes yang diinduksi *streptozotocin*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Alat-alat yang digunakan adalah *maserator*, *platform*, alat gelas (Pyrex), bunsen, *magnetic stirrer*, *disposable syringe* volume 5 ml (*Terumo*), alat bedah (*MinorSet*), blender (*Phillips*), *cover glass*, glukometer dan glukostrip (*EasyTouch*), *heating plate*, kaca objek, mikroskop cahaya (*Olympus CX-21*), oven, pH meter (*Precisa*), sonde, *syringe* (*Terumo*), timbangan hewan uji (*Ohaus*), dan *vaccum evaporator* (*Eyela*), kandang baskom plastik dan penutup besi, mikrotom putar, *staining jar*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah hewan uji, bahan uji, dan bahan kimia. Hewan uji adalah Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan galur Wistar sebanyak 25 ekor dengan umur 8-12 minggu dan memiliki berat badan rata-rata 200 gram. Bahan uji adalah kulit buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*). Bahan kimia yang digunakan meliputi akuades, alkohol 70%, alkohol

80%, alkohol 90%, alkohol 100%, aquabidest, asam asetat glasial, *buffer* sitrat, *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) 0,05%, etanol 96%, *glibenklamid*, hematoksilin dan eosin, larutan fiksatif Bouin, larutan *xylol*, natrium klorida 0,9% (NaCl fisiologis), paraffin, spirtus, dan *Streptozotocin* (STZ).

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental di laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan lima perlakuan dan empat pengulangan. Model hewan diabetes yang digunakan adalah Tikus wistar betina (*R. norvegicus*) yang memiliki kadar glukosa  $\geq 250$  mg/dl pada hari ke-4 setelah induksi dengan STZ (Sajedianfard, 2014). Semua kelompok perlakuan diinduksi diabetes kecuali kontrol negatif (KN). Perlakuan yang diberikan yaitu kontrol negatif (KN) diberi CMC 0,05%, kontrol positif (KP) diberi CMC 0,05%, pembanding (PB) diberi *Glibenklamid* 10 mg/kg BB, Perlakuan 1 dan 2 diberi ekstrak etanol kulit buah Jengkol masing-masing dosis 385 (P1) dan 770 (P2) mg/kg BB. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama 54 hari berturut-turut dengan cara oral.

### **Prosedur kerja**

#### Persiapan hewan uji

Hewan uji dipelihara di kandang hewan yang beralaskan sekam dan masing-masing kandang berisi 4 ekor hewan uji sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Sebelum diberi perlakuan hewan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari untuk membiasakan hewan uji hidup dalam lingkungan laboratorium. Makanan yang diberikan berupa pakan pelet CV 551 dan sebagai air minum diberi air ledeng yang diberikan secara *Ad libitum*. Kandang disimpan pada ruangan dengan kondisi ruangan 12 jam terang dan 12 jam gelap, suhu ruangan sekitar 26<sup>0</sup>C dan kelembaban 60-75 %.

#### Pembuatan bahan uji

Pembuatan bahan uji Ekstrak etanol kulit buah Jengkol dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kulit buah Jengkol dipotong kecil-kecil, dicuci, dikering-anginkan dan kemudian diblender hingga berbentuk serbuk simplisia. Serbuk simplisia dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% dan serbuk 1:6 (w/v). Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam. Maserat yang diperoleh, disaring dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40<sup>0</sup>C sampai diperoleh ekstrak dalam bentuk pasta (Khan *et al.* 2010). Induksi diabetes hewan uji dilakukan dengan cara injeksi tunggal *streptozotocin* (STZ) secara intravena dengan dosis 65 mg/kg BB yang

dilarutkan dengan larutan 0,1 M *citrate buffer* (pH 4,5). Sebelum diinduksi Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam dan diukur kadar glukosa darahnya. Tikus dianggap menderita diabetes dan dapat digunakan sebagai hewan uji apabila kadar glukosa darahnya >250 mg/dl setelah 72 jam induksi (Sajedianfard *et al.*, 2014).

#### Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi di kandang hewan Program Studi Biologi selama tujuh hari sebelum perlakuan dengan tujuan agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan. Suhu di ruang kandang hewan uji merupakan suhu kamar dengan rentang suhu antara 22-30°C. Hewan uji diberikan pakan dan minum air secara *ad-libitum*. Penggantian sekam dilakukan sebanyak dua kali dalam seminggu.

#### Perlakuan terhadap hewan uji

Pemberian perlakuan ekstrak etanol kulit buah Jengkol sehari setelah kadar glukosa  $\geq 250$  mg/dl masing-masing dengan 2 dosis yang berbeda yaitu dosis 385 dan 770 mg/kg BB, sedangkan untuk kontrol negatif (KN) diberi CMC 0,05%, kontrol positif (KP) diberi CMC 0,05%, pembanding (PB) diberi *Glibenklamid* 10 mg/kg BB. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama 54 hari berturut-turut (satu siklus spermatogenesis pada Tikus) dengan cara oral.

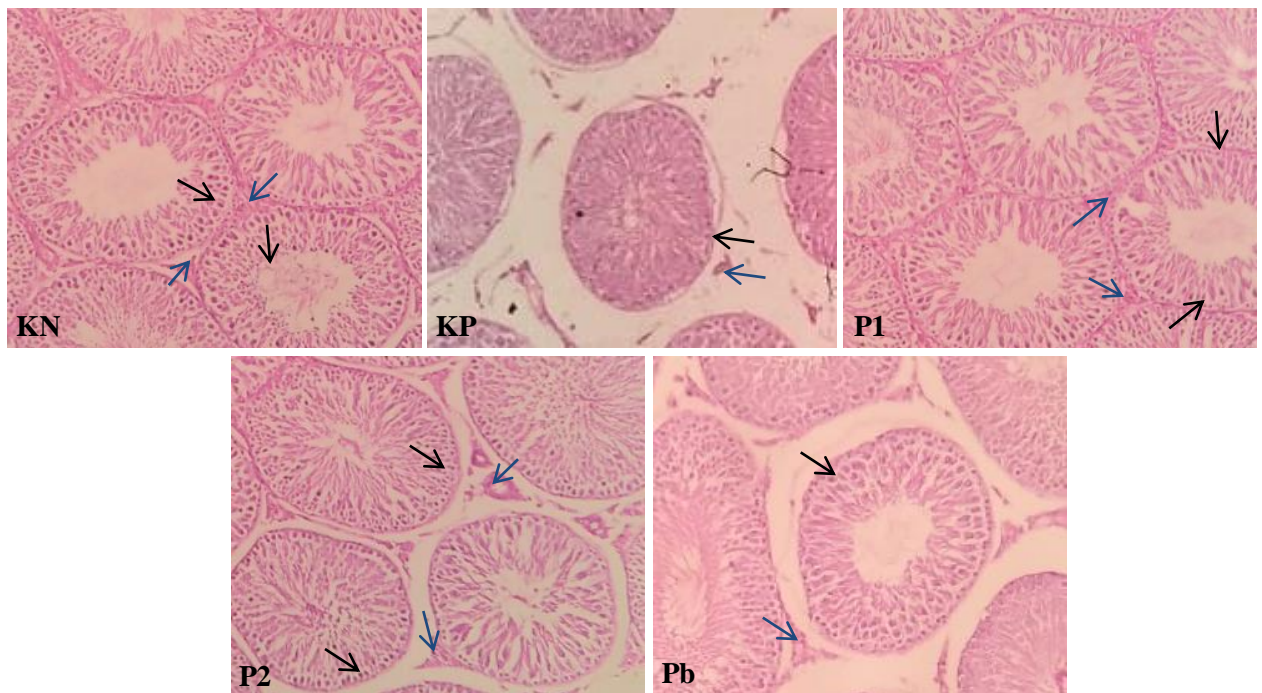
#### **Teknik pengambilan data**

Sehari setelah perlakuan dihentikan, semua hewan uji dikorbankan dengan cara dislokasi leher, selanjutnya dibedah, diisolasi organ testisnya dan sebelum ditimbang dibersihkan terlebih dahulu dengan larutan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian organ dibuat sediaan preparat histologis dengan menggunakan metode parafin dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Analisis kuantitatif untuk parameter histologi testis dilakukan dengan menghitung jumlah sel Sertoli dan sel Leydig pada 25 tubulus seminiferus yang dipilih secara acak dan diamati pada perbesaran 400 x. Jumlah dari masing-masing sel ditentukan dengan membagi jumlah sel total dibagi dengan jumlah tubulus seminiferus yang diamati (Mardanshahi *et al.*, 2018). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan analisis varians (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=5\%$ ) dan uji Jarak berganda Duncan.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

##### **Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol terhadap Struktur Histologis**

Gambaran histologis penampang melintang testis pasca perlakuan ditampilkan pada **Gambar 1**. Sel Sertoli memiliki bentuk piramida yang melekat pada lamina basalis dan ujung selnya



**Gambar 1.** Gambaran histologi testis Tikus dengan pewarnaan H&E dan perbesaran 100x  
**Keterangan :** KN (CMC 0,05%); KP (STZ 60 mg/kg BB+ CMC 0,05%); P1 (STZ 60 mg/kg BB+ CMC 0,05%+ EEKBJ 385 mg/kg BB); P2 (STZ 60 mg/kg BB+ CMC 0,05%+ EEKBJ 770 mg/kg BB); dan Pb (STZ 60 mg/kg BB+ CMC 0,05%+ *Glibenklamid* 10 mg/kg BB). Tanda panah hitam menunjukkan Sel Sertoli dan tanda panah biru menunjukkan Sel Leydig.

mengarah ke dalam lumen tubulus seminiferus. Hal ini sesuai dengan Mescher (2012) yang menyatakan bahwa sel Sertoli merupakan sel piramid atau kolumnar yang dasarnya melekat pada lamina basal dan ujung apikalnya terjulur ke dalam lumen tubulus seminiferus. Sel Leydig tampak berada di kompartemen interstitial di antara tubulus seminiferus dan memiliki bentuk oval.

Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Hayati (2011) bahwa sel Leydig berada pada jaringan interstitial testis di antara tubulus seminiferus, berbentuk poligon atau ovoid, berukuran relatif besar dibandingkan dengan sel

lainnya, serta memiliki warna yang sedikit pucat.

Penderita diabetes melitus menunjukkan terjadinya penurunan kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), *Interstitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH), *Insulin-like Growth Factor 1* (IGF-1), dan *Stem Cell Factor* (SCF) yang disebabkan karena kepekaan reseptor insulin mengalami gangguan (Ballester *et al.*, 2004). Peningkatan glukosa darah berpengaruh terhadap penurunan ICSH sehingga respon sel Leydig untuk mensekresi testoteron juga menurun (Allan, 2015). Gangguan kepekaan reseptor insulin juga menyebabkan



menurunnya SCF testis sehingga menurunkan regenerasi sel Leydig yang dapat menyebabkan jaringan interstitial testis kehilangan kepadatannya dan penurunan jumlah volume sel Leydig per ruang interstitial (Ballester *et al.*, 2004).

Sel Sertoli pada mamalia berperan penting dalam diferensiasi dan perkembangan fungsi testis. Jumlah sel Sertoli pada testis menentukan ukuran testis dan produksi sperma sehingga kerusakan atau penurunan jumlah sel Sertoli akan menyebabkan terjadinya penurunan produksi sperma dan peningkatan jumlah sperma abnormal (Schulz *et al.*, 2005). *Folicle Stimulating Hormone* mengawali proses proliferasi spermatogenesis dan testosteron berdifusi dari sel interstitial yang diperlukan untuk pematangan akhir spermatozoa (Agarwal *et al.*, 2003). Terhambatnya pembentukan FSH dapat menyebabkan spermatogenesis terganggu dan juga menyebabkan turunnya jumlah sel Sertoli (Guyton & Hall, 2008).

Menurut Boekelheide *et al.*, (2000), terjadinya penurunan jumlah sel Sertoli mengindikasikan kegagalan fungsi sel Sertoli melindungi sel-sel germinal terhadap apoptosis. Kerusakan sel Sertoli akan mengganggu proses spermatogenesis. Selanjutnya, Lohiya *et al.* (2002), menyatakan jika fungsi sel Sertoli terganggu, maka sekresi ABP, suplai

nutrisi, faktor pertumbuhan, laktat, dan transferin juga terganggu karena zat-zat tersebut sangat dibutuhkan dalam proses spermatogenesis.

Sel Leydig dirangsang oleh *Luteinizing Hormone* (LH) untuk memproduksi testosteron. Testosteron diperlukan untuk perkembangan sel-sel spermatogenik. Oleh karena itu, bila kadar testosteron menurun ada kemungkinan terjadinya penghambatan pembentukan sel-sel spermatogenik (Lukitasari & Abdulgani, 2013). Menurut penelitian Kermani *et al.* (2019) menyatakan bahwa Tikus yang diinduksi *streptozotocin* menyebabkan kondisi hiperglikemik sehingga terjadi penurunan jumlah sel Leydig.

### **Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol terhadap Jumlah Sel Sertoli dan Sel Leydig**

Rerata jumlah sel Sertoli dan sel Leydig disajikan pada **Tabel 1**. Pengamatan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig dilakukan dengan menghitung jumlah sel-sel tersebut pada 25 tubulus seminiferus. Hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa nilai  $F_{hitung} > F_{tabel}$  yang artinya terdapat pengaruh nyata dari pemberian perlakuan terhadap jumlah sel Sertoli dan sel Leydig. Analisis data dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* untuk membandingkan rerata tiap perlakuan yang hasilnya ditampilkan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Rerata Jumlah Sel Sertoli dan Sel Leydig Pascaperlakuan

Perlakuan	Rerata±SD	
	Sel Sertoli	Sel Leydig
Kontrol Negatif (CMC 0,05%)	5,00±1,41 <sup>c</sup>	12,20±2,77 <sup>b</sup>
Kontrol Positif (STZ 60 mg/kg BB + CMC 0,05 %)	2,60±0,55 <sup>a</sup>	8,00±2,35 <sup>a</sup>
P1 (STZ 60 mg/kg BB + CMC 0,05 % + EEKBJ 385 mg/kgBB)	4,20±0,84 <sup>b,c</sup>	8,20 ±2,17 <sup>a</sup>
P2 (STZ 60 mg/kg BB + CMC 0,05 % + EEKBJ 770 mg/kgBB)	4,40±0,55 <sup>b,c</sup>	9,80±0,84 <sup>a,b</sup>
Pb (STZ 60 mg/kgBB + CMC 0,05 % + <i>Glibenklamid</i> 10 mg/kg BB)	3,60±0,55 <sup>a,b</sup>	8,20±2,89 <sup>a</sup>

**Keterangan :** Data disajikan dalam bentuk  $\bar{x} \pm SD$ . Rerata jumlah sel Sertoli dan sel Leydig Tikus dianalisis menggunakan uji ANOVA (Analisis Variansi) yang dilanjutkan dengan Uji Duncan pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata.

Pada **Tabel 1** dapat dilihat bahwa jumlah sel Sertoli dan sel Leydig pada Tikus yang diinduksi *streptozotocin* (KP) lebih sedikit dibandingkan dengan KN dan secara statistik berbeda nyata. Hal ini berarti terjadi penurunan jumlah sel Sertoli dan Leydig pada Tikus yang diinduksi *streptozotocin*. Menurut Pathak *et al.* (2008), *streptozotocin* (STZ) yang diberikan pada Tikus melalui intravena dapat merusak sel beta pankreas karena STZ bersifat sitotoksik spesifik pada sel beta pankreas dan akibatnya fungsi sel beta sebagai penghasil hormon insulin akan terganggu dan menginduksi terjadinya DM.

Salah satu ciri dari DM adalah kadar glukosa yang tinggi atau hiperglikemia yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan Reaktif Oksigen Spesies (ROS) dan dapat memicu terjadinya cekaman oksidatif di dalam tubuh. Reaksi peroksidasi lipid yang terjadi secara berlebihan pada tingkat jaringan sel gonad

(testis) dapat menimbulkan beberapa perubahan pada fungsi seksual, diantaranya adalah menurunnya kadar hormon testosteron di dalam serum akibat terjadinya kelainan fungsi dari sel Leydig (Rho *et al.*, 2000).

Kerusakan pada membran sel epitel germinal tubulus seminiferus dan degenerasi sel testis merupakan akibat yang paling utama dari adanya ROS. Senyawa oksigen reaktif seperti O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dan OH<sup>-</sup>, merupakan mediator yang memegang peranan penting terjadinya kerusakan oksidatif pada sel termasuk sel Sertoli (Dina *et al.*, 2017). Penurunan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig ini juga diduga terjadi akibat radikal bebas sehingga terjadi gangguan pada hipotalamus yang mensekresikan GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormon*), untuk merangsang hipofisa mensekresikan hormon LH dan FSH yang bekerja pada sel Leydig dan sel Sertoli, gangguan ini menyebabkan aktivitas sel-sel tersebut



menjadi berkurang, sehingga mempengaruhi pula aktivitas pembelahan pada sel Leydig dan sel Sertoli. Aktivitas pembelahan sel yang berkurang menyebabkan penurunan jumlah sel Leydig dan sel Sertoli (Lukitasari & Abdulgani, 2013; Fithriyah *et al.*, 2014).

Pada **Tabel 1** dapat dilihat bahwa rerata jumlah sel Sertoli dan sel Leydig pada Tikus yang diberi *glibenklamid* (Pb), menunjukkan perbedaan yang nyata apabila dibandingkan dengan kelompok Tikus yang tidak diinduksi (KN) tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok positif yang diinduksi diabetes (KP). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *glibenklamid* tidak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel Sertoli dan Leydig pada testis Tikus diabetes. *Glibenklamid* merupakan salah satu obat oral antidiabetes golongan *sulfonilurea* yang biasa digunakan untuk penderita Diabetes Mellitus tipe 2. Golongan *sulfonilurea* ini dapat mengakibatkan efek samping berupa toksisitas. Sel yang akan mati pada tahap nekrosis akan membesar, struktur organelnya berubah kemudian lisis sebagai akibat respon terhadap zat toksik (Confederat *et al.*, 2015).

Berdasarkan **Tabel 1** tampak bahwa jumlah sel Sertoli pada Tikus yang diberi perlakuan EEKBJ berbeda nyata dengan kelompok Tikus yang diinduksi *streptozotocin* (KP). Kelompok perlakuan

dengan dosis EEKBJ 770 mg/kg BB memiliki jumlah sel Sertoli yang secara statistik tidak berbeda nyata dengan kelompok Tikus yang diberi perlakuan EEKBJ 385 mg/kg BB dan kelompok Tikus yang diberi *Glibenklamid* (PB). Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan EEKBJ dosis 770 mg/kg BB dan 385 mg/kg BB sebanding dalam meningkatkan jumlah sel Sertoli pada testis Tikus diabetes.

Pada **Tabel 1** juga dapat dilihat bahwa jumlah sel Leydig pada Tikus yang diberi perlakuan EEKBJ tidak berbeda nyata dengan kelompok Tikus yang diinduksi *streptozotocin* (KP). Kelompok perlakuan dengan dosis EEKBJ 770 mg/kg BB memiliki jumlah sel Leydig yang secara statistik tidak berbeda nyata pula dengan kelompok Tikus yang tidak diinduksi *streptozotocin* (KN). Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan EEKBJ dosis 770 mg/kg BB sebanding dalam meningkatkan jumlah sel Leydig pada testis Tikus diabetes.

Pemberian EEKBJ dapat meningkatkan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig secara signifikan, hal ini diduga karena adanya senyawa kimia bioaktif yang terkandung di dalam kulit buah Jengkol yang mampu merangsang sel beta pankreas untuk mensekresi hormon insulin (Malini *et al.*, 2019). Ekstrak etanol kulit buah Jengkol mengandung beberapa

senyawa bioaktif diantaranya adalah flavonoid, polifenol dan tanin (Saputri, 2017). Tumbuhan yang memiliki senyawa metabolit sekunder flavonoid dapat digunakan untuk menyembuhkan diabetes dengan cara merangsang sekresi hormon insulin (Waltner-Law, 2002).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di jaringan tumbuhan dan diduga mampu meregenerasi sel beta pankreas yang rusak (Birben *et al.*, 2012). Aksi flavonoid pada diabetes mellitus adalah menghindari absorpsi glukosa atau memperbaiki toleransi glukosa. Sehingga menurut penelitian Malini *et al.* (2019), senyawa flavonoid yang terkandung di dalam kulit buah Jengkol juga dapat menurunkan KGD dan meningkatkan kadar hormon insulin pada Tikus yang diinduksi STZ.

Hormon insulin akan menurunkan kadar gula darah dan melancarkan aksi hipotalamus-hipofisis sebagai fungsi sistem endokrin dalam meningkatkan produksi hormon-hormon reproduksi (Nieschlag *et al.*, 2010). Peningkatan insulin akan meningkatkan efek gonadotropin (LH dan FSH) pada sel Sertoli dan sel Leydig sehingga aktivitas sel-sel tersebut menjadi meningkat, dan mempengaruhi pula aktivitas pembelahan pada sel Sertoli dan sel Leydig. Aktivitas

pembelahan sel yang meningkat akan menyebabkan peningkatan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig (Fithriyah *et al.*, 2014).

Penelitian Wankeu-Nya *et al.* (2019), menyatakan bahwa flavonoid dan polifenol yang terkandung dalam tumbuhan *Dracaena arborea* merupakan senyawa antioksidan kuat untuk memperbaiki sel Leydig dan terlibat dalam penghambatan siklooksigenase-2 (COX2), enzim yang bertanggung jawab atas penghambatan gen StAR, yang mengarah pada peningkatan steroidogenesis (proses pembentukan hormon pada testis). Oleh karena itu dapat diduga bahwa kulit buah Jengkol yang mengandung senyawa flavonoid dan polifenol dapat meningkatkan potensi regenerasi sel Leydig.

Kandungan senyawa tanin yang terdapat pada kulit buah Jengkol juga diduga dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan penyerapan glukosa. Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis (Kumari & Jain, 2012). Peningkatan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig ini juga

dipengaruhi oleh meningkatnya produksi insulin. Hormon insulin akan menurunkan kadar gula darah dan melancarkan aksi hipotalamus-hipofisis sebagai fungsi sistem endokrin dalam meningkatkan produksi hormon-hormon reproduksi (Nieschlag *et al.*, 2010).

Ekstrak kulit Jengkol dalam juga mengandung senyawa alkaloid (Syafnir *et al.*, 2015). Alkaloid merupakan senyawa organik yang bersifat basa dan terdapat dalam tumbuh-tumbuhan (Sumardjo, 2008). Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas yang menyebabkan perbaikan pada kerusakan sel beta pankreas penyebab DM. Adanya perbaikan pada jaringan pankreas, maka terjadi peningkatan jumlah insulin didalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk kedalam sel sehingga terjadi penurunan glukosa darah dalam tubuh. Sehingga diduga senyawa alkaloid yang terkandung di dalam kulit buah Jengkol dapat menurunkan kadar gula darah Tikus yang diinduksi STZ (Malini *et al.*, 2019).

Peningkatan insulin akan meningkatkan efek gonadotropin (LH dan FSH) pada sel Sertoli dan sel Leydig di testis. Hormon insulin akan menstimulus sel Leydig sehingga akan meningkatkan fungsi sel Leydig dan menimbulkan meningkatnya reseptor FSH. Reseptor FSH yang meningkat akan meningkatkan kadar FSH yang juga berpengaruh terhadap

naiknya kadar LH (Ballester *et al.*, 2004). Peningkatan tersebut akan memicu peningkatan produksi hormon testosteron dan ABP (*Androgen Binding Protein*) yang digunakan dalam proses spermatogenesis (Sabirosi *et al.*, 2014).

Antioksidan merupakan zat yang mampu memperlambat dan mencegah proses oksidasi dalam tubuh. Adanya zat antioksidan dalam tubuh dapat melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas. Senyawa antioksidan akan menghambat terjadinya pembentukan radikal bebas dan menetralsir radikal bebas yang tersisa dalam tubuh. Cara kerja antioksidan dalam menetralsir radikal bebas yakni melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif dengan mengeluarkan spesies oksigen yang potensial bersifat toksik (pro-oksidan), menekan pembentukannya, atau menekan kerja pro-oksidan tersebut. Menurunnya radikal bebas karena aktivitas antioksidan ini akan mencegah kerusakan mitokondria DNA sperma serta terjadinya apoptosis spermatozoa yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal pada saat spermatogenesis (Selawa *et al.*, 2013). Diabetes Mellitus mengakibatkan penurunan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig sehingga proses spermatogenesis terganggu. Adanya senyawa flavonoid, polifenol, alkaloid dan tanin dapat

meningkatkan regenerasi sel Sertoli dan sel Leydig. Sehingga dapat diduga bahwa terjadinya peningkatan jumlah sel Sertoli dan sel Leydig disebabkan karena kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*).

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol kulit buah Jengkol (*Archidendrom pauciflorum*) memiliki potensi dalam meningkatkan regenerasi sel Leydig dan sel Sertoli Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan diabetes yang diinduksi *streptozotocin*. Dosis 770 mg/kg BB adalah dosis ekstrak etanol kulit buah Jengkol (*Archidendrom pauciflorum*) yang efektif dalam meningkatkan regenerasi sel Leydig dan Sertoli pada Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan diabetes yang diinduksi *streptozotocin*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adewoyin M, M Ibrahim, R Roszaman, MLM. Isa, NAM Alewi, AAA Rafa & MNN Anuar. 2017. Male infertility: The Effect of natural antioxidants and phytochemicals on seminal oxidative stress. *Diseases 2017*, 5(9). doi: 10.3390/diseases5010009.
- Agarwal A, RA Saleh & MA Bedaiwi. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *J. Fertil. Steril*, 79(4): 829-843.
- Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA & De Iuliis GN. 2014. Oxidative Stress and male reproductive health. *Asian J Androl*, 16(1): 31-38.
- Allan C. 2015. Diabetes and sexual and reproductive health. A fact sheet for men with diabetes. *Andrology Australia*. Online at [https://www.andrologyaustralia.org/wpcontent/uploads/Factsheet\\_Diabetes.pdf](https://www.andrologyaustralia.org/wpcontent/uploads/Factsheet_Diabetes.pdf).
- Ballester J, Dominguez J, Muñoz MC, Sensat M, Rigau T, Guinovart JJ & Rodriguez-Gil, J. E. 2004. Tungstate treatment improves Leydig cell function in *streptozotocin*-diabetic rats. *Journal of Andrology*, 26(6) : 706-715.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S & Kalayci O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1) : 9– 19.
- Boekelheide K, SL Fleming, KJ Johnson, SR Patel & HA Schoenfeld. 2000. Role of Sertoli cell in injury-associated testicular germ cell apoptosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 225(2) : 105-115.
- Bozkurt A, Karabakan M, Aydin M, Gumustas S, Onk D, Gursul C & Erol H. 2018. Effects of melatonin treatment on the spermatogenesis and serum inflammatory cytokine levels in diabetic rats. *Annals of Medical Research*, 25(4). Doi:10.5455/annalsmedres.2018.09.192.
- Budin SB, WZA Rahman, FF Jubaidi, NLM. Yusof, IS Taib & S Zainalabidin. 2018. Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Polyphenol-Rich Extract prevents testicular damage of diabetes Rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(2). doi:10.7324/JAPS.2018.8210.

- Confederat L, C Sandra, L Florentina, P Andrea, H Monica & Lenuta P. 2015. Hypoglycemia Induced by Antidiabetic Sulfonylureas. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi J*, 119(2): 579-584.
- Dina MS, Dasrul, Sugito, S Wahyuni, T Armansyah TR & Ismail. 2017. Penurunan jumlah sel leydig dan sel sertoli Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar setelah pemberian formalin. *JMVET*, 1(2):203-209. ISSN:2540 -9492.
- Fithriyah R, Tjandrakirana & N Ducha. 2014. Efek filtrat tauge kacang hijau terhadap jumlah sel sertoli pada testis mencit yang terpapar MSG. *LenteraBio*, 3(3): 192-197. ISSN: 2252-3979.
- Guyton AC dan JE Hall. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-11. Jakarta: EGC, Penerbit Buku Kedokteran.
- Hayati A. 2011. *Spermatologi*. Surabaya: Airlangga University Press (AUP).
- Heim KE, AR Tagliaferro & DJ Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *J Nutr Biochem*, 13: 572-584.
- International Diabetes Federation. 2013. *IDF Diabetes Atlas Sixth Edition*. New York: Nolan.
- Kermani J, N Goodarzi & M Bakhtiari. 2019. An experimental study to evaluate the protective effects of *solanum lycopersicum* seed essential oil on diabetes-induced testicular injuries. *Medicina*, 55: 499. doi:10.3390/medicina55080499.
- Khan ZI, Badrun N, Abu JM, Shahnaz R, Majeedul HC & Mohammed R. 2012. An evaluation of antihyperglycemic and antinociceptive effects of methanol extract of *Cassia fistula* (*Fabaceae*) Leaves in Swiss Albino Mice. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 4: 305-310.
- Kong Z, A Johnson, F Ko, J He & S Cheng. 2018. Effect of *Cistanche tubulosa* extracts on male reproductive function in streptozotocin nicotinamide-induced diabetic Rats. *Nutriens*, 10: 1562. doi: 10.3390/nu10101562.
- Kumari M & Jain, S. 2012. Tannins: An Antinutrient with Positive Effect to Manage Diabetes. *Research Journal of Recent Sciences*. 1(12): 70-73.
- Liu CY, YJ Hsu, YWE Chien, TL Cha & CW Tsao. 2016. Dietary resistant maltodextrin ameliorates testicular function and spermatogenesis in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic Rats. *Andrologia*, 48: 363-373. doi :10.1111/and.12454.
- Lohiya NK, B Manivannan, PK Mishra, N Pathak, S Sriram, S Bhande & S Panneerdoss. 2002. Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in langur monkey. *Asian. J. Androl*, 4(1): 17-26.
- Lukitasari M & N Abdulgani. 2013. Potensi regenerasi sel leydig dan sel spermatogenik pada testis Mencit (*Mus musculus*) hiperglikemik yang diinduksi ekstrak ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1): 2337-3520.
- Malini DM, Madihah, DA Khoirunnisa, I Sasmita, N Ratningsih, K Alipin & W Hermawan. 2019. Ekstrak etanol kulit buah jengkol menurunkan kadar glukosa dan meningkatkan hormon insulin Tikus diabetes yang diinduksi *Streptozotocin*. *Veteriner*, 20(36): 65-73. doi:10.19087/jveteriner.2019.20.1.65.
- Malini DM, Madihah, J Kusmoro, F Kamilawati & J Iskandar. 2017. Ethnobotanical study of medicinal plants in Karangwangi, District of Cianjur, West Java. *Biosaintifika*, 9(2): 345-356.
- Mardanshahi T, Rezaei N, Zare Z, Malekzadeh SM, & Mohammadi H. 2018. Effects of L-Carnitine on the sperm parameters disorders,

- apoptosis of spermatogenic cells and testis histopathology in diabetic Rats. *Int J Reprod BioMed*, 17: 325–336. doi:10.18502/ijrm.v17i5.4 600.
- Mescher AL. 2012. *Histologi Dasar Junqueira* edisi 12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Nieschlag E, Behre HM & Nieschlag S. 2010. *Andrology-Male Reproductive Health and Dysfunction*. New York: Springer Heidelberg Dordrecht.
- Pathak M, Chatterjee TK, Chakraborty A & Sengupta GC. 2008. Effects of plant extract *Centella asiatica* (Linn.) on cold restraint stress ulcer in rats. *Indian Journal Experimental Biology*, 30:889-891. PMID:1293014.
- Putra RJS, Anisyah A & Hanandita RP. 2017. Kejadian efek samping potensial terapi obat antidiabetes pasien diabetes melitus berdasarkan algoritma naranjo. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, Vol. 2.
- Rho H, Lee JN, Kim HR, Pard BH & Park JW. 2000. Protective mechanism of glucose against alloxaninduced  $\beta$ -cell damage: pivotal role of ATP. *Experimental and Molecular Medicine*, 32(1): 12-17.
- Sabirosi BG, Trisunuwati P & Winarso D. 2014. Ekspresi Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus tipe 1 hasil induksi streptozotocin yang diterapi dengan ekstrak etanol rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.). *Jurnal Kedokteran Hewan*, 4(3): 1-9.
- Sajedianfard J, Behroozi Z & Nazifi S. 2014. The effect of a hydroalcoholic extract of silymarin on serum lipids profiles in streptozotocin induced diabetic Rats. *Comparative Clinical Pathology*, 23(3): 779-784.
- Saputri DHA. 2017. Skripsi Sarjana. Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Schulz RW, S Menting, J Bogerd, LR Franca, DA Vilela & HP Godinho. 2005. Sertoli cell proliferation in the adult testis evidence from two fish species belonging to different orders. *Biol. Reprod*, 73(3): 891-898.
- Selawa W, Max RJR & Gayatri C. 2013. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun Binahong (*Anredera cordifolia*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(1): 18-22.
- Sexton WJ & Jarow JP. 1997. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology*, 49: 508.
- Sumardjo D. 2008. *Pengantar Kimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Syafnir L, Krishnamurti Y & Ilmi, M. 2014. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I.C.Nielsen). *Prosiding SNaPP2014 Sains, Teknologi, dan Kesehatan*, 4: 65–72.
- Wankeu-Nya M, A.Florea, S Balici, H Matei, P Watcho & A Kamanyi. 2019. Cytoarchitectural improvement in Leydig cells of diabetic rats after treatment with aqueous and ethanol extracts of *Dracaena arborea* (Dracaenaceae) extracts. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 19:2225- 4110. doi:10.1016/j.jtcme.2019.09.004.
- Waltner-Law ME, Wang XL, Law BK, Hall RK, Nawano M & Granner DK. 2002. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J Biol Chem*, 277: 34933–34940.
- World Health Organization (WHO). 2018. Diabetes. Online at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>