

## Pengaruh Fermentasi Madu Terhadap Gambaran Sel pada Dinding Tubulus Seminiferus Tikus yang Diinduksi Cisplatin

### *The Effect of Honey Fermentation on the Cell Appearance in the Seminiferous Tubule Wall of Rats Induced by Cisplatin*

Lulu Ulviena<sup>1</sup>, Restu Syamsul Hadi<sup>2</sup>✉,

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi; Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Anatomi Biologi Fakultas Kedokteran Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia

Email : restu.syamsul@yarsi.ac.id

KATA KUNCI Fermentasi madu, infertilitas, cisplatin, tikus

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Cisplatin merupakan pengobatan kanker yang paling efektif digunakan untuk kemoterapi. Cisplatin bekerja dengan cara menginduksi *oxydative stress* salah satunya, namun cisplatin memiliki efek samping toksisitas terhadap sel-sel sehat yang berada di organ reproduksi pria. Maka perlu adanya solusi untuk mengurangi efek samping dari cisplatin. Fermentasi madu merupakan bahan alami yang dapat menurunkan toksisitas dari cisplatin. **Metodologi:** Penelitian ini menggunakan data primer dengan rancangan *eksperimental posttest only control group design* secara *in vivo*. Penelitian ini memiliki 4 kelompok tikus percobaan yaitu, kelompok control tanpa perlakuan, kelompok cisplatin, kelompok fermentasi madu 5% dan paparan cisplatin, serta kelompok fermentasi madu 10% dan paparan cisplatin. Semua tikus sebelum, selama perlakuan, dan sesudah perlakuan dilakukan penimbangan. Setelah itu dilakukan pewarnaan HE untuk dilakukan pengamatan secara deskriptif dan kuantitatif. **Hasil:** Fermentasi madu dapat memberikan efek protektif pada spermatisit primer dan sel interstitial Leydig hamper mencapai normal. Perbaikan tertinggi terdapat pada kelompok fermentasi madu dosis 5% pada spermatisit primer dan 10% pada sel interstitial Leydig. **Kesimpulan:** Pemberian fermentasi madu dapat bersifat protektif pada sel-sel organ testis dari efek samping cisplatin.

#### KEYWORDS

*Honey Fermentation, Infertility, Cisplatin, Rats.*

#### ABSTRACT

**Background:** Cisplatin is the most effective cancer treatment used in chemotherapy. Cisplatin works by inducing oxidative stress, but it also has toxic side effects on healthy cells in the male reproductive organs. Therefore, there is a need for a solution to reduce the side effects of cisplatin. Honey fermentation is a natural substance that can reduce the

toxicity of cisplatin. **Methodology:** This study utilized primary data with an experimental posttest-only control group design conducted in vivo. The research involved four experimental groups of rats: a control group without any treatment, a cisplatin group, a 5% honey fermentation group exposed to cisplatin, and a 10% honey fermentation group exposed to cisplatin. All rats were weighed before, during, and after the treatment. Subsequently, HE staining was performed for both descriptive and quantitative observations. **Results:** Honey fermentation can provide a protective effect on primary spermatocytes and Leydig interstitial cells, almost reaching normal levels. The highest improvement was observed in the 5% honey fermentation group for primary spermatocytes and the 10% group for Leydig interstitial cells. **Conclusion:** Honey fermentation administration can be protective for testicular organ cells against the side effects of cisplatin.

## PENDAHULUAN

Cisplatin (*cis-diammichloroplatinum(II)*), adalah senyawa segi empat planar platinum yang merupakan salah satu agen kemoterapi potensial dalam terapi antikanker (Dasari and Bernard Tchounwou, 2014).

Namun cisplatin memiliki efek samping yang tidak menyenangkan. Sebagian besar pasien yang mendapatkan cisplatin termasuk dalam kelompok usia produktif dan sebagian besar juga dari mereka mengalami infertile permanen karena zoospermia yang disebabkan cisplatin tersebut (Moon *et al.*, 2014).

Beberapa studi membuktikan bahwa cisplatin dapat menginduksi terjadinya disintegrasi testis, disfungsi sperma, apoptosis *germ cell*, kerusakan pada sel Leydig, toksisitas akibat rigidifikasi membran, peroksidasi lemak, dan kerusakan oksidatif, serta menurunkan pertahanan oleh antioksidan di dalam organ (Hejazi, 2011).

Oleh karena itu maka dibutuhkan solusi untuk mengurangi efek samping cisplatin tersebut. Salah

satu bahan alami yang dapat menurunkan efek samping cisplatin adalah madu yang memiliki sifat antioksidan. Antioksidan dalam madu terkandung dalam senyawa *fenolik*, *chrysin*, *pinobanksin*, vitamin E, vitamin C, *katalase* dan *pinocembrin* (Singh *et al.*, 2012).

Menambahkan teknik fermentasi dalam pengolahan madu dapat memberikan manfaat lebih pada kesehatan dalam madu tersebut. Fermentasi merupakan pengolahan bahan pangan secara biologis dengan melibatkan aktivitas mikroorganisme yang hasilnya dapat disimpan lama dan dapat meningkatkan kualitas nutrisi karena pada proses fermentasi terjadi perubahan kimiawi senyawa-senyawa organik (karbohidrat, lemak, protein, serat kasar dan bahan organik lain) baik dalam keadaan aerob maupun anaerob, melalui kerja enzim yang dihasilkan mikroba (Sukaryana *et al.*, 2011).

Berdasarkan uraian diatas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh fermentasi madu terhadap gambaran sel pada dinding tubulus seminiferus tikus yang diinduksi cisplatin sehingga

diharapkan dengan penggunaan fermentasi madu sebagai protektif pasien yang mendapat kemoterapi dapat terhindar dari efek samping cisplatin.

**METODOLOGI**

Penelitian ini menggunakan *eksperimental posttest only control group design* dengan 4 kelompok perlakuan yaitu, kelompok 1 adalah kelompok control, kelompok 2 adalah kelompok perlakuan dengan paparan cisplatin, kelompok 3 adalah kelompok perlakuan dengan fermentasi madu dosis 1 (5%) dan paparan cisplatin, kelompok 4 adalah kelompok perlakuan dengan fermentasi madu dosis 2 (10%) dan paparan cisplatin.

Jenis data yang dipakai dalam penelitian ini adalah berupa data primer, karena data diambil secara langsung dengan melakukan sebuah eksperimen atau percobaan *in vivo*.

Populasi untuk penelitian adalah semua tikus galur wistar jantan berwarna putih. Teknik pengambilan sampel dengan *purposive sampling* berdasarkan kriteria inklusi dan eklusi. Kriteria inklusi adalah tikus *strain local (Rattus norvegicus)* galur wistar Jantan mur 2,5 bulan dengan berat badan 150 - 200 gram dan kriteria drop out jika tikus galur wistar mati pada saat penelitian.

Cara penetapan besar sampel ditentukan dengan rumus dari Federer dengan perhitungan sebagai berikut:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(4 - 1) = 15 \quad (n - 1) 3 = 15$$

$$3n - 3 = 15$$

$$3n = 18$$

$$n = 6$$

Keterangan:  
n = banyaknya ulangan

t = banyaknya perlakuan

Tiap kelompok ditambah 10% untuk menghindari drop out selama penelitian ( $10\% \times 6 = 0,6 = 1$ ). Karena sampel dibagi menjadi 4 kelompok, maka jumlah sampel adalah  $(6 + 1) 4 = 28$  ekor.

Analisa data dilakukan secara deskriptif terhadap gambaran histologis yang diberi pewarnaan HE dan analisis secara kuantitatif untuk menilai jumlah spermatisit primer dan sel interstitial leydig masing-masing kelompok dan dibandingkan antar kelompok. Uji normalitas data menunjukkan distribusi normal apabila  $p > 0,05$  dan uji homogenitas apabila nilai  $p > 0,05$ . Selanjutnya akan dilakukan uji ANOVA dan uji *Pos Hoc LSD (Least Significant Differences)* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kelompok control dan kelompok perlakuan

**HASIL**

Data kuantitatif dari hasil pemeriksaan pada histologi testis terhadap jumlah spermatisit primer tersaji pada Tabel 1.

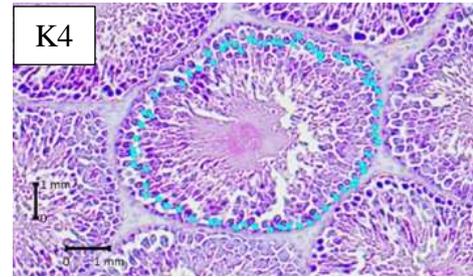
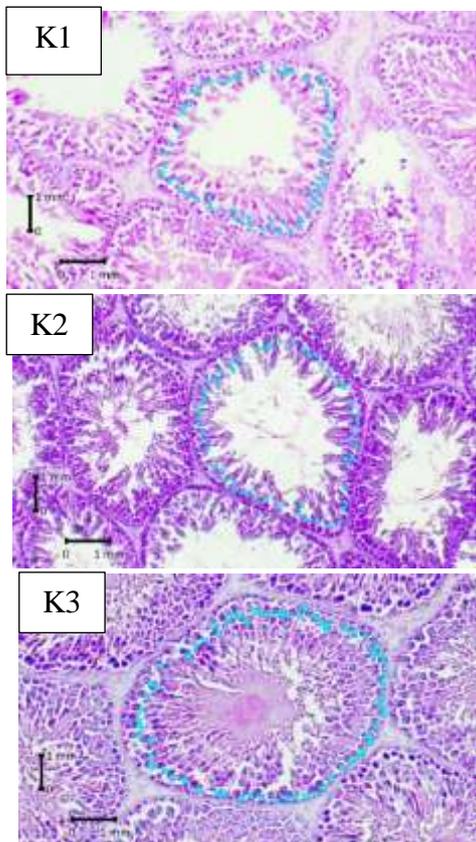
Tabel 1. Data Jumlah Spermatisit Primer

Kelompok	Jumlah Spermatisit Primer
	Mean ± SD
K1	67,41 ± 15,81
K2	55,72 ± 7,82
K3	66,24 ± 11,74
K4	56,73 ± 17,40

Hasil uji Shapiro Wilk dan Levene menunjukkan data normal namun tidak homogen, maka dilakukan uji *Post Hoc Test* sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA adalah 0.321 ( $p > 0,05$ ) yang

artinya tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap kelompoknya.

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan hasil bahwa spermatosit primer pada K1 dengan K3 tidak ada perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) yang artinya bahwa fermentasi madu 5% memiliki efek protektif terhadap produksi spermatosit primer hampir mencapai normal. Sedangkan pada K2 dengan K4 tidak ada perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) yang artinya bahwa fermentasi madu 10% memiliki efek protektif namun tidak sebaik fermentasi madu 5%. Namun pada K1 dengan K2 dan K4 memiliki perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) yang artinya cisplatin menyebabkan penurunan produksi pada spermatosit primer. Pada K3 dengan K2 dan K4 memiliki perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) yang artinya cisplatin menyebabkan penurunan produksi spermatosit primer.



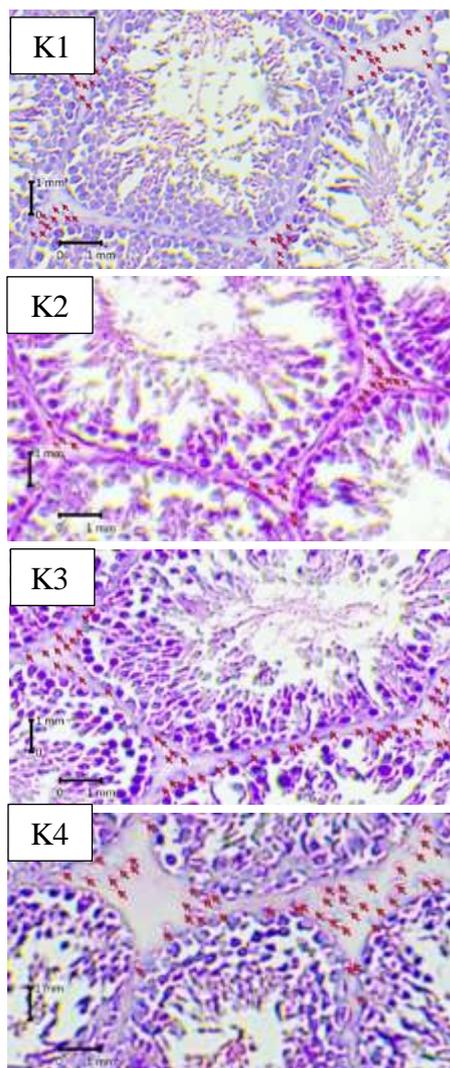
**Gambar 1.** Hasil pengamatan mikroskopik spermatosit primer pada K1, K2, K3 dan K4 (HE, 100x). terlihat adanya spermatosit primer (panah biru)

Tabel 2. Data Jumlah Sel Interstitial Leydig

Kelompok	Jumlah Sel Interstitial Leydig
	Mean $\pm$ SD
K1	54,79 $\pm$ 11,79
K2	24,72 $\pm$ 9,73
K3	35,94 $\pm$ 11,55
K4	44,88 $\pm$ 20,53

Hasil uji *Shapiro Wilk* dan *Levene* menunjukkan tidak normal dan tidak homogen maka dilakukan uji *Post Hoc Test* sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA adalah 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang artinya terdapat perbedaan bermakna setiap kelompok.

Berdasarkan Tabel 2 didapatkan hasil bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada K3 dan K4 yang artinya fermentasi madu 5% dan 10% mempengaruhi penurunan jumlah sel Leydig. Namun, pada K4 dan K1 tidak ada perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ) yang artinya kadar kreatinin pada kelompok pemberian fermentasi madu 10% hampir mendekati kadar kreatinin normal pada kelompok kontrol. Sedangkan pada K2 dengan K1 dan K4 terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) yang artinya cisplatin mempengaruhi jumlah sel Leydig pada tikus.



**Gambar 2.** Hasil pengamatan mikroskopik sel interstitial leydig pada K1, K2, K3 dan K4 (HE, 100x). terlihat adanya sel interstitial Leydig (panah merah)

## PEMBAHASAN

Berdasarkan Gambar 1. Hasil histologi menunjukkan adanya perbedaan antara K1 dan K2. Pada K1 yang tidak diinduksi cisplatin menunjukkan gambaran spermatosit primer yang terlihat lebih banyak dibandingkan dengan spermatosit primer pada K2, serta dapat terlihat juga beberapa tubulus seminiferus menyusut.

Reactive Oxygen Species (ROS) dalam cairan semen umumnya berasal

dari spermatozoa yang belum matang dan leukosit dalam semen. Pada dasarnya, jumlah ROS dibutuhkan dalam jumlah kecil oleh spermatozoa untuk mendukung proses seperti pematangan, kapasitas, hiperaktivasi, pergerakan, dan reaksi akrosom. Namun, ketika jumlah ROS berlebihan, hal ini dapat mengakibatkan kerusakan pada elemen-elemen seluler testis dan merusak DNA pada spermatozoa yang sudah matang (Agarwal et al., 2007).

Obat-obatan yang bersifat gonadotoksik dapat menimbulkan risiko terhadap kesuburan pada pria melalui empat mekanisme yang berbeda. Ini melibatkan efek gonadotoksik yang bekerja secara langsung pada sistem reproduksi, perubahan dalam sumbu hipotalamus-hipofisis-gonad, gangguan dalam fungsi ejakulasi, dan penurunan tingkat libido. Selain itu, gonadotoksik juga dapat memengaruhi proses spermatogenesis dengan merusak sel germinal di dalam testis atau mengganggu fungsi sel Sertoli (Cocuzza et al., 2013).

Berdasarkan Tabel 1. Hasil data histologi spermatosit primer K3 dan K4 yang diberi fermentasi madu 5% dan 10% serta diinduksi cisplatin menunjukkan peningkatan jumlah spermatosit primer. Pada K3 dengan fermentasi madu 5% memiliki efek bertambahnya jumlah spermatosit primer dibandingkan K2 yang tidak diberi fermentasi madu, rata-rata spermatosit primer K3 yaitu 66,2. Sedangkan pada K4 dengan fermentasi madu 10% jumlah spermatosit primer hampir sama dengan spermatosit primer K2. Namun berdasarkan Tabel. Spermatosit primer K2 dan K3 ada perbedaan bermakna dan K1 dan K4 ada perbedaan bermakna juga, tetapi

pada spermatosit K2 dan K4 tidak ada perbedaan bermakna. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan dari bentuk tubulus seminiferus pada tikus.

Berdasarkan Gambar 2. hasil histologi menunjukkan adanya perbedaan antara K1 dan K2. Pada K1 yang tidak diinduksi cisplatin menunjukkan jumlah sel Leydig yang lebih banyak dibanding K2 yang diinduksi cisplatin.

Sel Leydig memiliki peran penting dalam proses sintesis testosterone. Hormon luteinizing (LH) meningkatkan produksi testosterone dengan mengaktifkan sel Leydig. Testosterone, pada gilirannya, memiliki efek positif terhadap spermatogenesis dan perkembangan organ reproduksi pria. Penggunaan obat kemoterapi dalam dosis tinggi dapat mengakibatkan penurunan signifikan dan berkelanjutan dalam fungsi sel Leydig yang normal, mengakibatkan penurunan produksi androgen dan kerusakan yang bersifat permanen pada kesuburan (Zhang et al., 2022). Penurunan dalam fungsi sel Leydig juga berdampak negatif pada proses spermatogenesis, sehingga penurunan fungsi sel Leydig ini dapat dikaitkan dengan penyebab azoospermia.

Berdasarkan Tabel 2. Hasil data histologi sel Leydig K3 dan K4 yang diberi fermentasi madu 5% dan 10% serta diinduksi cisplatin menunjukkan berkurangnya penurunan jumlah sel Leydig. Pada K3 dengan fermentasi madu 5% memiliki efek peningkatan jumlah sel Leydig dibandingkan K2. Sedangkan, pada K4 dengan fermentasi madu 10% terdapat peningkatan jumlah sel Leydig yang lebih banyak dibandingkan K3 namun belum mencapai K1. Berdasarkan Tabel. K2 dengan K3 tidak ada perbedaan

bermakna sedangkan K3 dan K1 dan K4 tidak ada perbedaan bermakna. Hal ini dikarenakan pada K3 peningkatan jumlah sel Leydig dengan fermentasi madu 5% tidak mengalami peningkatan signifikan, sedangkan pada K4 dengan fermentasi madu 10% sel Leydig mengalami peningkatan yang signifikan yang hampir sama dengan jumlah normal.

Dalam penelitian ini, pemberian madu menunjukkan dampak perlindungan terhadap sel Leydig terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh cisplatin. Madu kaya akan antioksidan, sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan oleh cisplatin. Temuan ini sejalan dengan laporan yang disajikan oleh Banihani, yang menyatakan bahwa madu memiliki kemampuan untuk mengurangi stres oksidatif pada testis, sehingga madu dapat berperan dalam melindungi sel Leydig dan meningkatkan kelangsungan hidupnya (Banihani, 2019).

Berkurangnya efek cisplatin ini dikarenakan dipengaruhi fermentasi madu 5% dan 10% yang mengandung antioksidan seperti flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok terbesar dari senyawa fitonutrien yang dapat dikelompokkan menjadi antosianidin, flavanol, flavon, flavonol, flavonon, dan isoflavon. Cara kerja flavonoid dalam meningkatkan efektivitas pengobatan dengan cisplatin adalah dengan mengurangi aktivitas mesin oksidatif dalam sel, mendukung fungsi mitokondria yang bermasalah, dan akhirnya memicu proses apoptosis (Dasari et al., 2022).

Pengaruh yang sama pada pemberian fermentasi madu 5% sebagai dosis efektif mampu memperbaiki jaringan pancreas

(Mahlani et.al., 2023). Dengan demikian, pada penelitian ini secara mikroskopik terlihat efek pemberian fermentasi madu dapat meningkatkan produksi spermatis primer yang mengalami penurunan dari efek cisplatin.

#### SIMPULAN

1. Fermentasi madu dosis 5% efektif meningkatkan jumlah spermatis primer pada dinding tubulus seminiferus tikus yang diinduksi cisplatin.
2. Fermentasi madu dosis 10% efektif meningkatkan jumlah sel interstitial Leydig pada dinding tubulus seminiferous pada tikus yang diinduksi cisplatin.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A & Hamza, A. (2006). Effects of Roselle and Ginger on Cisplatin-Induced Reproductive Toxicity in Rats. *Asian Journal of Andrology* 8 (5), 607 - 612.
- Banihani, SA.,(2019). Effect of ginger (*Zingiber officinale*) on semen quality, *Andrologia* 51, 6
- Cocuzza et al., (2013). The epidemiology and etiology of azoospermia, *Clinics (Sao Paulo)* ;68 Suppl 1:15-26.
- Dasari, et al.,(2022). Pharmacological Effects of Cisplatin Combination with Natural Products in Cancer Chemotherapy, *Int.J.Mol.Sci.* 23: 1532
- Dharma, S. (2015). The Effect of Chemotherapy in Cancer Patient to Anxiety. *J Majority* 4 (4), 94 - 99.
- Garcia dkk. (2015). Ghrelin Prevents Cisplatin-Induced Testicular Damage by Facilitating Repair of DNA Double Strand Breaks Through Activation of p53 in Mice. *Biology of Reproduction* 93 (1), 1 - 8.
- Gtód, B & Piszcz, P. (2021). Changes in the Antioxidative Properties of Honeys During their Fermentation. *Open Chemistry* 19, 600 - 603.
- Mahlani M., Hadi RS., Arifandi, Mustofa MS.,2023. Pengaruh Fermentasi Madu (*Apis Mellifera*) terhadap Histologi Pankreas Tikus yang Diinduksi Cisplatin dan Tinjaunnya Menurut Pandangan Islam, *Junior Medical Journal* 2 (1), 17-29.
- Mohapatra dkk. (2011). Antibacterial efficacy of raw and processed honey. *Biotechnology research international*, 2011.
- Safitri, E. (2020). Molecular Detection and Immune Response of Bee Product Therapy for Induction of Endogenous Mesenchymal Stem Cells of Infertile Male Wistar Rat's (*Rattus norvegicus*). *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 8 (12), 1388 - 1393.
- Sumarlin dkk. (2014). Aktivitas Antikanker dan Antioksidan Madu di Pasaran Lokal Indonesia. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 19 (3). 136 - 144.
- Zhang et al., (2022), Activation of Autophagy by Low-Dose Silica Nanoparticles Enhances Testosterone Secretion in Leydig Cells, *Int. J. Mol. Sci.* 3 (6), 3104