

Rumpun Ilmu	: Biologi Reproduksi
Bidang Keahlian	: Biological Sciences
Jenis Riset	: Dasar

LAPORAN KEMAJUAN
SKEMA PENELITIAN DASAR



STUDI IN VIVO POTENSI DAUN BAYAM MERAH SEBAGAI UPAYA
PREVENTIF TERHADAP RADIKAL BEBAS PARACETAMOL DOSIS TOKSIK
PADA KUALITAS SPERMA DAN SISTEM ESKRESI

TIM PENELITI :

Ketua : Haris Setiawan, S.Pd., M.Sc.
Anggota : 1. Irfan Yuniarto, S.Si., M.Sc., Ph.D.
2. dr. Ario Tejosukmono, MMR
Mahasiswa Terlibat : 1. Cucu Cahyanti (1600017173)
2. Siska Wulandari (1900017078)
3. Sonya Tri Susilawati (1900017071)
4. Isma Sakinati (1900017097)
5. Aulia Syafadilla Azali (2000017054)

BIOLOGI
SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
MARET 2024

**PENELITIAN DANA INTERNAL UAD
TAHUN AKADEMIK 2023/2024**

A. DATA PENELITIAN

1. Identitas Penelitian

- a. NIY/NIP : 199202112017091111281001
- b. Nama Lengkap : Haris Setiawan, S.Pd., M.Sc.
- c. Judul : Studi In Vivo Potensi Daun Bayam Merah sebagai Upaya Preventif terhadap Radikal Bebas Paracetamol Dosis Toksik pada Kualitas Sperma dan Sistem Ekskresi
- d. Lokasi Penelitian : Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan
- e. Lama Penelitian : 8 Bulan
- f. Tanggal Mulai : 01 Agustus 2023
- g. Tanggal Rencana Selesai : 30 Maret 2024

2. Skema Penelitian

- a. Skema Penelitian : Internal - Penelitian Dasar
- b. Jenis Riset : Dasar
- c. Tingkat Kesiapterapan Teknologi (TKT) : 3
- d. Tujuan Sosial Ekonomi (TSE) : 20.08-Biological sciences
- e. Bidang Kepakaran : Biological Sciences
- f. Bidang Fokus : Kesehatan, Obat, dan Pangan
- g. Tema Penelitian : Eksplorasi senyawa bioaktif tanaman sebagai sumber obat dan nutrisi masa depan
- h. Topik Penelitian : Potensi antioksidan tanaman herbal sebagai upaya preventif kerusakan jaringan akibat radikal bebas
- i. Renstra Penelitian : Program Studi
- j. Rumpun Ilmu : Biologi Reproduksi

B. SUBSTANSI PENELITIAN

Data Mitra

- a. Nama Mitra :
- b. Alamat Mitra :

C. ANGGOTA PENELITIAN

1. Anggota Internal

- Nama Anggota Internal : 1. Irfan Yuniyanto , S.Si., M.Sc., Ph.D.
2. dr. Ario Tejosukmono, MMR

2. Anggota Mahasiswa

- Nama Anggota Mahasiswa : 1. Cucu Cahyanti (1600017173)
2. Siska Wulandari (1900017078)
3. Sonya Tri Susilawati (1900017071)
4. Isma Sakinati (1900017097)
5. Aulia Syafadilla Azali (2000017054)

3. Anggota Eksternal

- Nama Anggota Eksternal : -

LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN

Ringkasan Penelitian, terdiri dari 250-500 kata, berisi: latar belakang penelitian, tujuan penelitian, tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, uraian TKT penelitian yang ditargetkan serta hasil penelitian yang diperoleh sesuai dengan tahun pelaksanaan penelitian.

RINGKASAN

Penggunaan parasetamol dalam dosis berlebih (dosis toksik) dapat membentuk senyawa NAPQI yang menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh dan berpotensi menurunkan kualitas organ reproduksi. Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang berpotensi sebagai sumber antioksidan dalam menangkal radikal bebas akibat parasetamol. Penelitian bertujuan mengetahui potensi ekstrak etanol Bayam Merah terhadap organ reproduksi (kualitas sperma dan histologi testis) Tikus Wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Metode penelitian menggunakan 24 ekor Tikus Wistar (4 perlakuan dengan 6 ulangan) yang terdiri dari Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kgBB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kgBB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB). Parameter organ reproduksi terdiri dari kualitas sperma dan struktur histologi testis (jumlah sel Leydig dan indeks spermatogenesis). Pemberian ekstrak dilakukan pada hari ke 1-15, sedangkan parasetamol diberikan pada hari ke 11-15. Pada hari ke-16, tikus dikorbankan untuk diamati kualitas sperma dan pembuatan sediaan histologis testis (metode paraffin; pewarnaan HE). Seluruh data dianalisis menggunakan *One-Way* ANOVA dengan uji Duncan ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan kualitas sperma dosis 0,4 g/Kg BB memiliki jumlah motilitas, jumlah sel, viabilitas dan morfologi sperma lebih tinggi dibandingkan antar perlakuan ($P < 0,05$). Jumlah sel Leydig dan indeks spermatogenesis juga memperlihatkan dosis 0,4 dan 0,8 g/Kg BB lebih tinggi dibandingkan antar perlakuan ($P < 0,05$). Kesimpulan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Bayam Merah dosis 0,4 g/Kg BB dapat berpotensi dalam melindungi kualitas sperma dan organ testis Tikus Wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik selama 15 hari.

Kata kunci maksimal 5 kata kunci. Gunakan tanda baca titik koma (;) sebagai pemisah dan ditulis sesuai urutan abjad

Kata Kunci : Bayam Merah, Kualitas Sperma, Testis, Ginjal, Hati

Hasil dan Pembahasan Penelitian, terdiri dari 1000-1500 kata, berisi: (i) kemajuan pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian, (ii) data yang diperoleh, (iii) hasil analisis data yang telah dilakukan, (iv) pembahasan hasil penelitian, serta (v) luaran yang telah didapatkan. Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. **Penyajian data dan hasil penelitian** dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya serta didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN

Kualitas Sperma

Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak etanol Bayam Merah dapat melindungi penurunan kualitas sperma akibat parasetamol dosis toksik dengan beberapa parameter seperti

motilitas, morfologi dan viabilitas sperma ($P < 0,05$), namun pada jumlah sel sperma tidak berbeda nyata secara signifikan ($P > 0,05$). Hasil pengamatan kualitas sperma dapat dilihat pada tabel berikut,

Tabel 1. Kualitas sperma Tikus Wistar setelah perlakuan

Variabel	Kontrol	KN	P1	P2
Motilitas (%)	82,03±13,24 ^b	60,70±17,21 ^a	90,59±6,53 ^b	83,97±12,87 ^b
Jumlah Sperma (x10 ⁶ sel/ml)	381,25±101,68 ^a	290,00±114,67 ^a	375,00±77,13 ^a	342,50±31,22 ^a
Morfologi (%)	69,37±5,49 ^c	39,23±6,57 ^a	59,04±10,23 ^{bc}	55,80±5,32 ^b
Viabilitas (%)	46,68±19,14 ^b	15,16±4,94 ^a	47,89±8,84 ^b	31,44±9,34 ^{ab}

Keterangan : Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB). Superscript a-b yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P < 0,05$). Mean ± SD.

Berdasarkan Tabel 1, hasil penelitian menunjukkan pada pada motilitas, morfologi, dan viabilitas sperma terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P < 0,05$). Pemberian ekstrak dosis 0,4 g/Kg BBB memiliki motilitas, morfologi dan viabilitas paling tinggi, sedangkan pada perlakuan yang diberikan parasetamol memiliki nilai yang paling rendah ($P < 0,05$). Namun hasil penelitian tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan pada jumlah sperma antar perlakuan ($P > 0,05$). Hasil tersebut memperlihatkan parasetamol dosis toksik (0,5 g/Kg BB) dapat menurunkan motilitas, morfologi, dan viabilitas sperma Tikus Wistar. Terdapat upaya preventif terhadap penurunan kualitas sperma Tikus Wistar dengan dosis yang paling optimum pada 0,4 g/Kg BB.

Parasetamol (*acetaminophen*) dalam jumlah berlebih menyebabkan kualitas sperma rendah akibat tingginya *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam tubuh yang berperan memicu reaksi stress oksidatif. Senyawa NAPQI hasil metabolisme dari konsumsi parasetamol memicu reaksi stress oksidatif (terjadi peroksidasi lipid), sehingga berakibat pada penurunan kualitas sperma^[1]. Salah satu dampak dari penurunan kualitas sperma adalah menurunnya kemampuan gerak sel sperma (motilitas sperma)^[2]. Peningkatan peroksidasi lipid mengakibatkan hilangnya fluiditas dan integritas membrane pada sel sperma. Hal tersebut yang menyebabkan proses spermatogenesis terganggu dan meningkatkan jumlah sperma dengan morfologi abnormal^[1]. Morfologi sperma abnormal dapat mengganggu kemampuan pergerakan sel sperma, sehingga berpengaruh terhadap penurunan motilitas sperma. Kemampuan pergerakan (motilitas) sel sperma berperan penting dalam proses fertilisasi sperma dengan ovum^[3].

ROS memiliki sifat reaktif dalam mengganggu permeabilitas sel sperma terutama lapisan lipid sebagai struktur pembentuk lapisan membran sel^[4]. Permeabilitas membran yang terganggu dapat menyebabkan viabilitas sperma (kemampuan hidup) menurun^[5]. Pemberian dosis parasetamol 0,5 g/Kg BB tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan pada jumlah sel sperma, namun secara fisiologis dapat menurunkan viabilitas dan morfologi sperma, serta peningkatan morfologi sperma abnormal^[6].

Pemberian ekstrak etanol daun Bayam Merah diduga dapat menangkal radikal bebas akibat induksi parasetamol dosis toksik. Bayam Merah diduga memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan^[7]. Daun tersebut memiliki senyawa quercetin (golongan flavonoid) sebesar 4,89 (mg QE/ 100g). Senyawa tersebut diduga melindungi DNA dan membran pada sel sperma akibat radikal bebas dan mencegah terjadinya kematian sel sperma (mempertahankan viabilitas sel) dengan menghambat proses peroksidasi lipid^[8]. Dengan demikian, mekanisme antioksidan dalam meningkatkan motilitas sperma yaitu dengan melindungi sel-sel sperma dari

kerusakan oksidatif akibat radikal bebas^[9]. Antioksidan pada Bayam Merah diduga juga melindungi mitokondria pada sel sperma dari kerusakan oksidatif. Hal tersebut menyebabkan perlindungan pada mitokondria, sehingga sel sperma viabilitas dan motilitas sperma dapat stabil^[10].

Indeks Gonad dan Struktur Histologi Testis

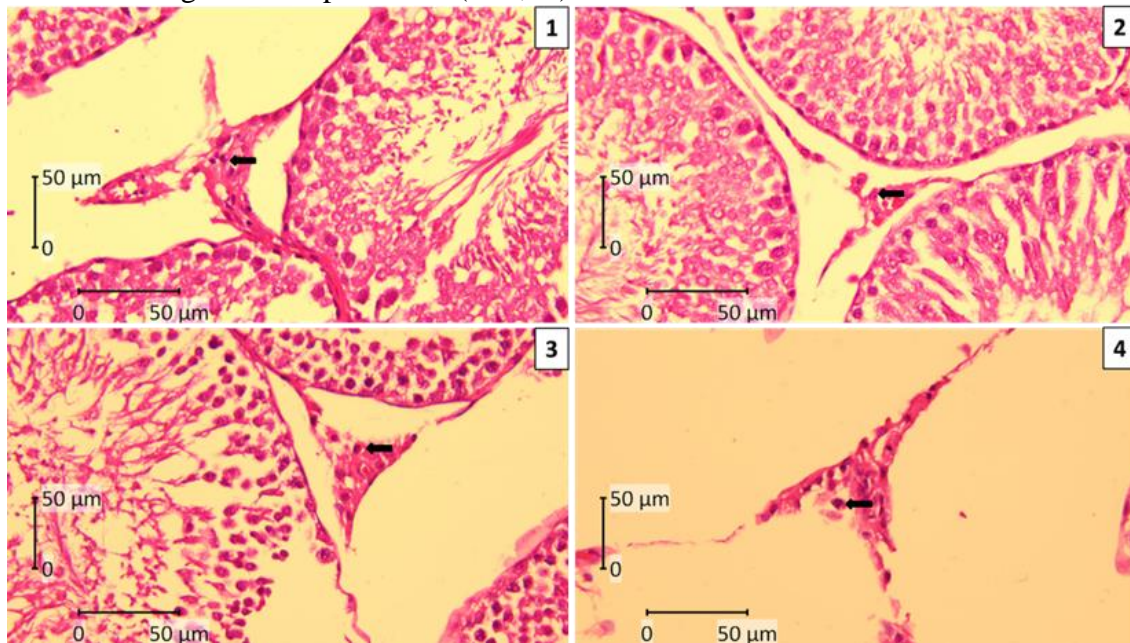
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Bayam Merah dapat melindungi kerusakan testis akibat pemberian parasetamol dosis toksik. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut,

Tabel 2. Hasil indeks gonad dan histologi testis Tikus Wistar setelah perlakuan

Variabel	Kontrol	KN	P1	P2
Bobot testis (g)	1,37±0,12 ^a	1,40±0,15 ^a	1,34±0,12 ^a	1,27±0,09 ^a
Indeks gonad (%)	0,56±0,09 ^a	0,68±0,05 ^a	0,62±0,07 ^a	0,57±0,08 ^a
Jumlah sel Leydig	144,25±6,76 ^b	108,75±7,69 ^a	147,00±7,45 ^b	161,00±12,92 ^b
Indeks spermatogenesis (%)	84,76±0,74 ^b	78,78±1,52 ^a	82,08±0,50 ^{ab}	83,59±2,10 ^b

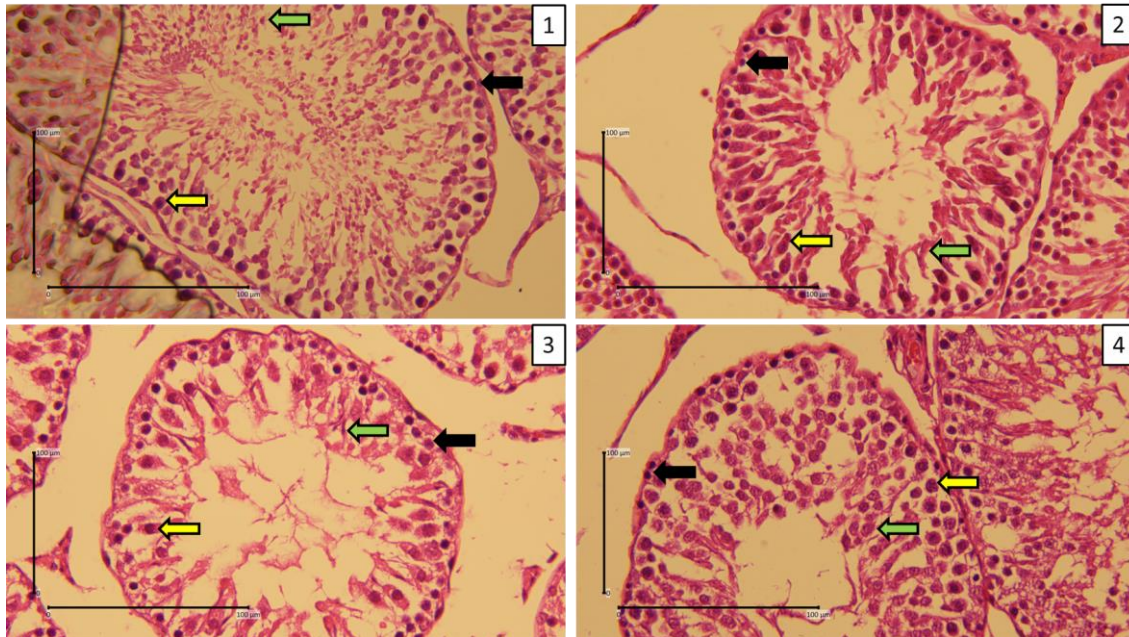
Keterangan : Kontrol (akuades), KN (parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P1 (ekstrak dosis 0,4 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB), P2 (ekstrak dosis 0,8 g/kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/kg BB). Superscript a-b yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan adanya beda nyata ($P < 0,05$). Mean ± SD.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara signifikan pada bobot testis dan indeks gonad ($P < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis toksik dan pemberian Bayam Merah tidak mempengaruhi perubahan pada bobot testis selama perlakuan, namun pada jumlah sel Leydig dan indeks spermatogenesis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$). Hasil menunjukkan pada dosis 0,4 g/Kg BB dan 0,8 g/Kg BB memiliki jumlah sel leydig dan indeks spermatogenesis paling tinggi ($P < 0,05$), sedangkan KN memiliki nilai terendah dibandingkan antar perlakuan ($P < 0,05$).



Gambar 1. Histologi sel Leydig setelah perlakuan. Keterangan: 1(Kontrol/pemberian akuades), 2 (KN/ parasetamol dosis 0,5 g/Kg BB), 3 (P1/ ekstrak dosis 0,4 g/Kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/Kg BB), 4

(P2/ ekstrak dosis 0,8 g/Kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/Kg BB), Panah hitam (sel Leydig di jaringan interstitial tubulus seminiferus), *scale bar* 50µm, pewarnaan HE.



Gambar 2. Histologi tubulus seminiferus setelah perlakuan. Keterangan: 1(Kontrol/pemberian akuades), 2 (KN/ parasetamol dosis 0,5 g/Kg BB), 3 (P1/ ekstrak dosis 0,4 g/Kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/Kg BB), 4 (P2/ ekstrak dosis 0,8 g/Kg BB dan parasetamol dosis 0,5 g/Kg BB), Panah hitam (sel spermatogonium), panah kuning (sel spermatisit), panah hijau (sel spermatid)), *scale bar* 100µm, pewarnaan HE.

Pada Gambar 1 memperlihatkan susunan sel leydig pada seluruh perlakuan dengan sel leydig pada dosis 0,4 g/Kg BB dan 0,8 g/Kg BB memiliki jumlah yang banyak dan tersusun padat. Pada Gambar 2, terlihat bahwa susunan sel spermatogenik pada Kontrol cenderung padat, sedangkan pada KN sel spermatogenik tersusun tidak beraturan dengan lumen yang luas. Pada dosis 0,4 g/Kg BB dan 0,8 g/Kg terdapat upaya sel dalam memperbaiki susunan dari sel spermatogenik di dalam tubulus seminiferous (Gambar 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dapat melindungi sel leydig dan indeks spermatogenesis akibat pemberian parasetamol dosis toksik.

Parasetamol akan dimetabolisme dihati melalui proses oksidasi oleh CYP-450 dan menghasilkan produk radikal bebas yaitu NAPQI (berikatan dengan glutathion di hati). Ketika parasetamol dikonsumsi secara berlebihan, maka produk NAPQI akan meningkat dan tidak sebanding dengan jumlah glutathion di hati, sehingga NAPQI didistribusikan ke seluruh tubuh dan mengikat dengan sel dan komponennya (lemak, protein, karbohidrat, DNA dan RNA)^[11]. Sel Leydig juga mengandung lipid (kolesterol) yang menyebabkan senyawa radikal bebas mudah berikatan dengan sel tersebut^[12]. Hal ini menyebabkan terbentuknya stress oksidatif dengan cara mengaktifkan aksis *hipotalamus-pituitari-adrenal* (HPA) dan melepaskan hormon kortikosteron sebagai respons terhadap stres. Meningkatnya hormon kortisol akan mengganggu sekresi hormon *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH), sehingga menurunkan sekresi hormon *Leutenizing Hormon* (LH) dan *Follicle Stimulaing Hormon* (FSH). Menurunnya LH akan mengakibatkan penurunan proliferasi sel germinativum yang berdampak terjadinya apoptosis^[13]. Proses apoptosis ini dapat mengurangi jumlah sel spermatogenik yang berproliferasi di dalam tubulus seminiferous.

Testis sebagian besar tersusun oleh *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Radikal bebas NAPQI yang dihasilkan oleh parasetamol mudah bereaksi dengan PUFA, sehingga mengakibatkan peroksidasi lipid [14]. Peroksidasi lipid ini akan menghambat kerja aksis *hypothalamus-hipofisis-testis*, sehingga mengganggu sekresi FSH dan LH. Hal tersebut menyebabkan produksi hormon testosteron pada sel Leydig menurun dan akan berdampak pada proses spermatogenesis [15]. Hal tersebut diduga menjadi penyebab berkurangnya sel spermatogenik dalam tubulus seminiferus, sehingga persentase indeks spermatogenesis menurun pada perlakuan Kontrol Negatif.

Kandungan Kuersetin pada Bayam Merah memiliki kemampuan untuk memperlambat atau mencegah reaksi oksidasi. Kuersetin berperan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan dari dalam tubuh, seperti *glutathione s-transferase* (GST), *Superoksida Dismutase* (SOD) dan katalase untuk menangkal radikal bebas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks spermatogenesis dan jumlah sel Leydig pada dosis 0,4 g/Kg BB dan 0,8 g/Kg BB memiliki nilai rerata yang sama dengan kontrol ($P < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat upaya preventif dari ekstrak dalam menangkal radikal bebas akibat parasetamol. Berdasarkan dari beberapa parameter yang telah diteliti, dosis 0,4 g/Kg BB merupakan dosis yang paling efektif ekstrak etanol daun Bayam Merah dalam melindungi organ reproduksi Tikus Wistar setelah diinduksi parasetamol dosis toksik.

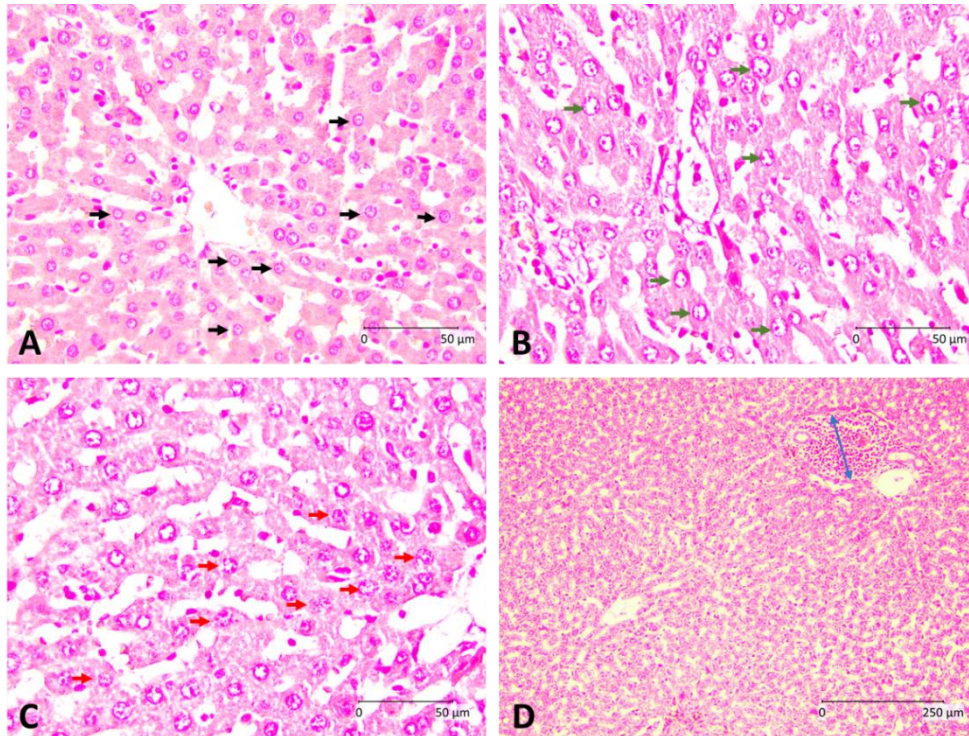
Histopatologi Hati

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak etanol daun bayam merah tidak berdampak pada bobot badan, bobot hepar dan indeks hepar ($P > 0,05$) (Tabel 1). Histopatologi hepar tikus menunjukkan bahwa pemberian Parasetamol dosis toksik merusak hepar tikus secara mikroskopis yaitu terdapat area inflamasi, luas area hepatosit dan jumlah sel yang mengalami nekrosis lebih banyak pada Kontrol Negatif ($P < 0,05$) (Tabel 3).

Tabel 3. Bobot badan dan Struktur histopatologi jaringan hepar pada perlakuan

Variabel	Kontrol	KN	P1	P2
Bobot badan hari ke-0 (g)	232.25 ± 16.87 ^a	207 ± 18.38 ^a	208.25 ± 15.47 ^a	232.25 ± 24.14 ^a
Bobot badan hari ke-11 (g)	238.25 ± 22.85 ^a	213 ± 17.16 ^a	216.5 ± 10.84 ^a	205.5 ± 35.56 ^a
Bobot badan hari ke-15 (g)	213.25 ± 26.56 ^a	240.75 ± 43.77 ^a	210.25 ± 3.59 ^a	219.5 ± 30.25 ^a
Bobot hepar (g)	7.58 ± 1.12 ^a	8.07 ± 2.28 ^a	6.89 ± 1.13 ^a	7.69 ± 1.54 ^a
Indeks hepatosit (%)	3.55 ± 0.24 ^a	3.31 ± 0.4 ^a	3.48 ± 0,27 ^a	3.48 ± 0.25 ^a
Jumlah hepatosit	399.50 ± 34.14 ^b	244,25 ± 24,46 ^a	293.25 ± 11.24 ^a	370 ± 54.12 ^b
Luas hepatosit (µm ²)	197.44 ± 16.01 ^a	323.38 ± 7.83 ^c	300.55 ± 6 ^b	286.48 ± 17.23 ^b
Jumlah sel nekrosis	124.5 ± 40.09 ^a	378 ± 23.02 ^c	160.5 ± 25.59 ^a	294.5 ± 31.63 ^b
Luas area inflamasi (mm ²)	1.26 ± 0.32 ^a	7.67 ± 4.14 ^b	3.90 ± 0.71 ^a	2.17 ± 1.75 ^a

Notes: Control (distilled water), KN/Kontrol Negatif (Paracetamol toxic dose 0.5 g/kg BW), P1 (extract 0.4 g/kg BW + Paracetamol toxic dose 0.5 g/kg BW), P2 (extract 0.8 g/kg BW + Paracetamol toxic dose 0.5 g/kg BW). a,b Different superscripts in the same rows showed significant differences ($p < 0.05$).



Gambar 3. Struktur histologi hepar setelah perlakuan. Keterangan: A. Hepatosit normal (panah hitam), B. Pembengkakan sel (panah hijau), C. Sel nekrosis (panah merah), D. Area Inflamasi (panah biru). Scale bar 50 μm dan 250 μm . Pewarnaan HE.

Terdapat upaya preventif ekstrak etanol daun Bayam merah pada tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Gambar 1B menunjukkan terdapat pembengkakan sel hepatosit, dan Gambar 1C menunjukkan sel hepatosit mengalami nekrosis akibat paparan parasetamol dosis toksik. Pada dosis 0,8 g/Kg BB mengalami penurunan jumlah sel nekrosis jika dibandingkan dengan Kontrol Negatif ($P < 0.05$). pada dosis 0,8 g/Kg BB juga memiliki jumlah sel hepatosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan KN ($P < 0.05$). Nekrosis yang terjadi disebabkan oleh akumulasi NAPQI pada hepar akibat paparan Parasetamol dosis toksik^[16]. Hasil pengamatan juga menunjukkan pada dosis 0,4 dan 0,8 g/Kg BB memiliki luas sel yang lebih rendah dibandingkan dengan KN ($P < 0.05$), hal tersebut menunjukkan bahwa sel hepatosit tidak mengalami pembengkakan.

Senyawa NAPQI dalam Parasetamol membentuk ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang memicu pelepasan *Damage-associated molecular pattern* (DAMPs), sehingga menginduksi dan merespon reaksi inflamasi pada sel hepatosit (gambar 1D). Mekanisme tersebut menghasilkan penarikan neutrofil, eosinofil dan makrofag. Sel-sel ini bersama dengan sel T gammadelta ($\gamma\delta$) dan sel dendritik akan mengeluarkan sitokin yang memediasi peradangan pada cedera hepar yang diinduksi oleh Parasetamol^[17]. Hasil menunjukkan area peradangan ditemukan paling rendah pada Kontrol (pemberian akuades), P1, dan P2 ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah dosis 0,4 g/Kg BB dapat mereduksi area inflamasi dan sel yang mengalami nekrosis akibat radikal bebas karena paparan Parasetamol dosis toksik.

Upaya perlindungan yang terjadi disebabkan oleh aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bayam merah selama 15 hari perlakuan. Daun bayam merah memiliki empat kandungan flavonoid terbesar yaitu kuersetin, katekin, mirisetin dan apigenin. Kuersetin dapat secara signifikan

menurunkan NAPQI yang dimetabolisme dari Parasetamol. Kuersetin dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan menghambat peroksidasi lipid serta efektif dalam pengobatan kerusakan hepar^[18].

Kuersetin juga berperan sebagai anti-inflamasi mampu menghambat produksi TNF- α yang diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS) di makrofag. Kuersetin juga mampu menurunkan sitokin inflamasi di antaranya IL-1y, IL-6, dan TNF-y (Li dkk., 2016). Berdasarkan kemampuan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun bayam merah dosis 0,4 g/kg BB dan 0,8 g/kg BB menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok Kontrol Negatif. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol daun bayam merah memiliki kemampuan dalam menghambat inflamasi akibat parasetamol dosis toksik.

Histopatologi Ginjal

Hasil penelitian menunjukkan upaya preventif ekstrak etanol daun bayam merah pada beberapa parameter histopatologi ginjal. Area hemoragi yang paling luas terjadi pada perlakuan Kontrol Negatif. Area hemoragi pada perlakuan Kontrol, P1, dan P2 memiliki luas hemoragi yang paling sempit (tabel 2). Jumlah sel nekrosis paling tinggi ditemukan pada Kontrol Negatif, sedangkan pada kontrol dan dosis 0,4 g/Kg BB memiliki jumlah sel nekrosis yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya (tabel 4).

Tabel 4. Struktur histopatologi ginjal pada perlakuan

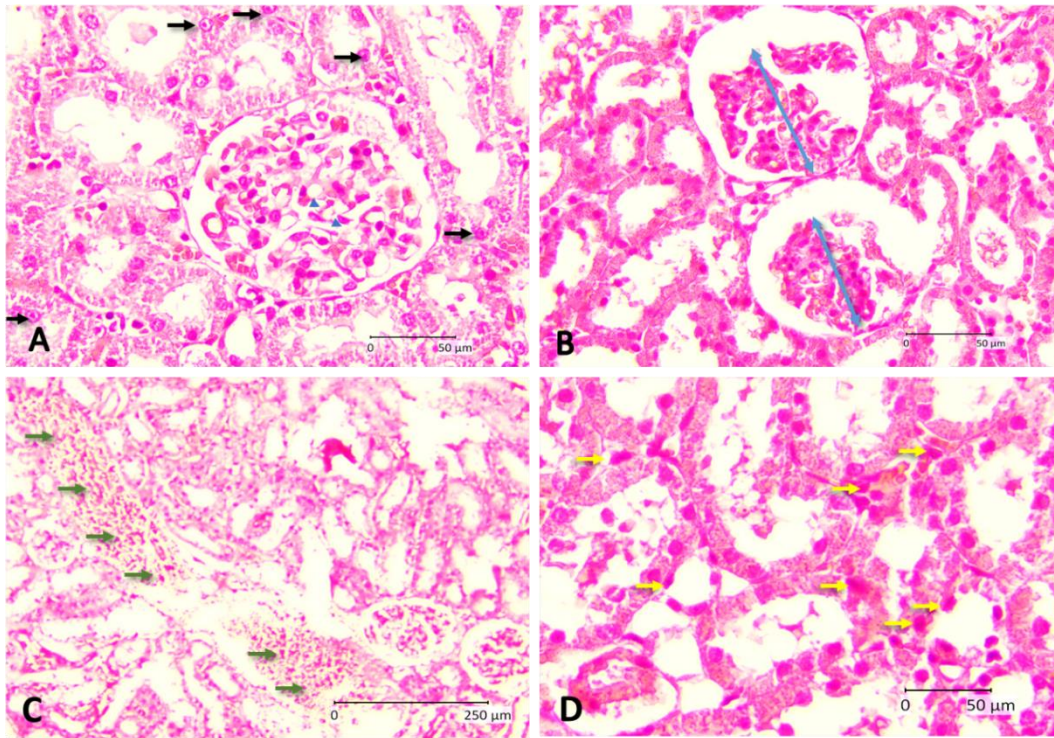
Variabel	Kontrol	KN	P1	P2
Luas Hemoragi (mm ²)	1.75 \pm 0.43 ^a	3.01 \pm 0.88 ^b	1.74 \pm 0.16 ^a	1.4 \pm 0.63 ^a
Jumlah sel nekrosis	199.00 \pm 3.74 ^a	301.25 \pm 20.69 ^c	201.50 \pm 32.18 ^a	252.25 \pm 22.81 ^b
Luas glomerulus (mm ²)	5.12 \pm 0.09 ^b	3.59 \pm 0.83 ^a	6.10 \pm 0.84 ^b	5.88 \pm 0.57 ^b
Jumlah glomerulus	199.00 \pm 50.70 ^c	90.75 \pm 56.86 ^a	153.75 \pm 15.56 ^b	138.75 \pm 19.09 ^b

Notes: Control (distilled water), KN/Kontrol Negatif (Paracetamol toxic dose 0.5 g/kg BW), P1 (extract 0.4 g/kg BW + Paracetamol toxic dose 0.5 g/kg BW), P2 (extract 0.8 g/kg BW + Paracetamol toxic dose 0.5 g/kg BW). a,b,c Different superscripts in the same rows showed significant differences (p<0.05).

Hasil pengamatan luas glomerulus memiliki perbedaan nyata secara signifikan (P<0.05). Glomerulus pada perlakuan Kontrol Negatif memiliki luas paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Glomerulus pada perlakuan Kontrol, dosis 0,4 dan 0,8 g/Kg BB memiliki luas glomerulus yang cenderung lebih luas dibandingkan perlakuan Kontrol Negatif. Perlakuan Kontrol Negatif memiliki jumlah glomerulus paling sedikit dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan pada perlakuan dosis 0,4 dan 0,8 g/Kg BB memiliki jumlah glomerulus yang paling banyak dibandingkan dengan perlakuan lain (P<0.05).

Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi parasetamol dosis toksik dapat meningkatkan akumulasi NAPQI (senyawa toksik) yang dapat mengurangi permeabilitas membran sel pembuluh darah, sehingga terjadi kebocoran pembuluh darah (hemoragi). NAPQI juga mengakibatkan penyumbatan pada pembuluh darah dan mengakibatkan tekanan pada pembuluh darah lebih tinggi dibanding tekanan pada jaringan, sehingga terjadi kerusakan kapiler darah dan mengakibatkan sel darah keluar dari pembuluh darah^[19]. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa akumulasi NAPQI akibat parasetamol dosis toksik mengakibatkan sel-sel pada tubulus dalam korteks ginjal mengalami stress oksidatif dan menyebabkan sel mengalami nekrosis. Induksi parasetamol dosis toksik dapat menyebabkan kerusakan sel seperti nekrosis pada tubulus ginjal yang diakibatkan

oleh akumulasi senyawa toksik NAPQI sehingga sel mengalami stress oksidatif dan mengakibatkan terjadinya nekrosis sel [20].



Gambar 4. Struktur histologi ginjal setelah perlakuan. Keterangan: A. Struktur sel normal (panah hitam), B. penyempitan glomerulus (biru), C. hemoragi (panah hijau), D. sel nekrosis (panah kuning). Scale bar 50 µm dan 250 µm. Pewarnaan HE.

Peningkatan kadar senyawa toksik NAPQI yang terjadi secara terus menerus dapat mengakibatkan deplesi glutathion seluler dan secara kovalen mengikat senyawa toksik NAPQI akan berikatan dengan protein seluler dan menginisiasi pembentukan ROS. Mekanisme ini terjadi ketika akumulasi NAPQI menginisiasi pembentukan ROS berlebih yang mengakibatkan sel mengalami stress oksidatif sehingga sel-sel mesangial dan endotel glomerulus mengalami kerusakan dan mempersempit luas glomerulus. Akumulasi senyawa NAPQI yang meningkat secara terus menerus serta terjadinya hemoragi juga dapat mengakibatkan sebagian glomerulus hancur sehingga terjadi penurunan jumlah glomerulus [17].

Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa antioksidan daun bayam merah memberikan upaya perlindungan pada jaringan yang diinduksi parasetamol dosis toksik lebih optimal pada perlakuan P1 dengan pemberian ekstrak etanol daun bayam merah dosis 0,4 g/Kg BB. Perlakuan P1 dapat melindungi radikal bebas yang merusak sel ginjal, ditandai dengan jumlah sel tubulus yang mengalami nekrosis lebih rendah dan menyamai Kontrol. Hal ini juga berbanding lurus dengan luas dan jumlah glomerulus yang jauh lebih baik pada perlakuan P1, serta hemoragi yang terjadi pada perlakuan P1 yang menyamai Kontrol.

Pemberian ekstrak daun bayam merah memiliki peran dalam upaya melindungi organ ginjal dari kerusakan seperti terjadinya hemoragi. Daun bayam merah memiliki kandungan senyawa quersetin yang merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol. Quersetin merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas dan memperkuat

sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh. Dengan demikian Quersetin dapat meningkatkan glutathione dan mendetoksifikasi NAPQI. Senyawa NAPQI oleh glutathione akan diubah menjadi asam merkapturat yang bersifat tidak toksik, sehingga mencegah terjadinya akumulasi zat toksik dalam pembuluh darah. Quersetin yang merupakan golongan flavonoid ini juga berperan dalam meningkatkan permeabilitas membran sel pembuluh darah, sehingga dapat mencegah terjadinya kebocoran pembuluh darah ^[21].

Status Luaran, berisi **jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan** (jika ada) yang dijanjikan. **Lampirkan bukti dokumen** ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan **bukti kemajuan** ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan. Jika sudah ada bukti hasil cek plagiarisme untuk karya tulis ilmiah dilampirkan (similaritas 25%)

STATUS LUARAN

Luaran yang dihasilkan terdiri dari luaran wajib. Luaran wajib yaitu publikasi ilmiah pada jurnal Veteriner (Sinta 2) (dalam proses submit dan in riview) dan Jurnal Media Kedokteran Hewan (Sinta 3) dalam proses penyusunan.

Peran Mitra berupa **realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra** baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan dan Pengembangan). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra **dilaporkan** sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. **Lampirkan** bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra.

PERAN MITRA

Tidak menggunakan mitra dalam penelitian.

Kendala Pelaksanaan Penelitian berisi kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan.

KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN

Keterbatasan dana dalam penelitian

Rencana Tahapan Selanjutnya berisi tentang rencana penyelesaian penelitian dan rencana untuk mencapai luaran yang dijanjikan jika belum tercapai.

RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA

Rencana tahap selanjutnya adalah menyelesaikan publikasi pada jurnal Media Kedokteran Hewan untuk data penelitian pada sistem ekskresi (struktur jaringan hati dan ginjal). Pada tahun 2024 juga

direncanakan melakukan penelitian mengenai potensi preventif daun bayam merah dengan melihat kadar enzim SOD dan MDA pada tikus Wistar.

Daftar Pustaka disusun dan ditulis berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. **Hanya pustaka yang disitasi/diacu** pada laporan kemajuan saja yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka. **Minimal 15 referensi.**

DAFTAR PUSTAKA

1. Ko EY, Sabanegh ES, dan Agarwal A. 2014. Male Infertility Testing: Reactive Oxygen Species and Antioxidant Capacity. *Fertility and Sterility*, 102(6), 1518-1527. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.020>
2. Rayburn, Elizabeth R, Gao Liang, Ding Jiayi, Ding dan Hongxia, Shao, Jun dan Li, Haibo. 2017. FDA-Approved Drugs that are Spermatotoxic in Animals and the Utility of Animal Testing for Human Risk Prediction. *J Assist Reprod Genet*, 35(2): 191-212. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1062-8>
3. Setiawan H, Wulandari SW, Fachmi MN. 2022^b. Efek Antispermatojenik Ekstrak Etanol Daun Pepaya Calina Terhadap Kualitas Sperma dan Morfologi Epididimis Tikus Wistar. *Jurnal Berita Biologi*. 20(3):19-27.
4. El-Tantawy WH. 2016. Antioxidant Effects of Spirulina supplement Against Lead Acetate-Induced Hepatic Injury in Rats. *J Tradit Complement Med*, 6 (4): 327-331. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.02.001>
5. Octaviani NAA, Utomo B, Sunarso A, Hamid I S, Madyawati SP dan Suprayogi TW. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Paparan Panas. *Ovozoa*, 10(3): 65-71. <https://doi.org/10.20473/ovz.v10i3.2021.65-71>
6. Setiawan H, Maliza R, Maulana SA, Hisbullah MI. 2020. The Effect of Coffee Fruit Skin Extract on Sperm Characteristics And Testicular of Mice With Ethanol-Induced. *Jurnal Biodjati* 5(2):259-270. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v5i2.9280>
7. Pratiwi A, Aji OR dan Sumbudi M. 2022. Growth Response and Biochemistry of Red Spinach (*Amaranthus tricolor* L.) with the Application of Liquid Organic Fertilizer Lemna sp. *Journal of Biotechnology and Natural Science*, 2(2):61-69. <https://doi.org/10.12928/jbns.v2i2.6877>
8. Hasanah A. 2015. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Saintika Medika*, 11(2): 92-101. <https://doi.org/10.22219/sm.v11i2.4203>
9. Vinnata NN, Salni, dan Nita S. 2018. Pemberian Fraksi Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) Terhadap Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kesehatan*, 9(3): 366-375. <https://doi.org/10.26630/jk.v9i3.1021>
10. Arundani P, Itishom R, dan Purwanto B. 2021. Pemberian Ekstrak Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotszch) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus. *Oceana Biomedicina Journal*, 4(1): 26-37. <https://doi.org/10.30649/obj.v4i1.58>
11. Indahsari NK. 2017. Histopatologi Hepar tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi dengan parasetamol dosis toksik pasca pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal Kimia Riset*, 2(2): 123-130. <https://doi.org/10.20473/jkr.v2i2.6700>

12. Darbandi M, Darbandi S, Agarwal A, Sengupta P, Durairajanayagam D, Henkel R, & Sadeghi MR. 2018. Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0406-2>
13. Sari LM. 2018. Apoptosis: Mekanisme molekuler kematian sel. *Cakradonya Dental Journal*, 10(2): 65-70. <https://doi.org/10.24815/cdj.v10i2.11701>.
14. Marianti A, Utami NR, & Christijanti W. 2013. Aktivitas antioksidan madu floral terhadap profil lipid darah tikus putih hiperlipidemik. *Saintekno: Jurnal Sains dan Teknologi*, 11(1): 1-8. <https://doi.org/10.15294/saintekno.v11i1.5559>.
15. Plunk EC dan Richards SM. 2020. Endocrine Disrupting Air Pollutants and Their Effects on the Hypothalamus-Pituitary-Gonadal Axis. *Int J Mol Sci*. 21:1-24. <https://doi.org/10.3390/ijms21239191>
16. Kwo, P. Y., Cohen, S. M., dan Lim, J. K. 2017. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *American Journal of Gastroenterology*, 112 (1): 18-35. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.517>
17. Xu, L., dan Wang, H. 2023. A Dual Role of Inflammation in Acetaminophen-Induced Liver Injury. *Liver Research*, 7: 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2023.03.001>
18. Prasad, J., Baitharu, I., Sharma, A. K., Dutta, R., Prasad, D., dan Singh, S. B. 2013. Quercetin Reverses Hypobaric Hypoxia-Induced Hippocampal Neurodegeneration and Improves Memory Function in the Rat. *High Altitude Medicine a Biology*, 14 (4): 383-394. <https://doi.org/10.1089/ham.2013.1014>
19. Merdana, I. M., Kardena, I. M., Budiasa, K., & Gunawan, I. M. D. 2019. Histopatologi Hepar Tikus Putih Setelah Pemberian Ekstrak Sarang Semut yang Diinduksi Paracetamol Dosis Toksik. *Buletin Veteriner Udayana Volume*, 11(1), 14-20. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p03>
20. Seok, P. R., Kim, J. H., Kwon, H. R., Heo, J. S., Choi, J. R., & Shin, J.-H. 2018. *Protective effects of Gastrodia elata Blume on acetaminophen-induced liver and kidney toxicity in rats. Food Science and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0374-5>
21. Stollings, J. L., Wheeler, A. P., & Rice, T. W. 2016. *Incidence and characterization of acute kidney injury after acetaminophen overdose. Journal of critical care*, Vol. 35, page: 191-194. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.06.004>

LAMPIRAN-LAMPIRAN:

- a. Luaran wajib penelitian dan status capaiannya
- b. Luaran tambahan penelitian dan status capaiannya, jika ada
- c. Hasil cek plagiarisme maksimal 25% (jika sudah ada luaran artikel)
- d. *Logbook* (Catatan Harian) (diinput dan diunduh dari portal)
- e. Bukti pembimbingan (khusus skema PDP)
- f. Dokumen realisasi Kerjasama dengan Mitra untuk jenis riset terapan dan riset pengembangan.

a. Luaran wajib penelitian dan status capaiannya

Submit pada Jurnal Veteriner (Sinta 2)

My Authored		Search
ID	Author; Title	Stage
106335	Setiawan; EFEK PREVENTIF BAYAM MERAH TERHADAP ORGAN REPRODUKSI TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI PARACETAMOL DOSIS TOKSIK	Review

1 of 1 items

EFEK PREVENTIF BAYAM MERAH TERHADAP ORGAN REPRODUKSI TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI PARACETAMOL DOSIS TOKSIK
Haris Setiawan

[Submission](#) [Review](#) [Copyediting](#) [Production](#)

Round 1

Round 1 Status
Awaiting responses from reviewers.

Review Discussions [Add discussion](#)

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
No Items				