

**HISTOPATOLOGI TESTIS PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG DIBERIKAN MINYAK JELANTAH DAN INFUSA
TEH HITAM (*Camellia sinensis*)**

Gina Fendiati Putri¹, Liya Agustin Umar², Elvira Yunita³
Universitas Bengkulu^{1,2,3}
elvirayunita@unib.ac.id³

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis efek pemberian infusa teh hitam (*Camellia sinensis*) pada gambaran histopatologi testis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah diinduksi dengan minyak jelantah. Desain penelitian ini yaitu eksperimental *post test only control group design*. Subjek penelitian menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan 6 minggu perlakuan. Penilaian keadaan testis dilakukan menggunakan kriteria *Johnsen Score*. Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan skor kerusakan testis antar kelompok perlakuan. Hasil analisis skor histopatologi tersebut menunjukkan bahwa kelompok yang hanya diberikan minyak jelantah memiliki tingkat kerusakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberikan teh hitam. Adapun pada kelompok yang diberikan minyak jelantah dan teh hitam satu jam kemudian memiliki pengaruh dalam pencegahan kerusakan testis tikus dengan nilai signifikansi *p* yaitu 0,018 dan 0,018. Simpulan, pemberian infusa teh hitam dosis 0,50 gr/200 gram BB dan 0,75 gr/200 gram BB mampu mencegah kerusakan akibat induksi minyak dengan 12x pemanasan pada testis tikus *Rattus norvegicus*.

Kata Kunci: *Camellia sinensis*, Histopatologi, Minyak Jelantah, Testis Tikus

ABSTRACT

*This study aimed to analyze the effect of infusion of black tea (*Camellia sinensis*) on the histopathological features of the testes in white rats (*Rattus norvegicus*) that had been induced with used cooking oil. The design of this research is an experimental post-test only control group design. The research subjects used 24 rats which were divided into six groups with six weeks of treatment. The testicular condition was assessed using the *Johnsen Score* criteria. The results of this study indicate that there are differences in testicular damage scores between treatment groups. The results of the histopathological score analysis showed that the group that was given only used cooking oil had a higher level of damage than the group that was only given black tea. The group that was given cooking oil and black tea one hour later affected testicular damage in rats with *p* significance values of 0.018 and 0.018. In conclusion, giving black tea infusion at a dose of 0.50 g/200 gram BW and 0.75 gr/200 gram BW was able to prevent damage due to oil induction with 12x heating in the testes of *Rattus norvegicus* rats.*

Keywords: *Camellia sinensis*, Histopathology, Cooking Oil, Rat Testes

PENDAHULUAN

Minyak goreng merupakan minyak nabati yang sudah dimurnikan dan dapat digunakan sebagai bahan pangan serta membuat makanan menjadi kering, renyah, berwarna keemasan/ kecoklatan, namun jika digunakan secara berulang kali akan membahayakan kesehatan (Sekaran & Semarang, 2018). Minyak goreng yang digunakan secara berulang-ulang dapat mengurangi kualitas dan menurunkan nilai gizi serta nilai kalori dari bahan pangan yang diolah dan penampakan yang kurang menarik serta menghasilkan rasa dan bau yang tidak enak (Fanani & Ningsih, 2019). Minyak goreng yang digunakan lebih dari dua kali atau tiga kali tanpa penambahan minyak goreng yang baru disebut sebagai minyak jelantah (Sekaran & Semarang, 2018).

Pemanasan minyak goreng yang berulang dapat menyebabkan minyak mengalami reaksi autooksidasi, polimerisasi termal dan oksidasi termal. Proses oksidasi akan membentuk senyawa peroksida dan hidroperoksida yang merupakan radikal bebas (Khor et al., 2019). Radikal bebas memiliki kemampuan untuk merusak jaringan normal jika dalam jumlah yang terlalu banyak sehingga mengakibatkan gangguan produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, pembuluh darah, produksi prostaglandin, kerusakan sel dan mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi terhadap lingkungannya. Salah satu efek radikal bebas yang berlebihan dapat merusak sel dan DNA organ dalam tubuh seperti testis (Adwas et al., 2019).

Radikal bebas yang ada didalam tubuh akan menyebabkan sel menjadi stres oksidatif yang dapat mempengaruhi struktur dan isi sel seperti DNA, membran sel, mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya fungsi sel yang menginduksi terjadinya kematian sel atau apoptosis sel yang ada di testis sehingga dapat mengakibatkan perubahan motilitas, kualitas, volume dan jumlah sperma (Sayiner et al., 2019). Peningkatan radikal bebas di dalam tubuh perlu diatasi dengan antioksidan. Saat ini sedang dikembangkan pengobatan tradisional menggunakan teh hitam (*Camelia sinensis*) yang sudah terbukti memiliki antioksidan tinggi seperti katekin dan flavanol dan dipercaya dapat mengatasi adanya radikal (Nguyen-Powanda & Robaire, 2020).

Teh hitam banyak mengandung flavon, asam fenolik dan depsides, karbohidrat, alkaloid, mineral, vitamin dan enzim. Teh ini juga mengandung flavonoid, senyawa yang dilaporkan memiliki sifat antioksidan yang memiliki efek menguntungkan (Bernatoniene & Kopustinskiene, 2018). Polifenol dalam teh hitam dikenal sebagai katekin dan mengandung 10–50% katekin berupa *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) yang merupakan sumber dari sebagian besar manfaat positif daun the. Hal ini didukung penelitian (Chang et al., 2020) bahwa kandungan teh hitam tersebut dapat memperbaiki morfologi spermatozoa yang rusak karena adanya senyawa katekin dan flavonoid di dalam teh hitam yang berperan sebagai antiradiasi, antioksidan, antikanker, dan antimikroba sehingga dapat memperbaiki kualitas spermatozoa yang rusak akibat adanya radikal bebas yang diproduksi lipid peroksidase di dalam *Monosodium Glutamate* (MSG) (Opuwari & Monsees, 2020).

Penurunan kualitas sperma dapat terjadi karena berbagai faktor seperti hormonal, penghambatan fungsi epididimis, radiasi, hiperkolesterolemia, merokok, penggunaan kortikosteroid yang tidak sesuai indikasi, konsumsi alkohol, adanya varikokel dan obesitas (Kamiński et al., 2020). Berdasarkan

uraian di atas, penelitian mengenai efek teh hitam terhadap histopatologi testis yang diinduksi minyak jelantah belum dilaporkan sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode rancangan penelitian eksperimental Completely Random Design (CRD) dengan pola post test-only control group design dan menggunakan hewan uji coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley. Lokasi penelitian dilakukan di Sarana Belajar Ilmu Hayati (SBIH) Ruyani sebagai tempat pemeliharaan, perlakuan hewan coba dan pembuatan infusa. Pembuatan sediaan histopatologi akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD M. Yunus Bengkulu. Serta Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu untuk pemeriksaan preparat histopatologi testis tikus.

Teh hitam diperoleh dari pasar yang sudah dalam bentuk serbuk. Kemudian dibersihkan dengan air mengalir. Setelah itu, panaskan serbuk daun teh hitam sebanyak 10 gram dan aquades sebanyak 100 ml dalam dalam panci kecil yang dimasukkan ke dalam panci besar berisi air dengan suhu 90°C selama 15 menit. Kemudian saring hasil rebusan untuk memisahkan infusa dengan serbuk teh hitam. Setelah itu, kekurangan volumenya ditambahkan hingga 100 ml dengan aquades hangat.

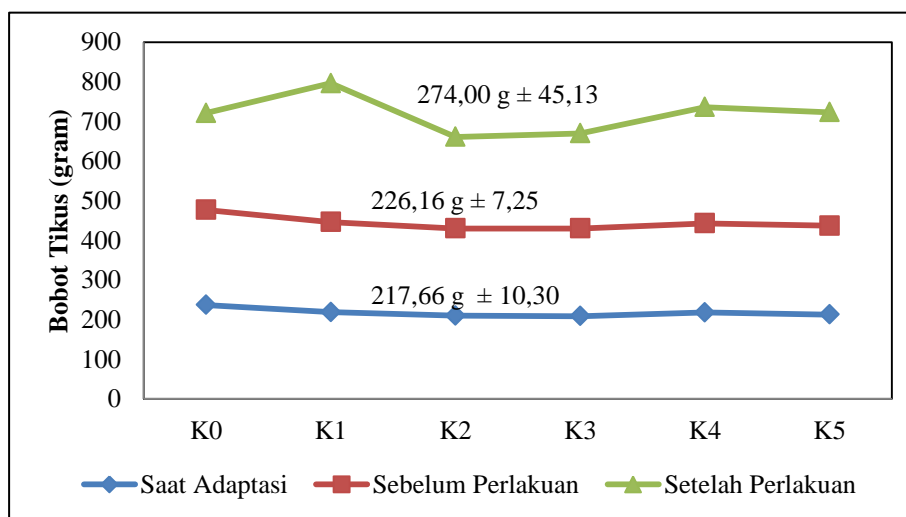
Subjek penelitian ini yaitu sebanyak 24 ekor sampel tikus *Sprague dawley* jantan yang berusia 8-10 minggu dengan berat 200-300 gram. Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan perhitungan rumus *Resource Equation* dengan minimal sampel 3 ekor dan maksimal sampel 4 ekor. Pada penelitian ini, peneliti mengambil jumlah sampel 3 ekor kemudian ditambah 10% *dropout* menjadi 4 ekor per tiap kelompok. Sebelum perlakuan, hewan coba diadaptasikan di SBIH Ruyani selama 1 minggu. Berat badan tikus pada tiap kelompok dilakukan penimbangan saat adaptasi, sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.

Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol (K0), kelompok perlakuan 1 (K1) yang diberikan minyak jelantah 12x pemanasan dan aquades, kelompok perlakuan 2 (K2) yang diberikan teh hitam dosis 0,50 gr/200 grBB dan aquades, kelompok perlakuan 3 (K3) yang diberikan teh hitam dosis 0,75 gr/200 grBB, kelompok perlakuan 4 (K4) yang diberikan minyak jelantah dan teh hitam dosis 0,50 gr/200 grBB, dan kelompok perlakuan 5 (K5) yang diberikan minyak jelantah dan teh hitam dosis 0,75 gr/200 grBB. Setiap hewan uji diberikan perlakuan selama 6 minggu kemudian dieuthanasia untuk diambil organ testisnya dan dibuat sediaan histopatologi.

Variabel bebas penelitian yaitu infusa teh hitam (*Camellia sinensis*) yang diberikan kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley dan variabel terikat berupa gambaran histopatologi testis tikus tersebut. Hasil pengukuran infusa teh hitam terhadap gambaran histopatologi testis ditampilkan dalam bentuk tabel. Hasilnya dianalisis dengan uji statistik menggunakan metode Kruskal Wallis dan kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc Mann Whitney* untuk melihat hasil yang memiliki perbedaan nyata.

HASIL PENELITIAN

Setiap kelompok hewan coba diberi perlakuan 6 minggu setelah masa adaptasi dan didapatkan penurunan berat badan hewan coba pada minggu pertama masa perlakuan (Gambar 1), namun berat badan kembali meningkat pada minggu kedua. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan tikus putih dalam keadaan normal karena berat badan akan mengalami kenaikan seiring dengan bertambahnya umur (Shirani et al., 2017).



Gambar 1. Rerata Berat Badan Kelompok K0-K5 Saat Masa Adaptasi, Sebelum dan Setelah Perlakuan

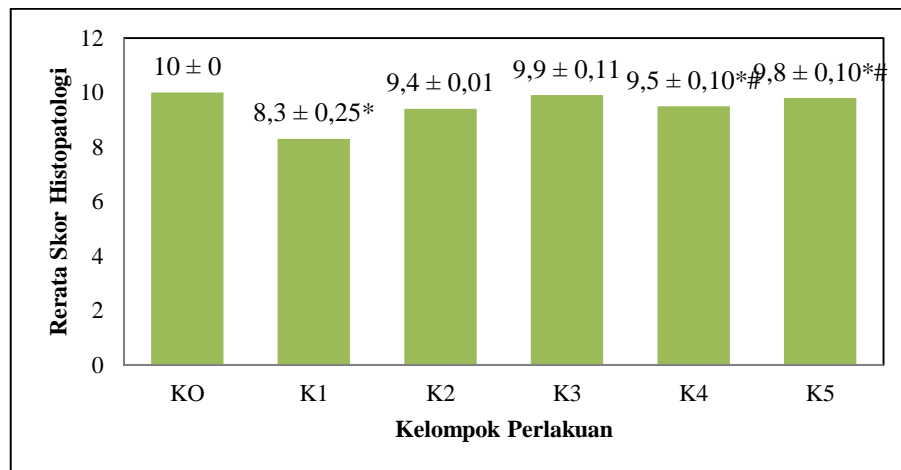
Data berat badan sampel yang diperoleh dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro-Wilk*. Uji normalitas dilakukan pada data berat badan saat adaptasi, sebelum perlakuan, dan setelah perlakuan dan diperoleh nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi normal. Kemudian untuk melihat perbedaan antar berat badan sampel dilakukan uji t-berpasangan. Berdasarkan hasil uji statistik, diperoleh rerata berat badan sampel pada masa adaptasi adalah $217,66 \text{ g} \pm 10,30 \text{ g}$. Setelah melewati masa adaptasi atau pada saat sebelum diberikan perlakuan berat badan sampel mengalami kenaikan menjadi $226,16 \text{ g} \pm 7,25 \text{ g}$. Hasil analisis uji t-berpasangan menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan berat badan yang bermakna pada masa adaptasi dan sebelum perlakuan. Rerata berat badan sampel sebelum perlakuan adalah $226,16 \text{ g} \pm 7,25 \text{ g}$. Sementara itu berat badan setelah diberikan perlakuan mengalami kenaikan menjadi $274,00 \text{ g} \pm 45,13 \text{ g}$. Hasil analisis uji t-berpasangan menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan berat badan yang bermakna pada saat sebelum dan setelah perlakuan.

Pembuatan preparat testis dibuat dengan menggunakan teknik pemotongan transversal. Hasil preparat dinilai skoring histopatologi menggunakan kriteria *Johnsen score*. Hasil pengamatan peneliti dinilai tingkat reliabilitas antar pengamat peneliti dan pengamat ahli dengan uji kappa. Hasil uji kappa pada penelitian ini didapatkan nilai 0,421 yang berarti masuk ke kategori cukup (*fair*), sehingga data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data peneliti yang akan dimasukkan ke dalam uji normalitas.

Analisis Gambaran Histopatologi Testis Tikus

Hasil gambaran skor histopatologi testis tikus dilakukan uji normalitas distribusi data dengan *Shapiro-Wilk* didapatkan data skor histopatologi tidak terdistribusi normal kemudian dilakukan transformasi data didapatkan data skor tetap tidak terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas dengan *Levene Test* didapatkan data memiliki varians yang tidak homogen sehingga uji *parametric* dengan uji *one-way ANOVA* tidak dapat dilakukan karena tidak memenuhi syarat. Data kemudian diuji dengan uji *non parametric* yaitu *Kruskal-Wallis* dan didapatkan nilai p sebesar 0,001, artinya paling tidak terdapat perbedaan bermakna dari skor histopatologi antar kelompok. Perbedaan skor histopatologi antar kelompok selanjutnya dilihat pada analisis *Post Hoc* dengan *Mann-Whitney*.

Gambar 2. hasil uji *Post Hoc* antara kelompok kontrol (K0) dengan kelompok perlakuan 1 (K1) menunjukkan berbeda bermakna secara statistik berdasarkan nilai signifikansi $p : 0,014 (<0,05)$. Hal ini menunjukkan pemberian minyak jelantah 12x pemanasan menyebabkan kerusakan pada gambaran testis tikus putih berdasarkan rerata skor histopatologi. Hasil analisis data pada kelompok kontrol (K0) dengan kelompok perlakuan 4 (K4) dan kelompok perlakuan 5 (K5) menunjukkan terdapat perbedaan skor kerusakan yang bermakna dengan nilai $p : 0,011$ dan $p : 0,040$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan skor histopatologi pada kelompok yang hanya diberi aquades dengan kelompok yang diberi minyak jelantah 12x pemanasan dan teh hitam sebanyak 0,50gr/200 grBB dan diberi minyak jelantah 12x pemanasan dan teh hitam sebanyak 0,75gr/200 grBB, berarti secara statistik teh hitam dengan dosis 0,50gr/200 grBB dan 0,75gr/200 grBB pada tikus putih yang sebelumnya diinduksi minyak jelantah 12x tidak menunjukkan peningkatan skor histopatologi seperti kelompok kontrol.



Gambar 2. Rerata Skor Histopatologi Kelompok K0-K5

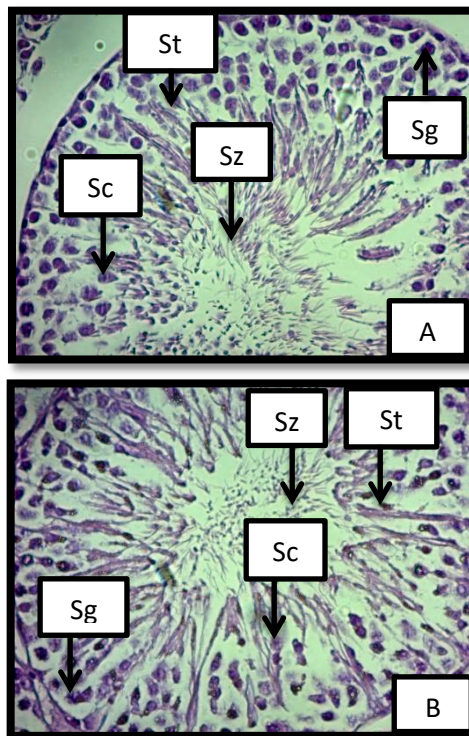
Analisis uji *Post Hoc* dengan uji *Kruskal-Wallis* pada kelompok perlakuan 1 (K1) terhadap kelompok perlakuan 4 (K4) dan kelompok perlakuan 5 (K5) menunjukkan nilai signifikansi $p: 0,018$ dan $p : 0,018$. Ini menunjukkan bahwa secara statistik pemberian teh hitam meningkatkan skor histopatologi testis setelah pemberian minyak jelantah 12x pemanasan. Hal ini ditunjukkan dengan

peningkatan skor histopatologi pada kelompok K4 dan K5 dibandingkan kelompok K1 yang hanya diberi induksi minyak jelantah 12x pemanasan.

Hasil uji *Post Hoc* pada kelompok perlakuan 2 (K2) terhadap kelompok perlakuan 4 (K4) didapatkan nilai $p : 0,186$ yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik pemberian teh hitam dengan dosis 0,50gr/200 grBB dapat meningkatkan skor histopatologi testis tikus meskipun sebelumnya telah diinduksi oleh minyak jelantah dengan 12x pemanasan. Demikian juga halnya dengan uji *Post Hoc* pada kelompok perlakuan 3 (K3) terhadap kelompok perlakuan 5 (K5) didapatkan nilai $p: 0,495$ yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini pun menunjukkan bahwa secara statistik pemberian teh hitam dengan dosis 0,75gr/200 grBB dapat meningkatkan skor histopatologi testis tikus meskipun sebelumnya telah diinduksi oleh minyak jelantah dengan 12x pemanasan. Peneliti mengamati gambaran histopatologi tubulus seminiferus testis tikus yang disesuaikan dengan *johnsen score* berikut gambaran histopatologi dari masing-masing kelompok perlakuan:

Kelompok Kontrol Negatif (K0)

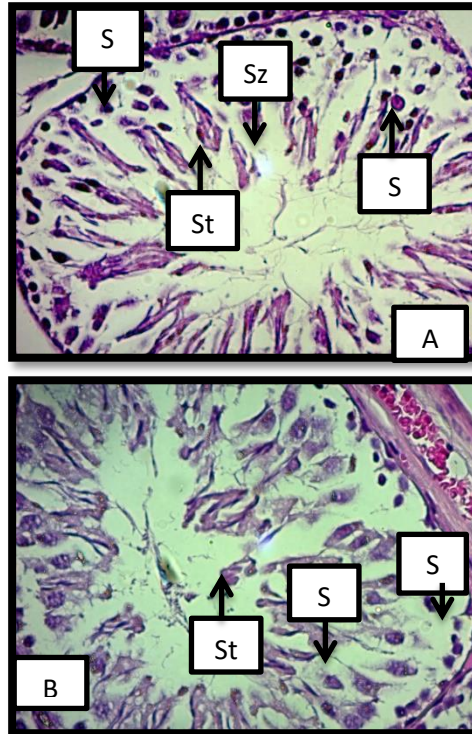
Kelompok K0 adalah kelompok yang hanya diberi pakan rat bio dan aquades. Gambaran histopatologi K0 dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 3. Struktur Histologi testis tikus *Rattus norvegicus* kelompok kontrol (K0); A dan B Skor 10: spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 5 . Keterangan: Sg: Spermatogonium, Sc: Spermatosit, St: Spermatid, Sz: Spermatozoa, dan Ss: Sel Sertoli

Kelompok Kontrol Positif I (K1)

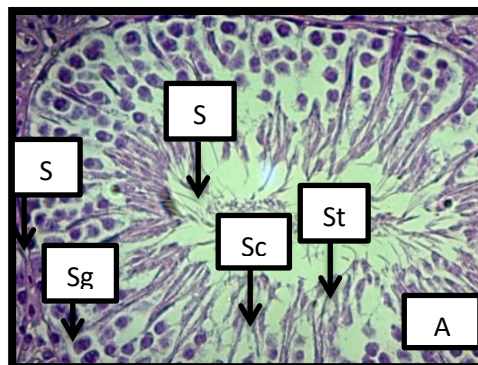
Kelompok K1 adalah kelompok yang diberikan minyak jelantah 12x pemanasan. Gambaran histopatologi K1 dapat dilihat pada gambar berikut:

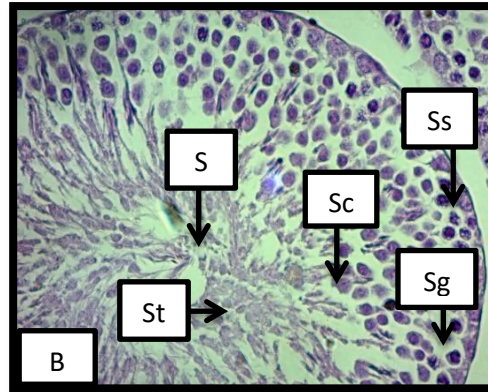


Gambar 4. Struktur Histopatologi testis tikus *Rattus norvegicus* kelompok kontrol positif I (K1); (A) Skor 8 sel spermatozoa <5; (B) Skor 7: sel spermatozoa 0, sel spermatid \geq 5. Keterangan: Sg: Spermatogonium, St: Spermatosit, Sd: spermatid, Sz: spermatozoa, Ss: sel Sertoli

Kelompok Kontrol Positif II (K2)

Kelompok K2 adalah kelompok yang diberikan teh hitam dosis 0,50 gr/200grBB. Gambaran histopatologi K2 dapat dilihat pada gambar berikut:

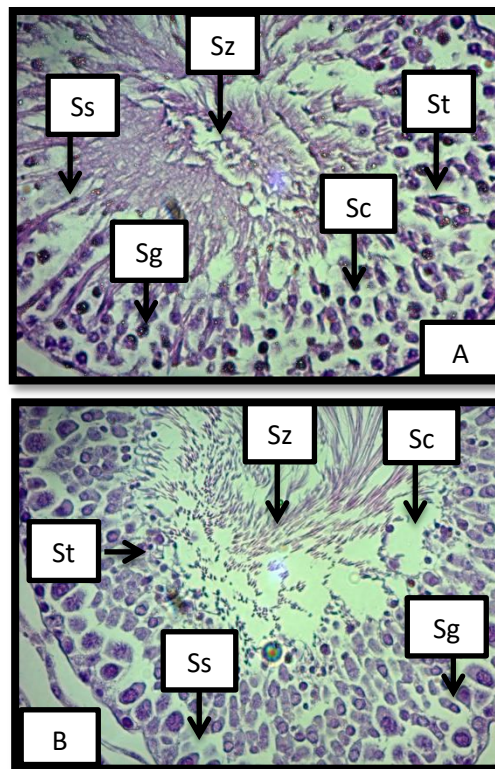




Gambar 5. Struktur Histopatologi testis tikus *Rattus norvegicus* kelompok kontrol positif II (K2) (A) Skor 10: spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 5 ; (B) Skor 9: lumen tertutup, spermatogenesis lengkap, dan spermatozoa 0, sel spermatid ≥ 5 . Keterangan: Sg: Spermatogonium, St: Spermatosit, Sd: spermatid, Sz: spermatozoa, Ss: sel Sertoli

Kelompok Kontrol Positif III (K3)

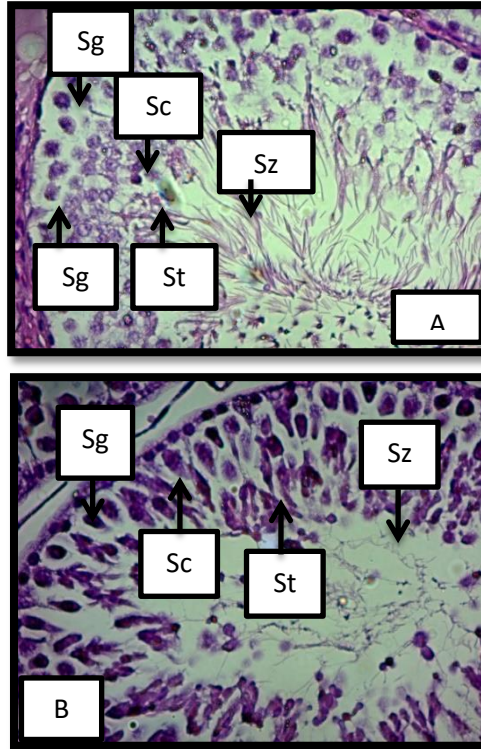
Kelompok K3 adalah kelompok yang diberikan teh hitam dosis 0,75 gr/200grBB. Gambaran histopatologi K3 dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 6. Struktur Histopatologi testis tikus *Rattus norvegicus* kelompok kontrol positif III (K3) (A) Skor 10: spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 5 ; (B) Skor 9: lumen tertutup, spermatogenesis lengkap, dan spermatozoa ≥ 5 ; sel spermatozoa 0, sel spermatid ≥ 5

Kelompok Perlakuan I (K4)

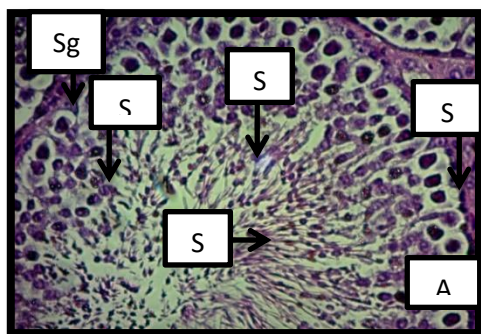
Kelompok K4 adalah kelompok yang diberikan minyak jelantah 12x pemanasan yang selanjutnya diberikan infusa teh hitam dosis 0,50 gr/200grBB.. Gambaran histopatologi K3 dapat dilihat pada gambar berikut:

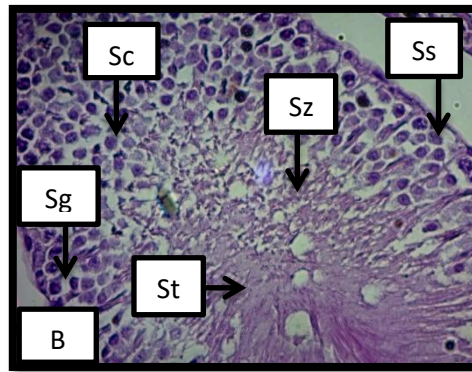


Gambar 7. Struktur Histopatologi testis tikus *Rattus norvegicus* kelompok perlakuan I (K4) (A) Skor 9: lumen tertutup, spermatogenesis lengkap, dan spermatozoa ≥ 5 ; (B) Skor 8 sel spermatozoa < 5 ; Keterangan: Sg: Spermatogonium, St: Spermatosit, Sd: spermatid, Sz: spermatozoa, Ss: sel Sertoli

Kelompok Perlakuan II (K5)

Kelompok K5 adalah kelompok yang diberikan minyak jelantah 12x pemanasan yang selanjutnya diberikan infusa teh hitam dosis 0,75 gr/200 grBB.. Gambaran histopatologi K5 dapat dilihat pada gambar berikut:





Gambar 8. Struktur Histopatologi testis tikus *Rattus norvegicus* kelompok perlakuan II (K5) (A) Skor 10: spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 5 ; (B) Skor 9: lumen tertutup, spermatogenesis lengkap, dan spermatozoa ≥ 5 ; sel spermatozoa 0, sel spermatid ≥ 5 . Keterangan: Sg: Spermatogonium, St: Spermatisit, Sd: spermatid, Sz: spermatozoa, Ss: sel Sertoli

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian infusa teh hitam (*Camellia sinensis*) terhadap gambaran histopatologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi minyak jelantah. Pemberian perlakuan pada tikus diberikan selama 6 minggu. Sebelum diberi perlakuan, hewan coba terlebih dahulu diadaptasi selama 7 hari. Hewan coba sebanyak 24 ekor dibagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdapat 4 ekor hewan coba. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok kontrol negatif (K0) yang diberikan aquades dan 1 jam kemudian diberikan kembali aquades, kelompok perlakuan 1 (K1) yang diberikan minyak jelantah 12x penggorengan sebanyak 1,5 ml dan aquades, kelompok perlakuan 2 (K2) yang diberi infusa teh dengan dosis 0,50 gr/200 grBB dan aquades, kelompok perlakuan 3 (K3) yang diberi infusa teh dengan dosis 0,75 gr/200 grBB dan aquades, kelompok perlakuan 4 (K4) dan kelompok perlakuan 5 (K5) yang diberikan minyak jelantah 12x penggorengan sebanyak 1,5 ml dan infusa teh dengan masing-masing dosis 0,50 gr/200 grBB dan 0,75 gr/200 grBB. Pada hari ke-50 setiap kelompok *Rattus norvegicus* di *euthanasia* kemudian dilakukan laparatomi untuk diambil organ testisnya dan difiksasi dengan menggunakan *formalin buffer 10%*.

Testis merupakan organ reproduksi pria dengan fungsi pembentukan sperma dan penghasil hormon testosteron. Testis terdiri dari 900 tubulus seminiferus yang didalamnya akan terjadi proses spermatogenesis. Testis memiliki vaskularisasi yang buruk dengan tekanan oksigen yang rendah yang merupakan komponen penting dari mekanisme testis untuk melindungi dirinya dari kerusakan akibat radikal bebas (Treuting et al., 2017).

Penggunaan minyak goreng berulang dengan suhu tinggi akan membentuk senyawa peroksida dan aldehid yang merupakan sumber radikal radikal bebas bagi organ termasuk testis. Tingginya produksi ROS dapat merusak dari DNA, lipid, dan juga protein (Adwas et al., 2019). Perubahan pada DNA sperma akan menyebabkan infertilitas. Spermatozoa di bawah tekanan oksigen tinggi dan produksi Hidrogen Peroksida (H_2O_2) yang tinggi akan mengurangi laju dan motilitas sperma. Produksi ROS pada testis harus dicegah secara terus-menerus

sehingga konsentrasi ROS tetap cukup rendah untuk memungkinkan kinerja sel yang normal. Kelebihan radikal bebas dalam tubuh dapat mempengaruhi proses spermatogenesis yang terjadi di dalam testis karena pada proses spermatogenesis terjadi pembelahan sel dengan tingkat penggunaan oksigen yang tinggi pada mitokondria epitel germinal dan rentan terhadap stress oksidatif (Asadi et al., 2017).

Analisis dari skor kerusakan histopatologi testis pada kelompok K1 yang diinduksi minyak jelantah dengan 12x pemanasan dan aquades memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok K0 yang hanya diberi aquades. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian minyak jelantah 12x pemanasan menyebabkan kerusakan histopatologi testis tikus. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Ananto et al., 2017) juga menyatakan bahwa terdapat kerusakan organ pada pemberian minyak jelantah dengan 12x pemanasan sebanyak 1,5 ml pada tikus *Rattus norvegicus*. Kerusakan histopatologi testis terjadi karena Radikal bebas pada penelitian ini didapatkan dari minyak jelantah (Ananto et al., 2017).

Minyak jelantah merupakan minyak yang sudah mengalami pemanasan atau penggorengan berulang kali pada suhu tinggi sehingga mengakibatkan kerusakan pada minyak. Kemudian, proses ini mengakibatkan pecahnya ikatan trigliserida pada minyak dan selanjutnya membentuk gliserol dan asam lemak bebas (Sayiner et al., 2019). Asam lemak akan membentuk asam lemak jenuh dan asam lemak trans serta radikal bebas. Radikal bebas yang cukup tinggi dalam tubuh dapat merusak membran lipid melalui peroksidasi lipid, merusak DNA, dan protein sehingga mengakibatkan gangguan spermatogenesis dan fungsi sperma pada organ testis (Sayiner et al., 2019). Membran sel spermatozoa kaya akan *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang berfungsi menjaga fluiditas membran sel sperma, namun hal ini juga membuat sel sperma sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif karena radikal bebas mengambil elektron dari molekul O₂ pada membran sel. Membran sel yang telah kehilangan elektron akan dioksidasi dan dapat menjadi lipid peroksidasi baru yang dapat menyerang molekul lain untuk menstabilkan perubahan yang terjadi sehingga menyebabkan stress oksidatif (Nguyen-Powanda & Robaire, 2020).

Hasil rerata skor histopatologi testis kelompok K4 dan K5 yang dibandingkan dengan K1 memiliki perbedaan bermakna yang menunjukkan pemberian infusa teh hitam dengan dosis 0,50 gr/200 grBB dan 0,75 gr/200 grBB dapat meningkatkan rerata skor histopatologi pada tikus putih yang telah diinduksi minyak jelantah dengan 12x pemanasan. Hal tersebut karena pada teh hitam terdapat aktivitas *Thearubigin* yang dioksidasi dari katekin dan memiliki gugus hidroksil yang dapat berfungsi sebagai antiradikal bebas atau antioksidan.

Thearubigin dapat meningkatkan antioksidan alami yang terdapat dalam tubuh seperti glutathione-S transferase (GST), glutathione peroksidase (GPX), dismutase superoksida (SOD) dan katalase (CAT) yang disertai dengan menurunnya tingkat oksidasi lipid dan menghambat aktivitas xantin oksidase yang merupakan enzim pembentukan utama dari radikal bebas (Tong et al., 2019). Hal ini sejalan dengan penelitian yang oleh (Azizi & Mehranjani, 2019) yang menunjukkan terjadi peningkatan jumlah, motilitas dan volume sperma dan viabilitas pada tikus jantan galur Wistar yang diberikan ekstrak teh hijau. Faktor lainnya yang juga diamati pada penelitian ini yaitu diameter dan volume tubulus

seminiferus serta volume testis yang mengalami penurunan dibandingkan kelompok kontrol.

Gambaran histopatologi kelompok K4 dan K5 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok K0. Hal tersebut menyatakan pemberian infusa teh hitam dosis 0,50 gr/200 dan dosis 0,75 gr/200 grBB secara statistik belum mampu membuat gambaran histopatologi mendekati normal meskipun secara gambaran histopatologi terjadi peningkatan skor kerusakan histopatologi. Hal ini dilihat dari gambaran mikroskopik tubulus seminiferus tampak spermatogenesis tidak lengkap jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Opuwari & Monsees, 2020) mengenai pengaruh teh hitam terhadap testis yang diinduksi radikal bebas didapatkan bahwa tubulus seminiferus berliku-liku, hilangnya proses spermatogenesis, penurunan jumlah sel interstitial Leydig, edema, nekrosis, dan fibrosis interstitial mengalami perbaikan setelah diberikan 2% dan 5% infusa teh hitam (Opuwari & Monsees, 2020).

Hasil analisis skor histopatologi K2 terhadap kelompok K4 menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Sama halnya dengan perbandingan pada K3 terhadap K5 juga menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna namun terjadi peningkatan skor rerata histopatologi testis tikus yang diinduksi minyak jelantah 12x pemanasan. Hal ini menunjukkan kadar senyawa aktif didalam teh hitam tidak memiliki efek toksisitas terhadap organ testis tikus dengan dosis yang berbeda. Namun hal ini berbeda pada organ ginjal dan hepar yang menunjukkan bahwa kadar senyawa aktif yang terdapat di dalam teh hitam menunjukkan efek toksisitas terhadap organ ginjal dan hepar dengan dosis yang berbeda (Opuwari et al., 2020).

Analisis perbandingan kelompok K4 dengan kelompok K5 memiliki perbedaan bermakna yang menunjukkan bahwa tingkatan perbaikan skor histopatologi dengan pemberian infusa teh hitam dosis 0,50 gr/200 grBB berbeda dengan pemberian infusa teh hitam dosis 0,75 gr/200 grBB. Pada rerata skor yang didapat, terlihat bahwa pemberian infusa teh hitam dosis 0,75 gr/200 grBB memiliki efektifitas yang lebih baik dalam mencegah kerusakan testis pada tikus putih yang telah diinduksi minyak jelantah dengan 12x pemanasan dibandingkan dengan pemberian infusa teh hitam dosis 0,50 gr/200 grBB. Hal ini sejalan penelitian yang dilakukan oleh (Panjiasih Susmiarsih et al., 2018) yang menyatakan bahwa ekstrak daun teh hijau dapat memperbaiki konsentrasi dan kecepatan spermatozoa pada tikus yang telah dipaparkan dengan asap rokok.

SIMPULAN

Induksi minyak jelantah 12x pemanasan menyebabkan kerusakan pada testis tikus *Rattus norvegicus*. Pemberian infusa teh hitam dosis 0,50 gr/200 gramBB dan 0,75 gr/200 gramBB mampu mencegah kerusakan akibat induksi minyak dengan 12x pemanasan pada testis tikus *Rattus norvegicus*. Pemberian infusa teh hitam dosis 0,75 mg/200 gramBB lebih efektif untuk mencegah kerusakan akibat induksi minyak dengan 12x pemanasan dibandingkan dengan pemberian infusa teh hitam dosis 0,50 mg/200 gramBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananto, A. S., Wulan, A. J., Kedokteran, F., Lampung, U., Anatomi, B., Kedokteran, F., Lampung, U., Kedokteran, B. P., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2017). Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah terhadap Perbedaan Rerata Kerusakan Gambaran Histologi Jaringan Usus Halus Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*. *Medula*, 7(5), 187–193.
<http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/medula/article/view/2006/pdf>
- Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and the Role of Antioxidants in Improving It: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(5), 1–5. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23927.9886>
- Adwas, A. A., Elsayed, A. S. I., Azab, A. A., & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative Stress and Antioxidant Mechanisms in Human Body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), 43–47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>
- Azizi, P., & Mehranjani, M. S. (2019). The Effect of Green Tea Extract on the Sperm Parameters and Histological Changes of Testis in Rats Exposed to Para-Nonylphenol. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 17(10), 717–726. <https://doi.org/10.18502/ijrm.v17i10.5290>
- Bernatoniene, J., & Kopustinskiene, D. M. (2018). The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules*, 23(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules23040965>
- Chang, M. Y., Lin, Y. Y., Chang, Y. C., Huang, W. Y., Lin, W. S., Chen, C. Y., Huang, S. L., & Lin, Y. S. (2020). Effects of Infusion and Storage on Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Black Tea. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(8), 1-10. <https://doi.org/10.3390/APP10082685>
- Fanani, N., & Ningsih, E. (2019). Analisis Kualitas Minyak Goreng Habis Pakai yang Digunakan oleh Pedagang Penyetan di Daerah Rungkut Surabaya Ditinjau dari Kadar Air dan Kadar Asam Lemak Bebas (ALB). *Jurnal IPTEK*, 22(2), 59–66. <https://doi.org/10.31284/j.iptek.2018.v22i2.436>
- Kamiński, P., Baszyński, J., Jerzak, I., Kavanagh, B. P., Nowacka-Chiari, E., Polanin, M., Szymański, M., Woźniak, A., & Kozera, W. (2020). External and Genetic Conditions Determining Male Infertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 1–27. <https://doi.org/10.3390/ijms21155274>
- Khor, Y. P., Hew, K. S., Abas, F., Lai, O. M., Cheong, L. Z., Nehdi, I. A., Sbihi, H. M., Gewik, M. M., & Tan, C. P. (2019). Oxidation and Polymerization of Triacylglycerols: In-Depth Investigations towards the Impact of Heating Profiles. *Foods*, 8(10), 1–15. <https://doi.org/10.3390/foods8100475>
- Nguyen-Powanda, P., & Robaire, B. (2020). Oxidative Stress and Reproductive Function in the Aging Male. *Biology*, 9(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/biology9090282>
- Opuwari, C. S., & Monsees, T. K. (2020). In Vivo Effects of Black Tea on the Male Rat Reproductive System and Functions of the Kidney and Liver. *Andrologia*, 52(4), 1–10. <https://doi.org/10.1111/and.13552>
- Panjiasih Susmiarsih, T., Kenconoviyati, K., & Kuslestari, K. (2018). Potensi Ekstrak Daun Teh Hijau terhadap Morfologi dan Motilitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Paparan Asap Rokok. *Majalah*

- Kesehatan Pharmamedika*, 10(1), 1-7.
<https://doi.org/10.33476/mkp.v10i1.682>
- Sayiner, S., Gülmez, N., Sabit, Z., & Gülmez, M. (2019). Effects of Deep-Frying Sunflower Oil on Sperm Parameters in a Mouse Model: Do Probiotics Have a Protective Effect? *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(6), 857–863. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2019.22063>
- Sekaran, K., & Semarang, G. (2018). Pengolahan Minyak Goreng Bekas (Jelantah) sebagai Pengganti Bahan Bakar Minyak Tanah (Biofuel) bagi Pedagang Gorengan di Sekitar FMIPA UNNES. *Rekayasa*, 15(2), 89–95. <https://doi.org/10.15294/rekayasa.v15i2.12588>
- Tong, T., Liu, Y. J., Kang, J., Zhang, C. M., & Kang, S. G. (2019). Antioxidant Activity and Main Chemical Components of a Novel Fermented Tea. *Molecules*, 24(16), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules24162917>
- Treuting, P. M., Dintzis, S. M., & Montine, K. S., 2017. *Comparative Anatomy dan Histology: A Mouse, Rat, dan Human Atlas. 2nd edn.* USA: Academic Press