

KANDUNGAN LOGAM BERAT DAN VITAMIN E PADA TESTIS TIKUS WISTAR SETELAH DIPAPARKAN AIR LINDI

Elisa Nurma Riana¹, Ayda T. Yusuf²

Institut Teknologi Sumatera¹

Institut Teknologi Bandung²

elisa.riana@bi.itera.ac.id¹

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan logam berat dan konsentrasi Vitamin E testis tikus Wistar jantan yang dipaparkan air lindi TPAs Sarimukti. Desain penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok. Tikus dibagi menjadi empat perlakuan yaitu: aquabidestilata, air lindi 63%, CdCl₂, H₂O₂. Pemberian zat uji dilakukan secara intraperitoneal selama 14 hari. Konsentrasi logam berat diukur menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS), sedangkan konsentrasi Vitamin E diukur dengan menggunakan HPLC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi logam berat Zn jaringan testis yang dipaparkan air lindi 63% adalah sebesar 0,6 ppm, aquabidestilata 0,5 ppm, sedangkan enam logam yang lain konsentrasinya 0 ppm. Hasil pengukuran Vitamin E pada perlakuan air lindi 63% sangat rendah yaitu 1,06 ppm jika dibandingkan dengan perlakuan aquabidestilata 7,92 ppm, CdCl₂ dan H₂O₂ masing-masing sebesar 0,53 ppm dan 0,85 ppm. Simpulan, air lindi TPA Sarimukti dapat menyebabkan peningkatan ROS yang diindikasikan dengan biomarker penurunan konsentrasi Vitamin E pada testis, sehingga menyebabkan kerusakan testis.

Kata Kunci: Air lindi, Logam berat, Testis Tikus Wistar, Vitamin E

ABSTRACT

This study aims to determine the heavy metal content and vitamin E concentration of male Wistar rat testes exposed to Sarimukti landfill leachate. The research design used was a randomized block design. Rats were divided into four treatments, namely: aquabidestylates, 63% leachate, CdCl₂, H₂O₂. The test substance was administered intraperitoneally for 14 days. Heavy metal concentrations were measured using the Atomic Absorption Spectrometry (AAS) method, while Vitamin E concentrations were measured using HPLC. The results showed that the concentration of heavy metal Zn in testicular tissue exposed to 63% leachate was 0.6 ppm, aquabidestylates was 0.5 ppm, while the other six metals had a concentration of 0 ppm. The measurement results of Vitamin E in the 63% leachate treatment were meager, namely, 1.06 ppm when compared to the aquabidestyl treatment of 7.92 ppm, CdCl₂ and H₂O₂ were 0.53 ppm and 0.85 ppm, respectively. In conclusion, Sarimukti landfill leachate can cause an increase in ROS, which is indicated by a biomarker of decreased Vitamin E concentration in the testes, causing testicular damage.

Keywords: Leachate, Heavy Metals, Wistar Rat Testicles, Vitamin E

PENDAHULUAN

Air lindi TPAs Sarimukti terbukti dapat menyebabkan kerusakan testis, abnormalitas morfologi spermatozoa dan kerusakan DNA sperma tikus. Penyebab abnormalitas tersebut adalah komponen yang ada di dalam air lindi. Salah satu senyawa yang dapat menyebabkan gangguan reproduksi yang ada di air lindi adalah logam berat (Yakubu & Omar, 2020). Logam berat dapat merusak struktur testis, gangguan hormonal dan gangguan spermatogenesis sehingga menghasilkan spermatozoa abnormal (He et al., 2020). Logam berat dapat terakumulasi pada jaringan maupun organ yang memiliki aktivitas tinggi, kebutuhan oksigen yang tinggi dan juga nutrisi yang tinggi (Nesta et al., 2016). Testis merupakan organ yang diduga menjadi tempat akumulasi logam berat karena pada testis terjadi aktivitas yang tinggi, yaitu spermatogenesis.

Konsentrasi logam berat yang tinggi menyebabkan peningkatan ROS sehingga terjadi gangguan aktivitas enzim, peroksida lipid, bereaksi dengan protein ataupun DNA (Fu & Xi, 2019). Hal tersebut menyebabkan stres oksidatif yang menghasilkan kerusakan seluler maupun jaringan pada organ dan beberapa penyakit kronis (Marreiro et al., 2017). Penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa air lindi TPAs Sarimukti mengandung beberapa logam berat antara lain As, Zn, Pb, Cu, Cd, Fe dan Ag. Logam berat tersebut diduga meningkat pada testis, sehingga menyebabkan abnormalitas organ reproduksi jantan melalui peningkatan ROS pada testis.

Oksidan dan antioksidan di dalam tubuh harus seimbang. Salah satu antioksidan non enzimatis yang berperan menghambat efek dari ROS adalah Vitamin E (Anbarkeh et al., 2019). Vitamin E sebagai scavenger ROS banyak ditemukan pada jaringan yang banyak mengandung lemak dan pada membran sel (Fang, 2021). Hal tersebut dikarenakan Vitamin E merupakan antioksidan yang berfungsi menangkap radikal peroksil dan menghambat peroksidasi lipid (Mumtaz et al., 2020).

Salah satu organ yang banyak mengandung lemak adalah testis. Hal ini dikarenakan struktur membran plasma sperma dalam testis yang mengandung lemak tak jenuh ganda yang mengandung ikatan rangkap yang rentan terhadap serangan radikal bebas peroksidasi lipid (Gandhi et al., 2017). Peningkatan ROS dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, sehingga level Vitamin E pada testis berubah. Perubahan level Vitamin E yang menurun pada testis mengindikasikan terjadinya stres oksidatif akibat peningkatan ROS.

Berdasarkan uraian sebelumnya, maka penelitian ini dirancang untuk mengetahui kandungan logam berat pada testis tikus Wistar jantan yang dipaparkan air lindi TPAs Sarimukti, serta mengetahui konsentrasi Vitamin E testis tikus Wistar yang dipaparkan terhadap air lindi TPAs Sarimukti. Diharapkan, dengan ditemukannya salah satu mekanisme peningkatan logam berat dan penurunan konsentrasi Vitamin E testis akan memberikan pengetahuan baru mengenai cara pencegahan dampak paparan air lindi terhadap kesehatan.

METODE PENELITIAN

Sampling Air Lindi

Air lindi yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari TPAs Sarimukti, Desa Cipatat, Kabupaten Bandung barat. TPAs Sarimukti terletak pada LS 6°48'03'' BT 107°20'55'' dengan luas area 1000 m x 459 m. TPAs Sarimukti berlokasi 45 km sebelah barat kota Bandung dan terletak pada ketinggian 834 m dpl. Pengambilan air lindi dilakukan pada kolam utama lindi yang merupakan kolam tampungan lindi yang secara langsung terhubung dengan tumpukan sampah TPAs sarimukti. Air lindi hasil pencuplikan dibawa ke laboratorium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB dan disimpan pada suhu 4°C.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Air Lindi

Pemeliharaan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus jantan galur Wistar yang didapat dari PT. Biofarma. Tikus diaklimatisasi, dipelihara dan dikembangkan di rumah hewan Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Tikus Jantan dewasa umur 10 minggu dipisahkan dan siap untuk dijadikan sebagai hewan uji. Tikus jantan ditimbang, tikus dengan berat badan kurang lebih 250 gram yang digunakan sebagai hewan uji. Perlakuan hewan uji dilakukan dengan memberikan zat uji secara intraperitoneal (IP). Hewan uji yang sudah selesai diberi perlakuan kemudian dibunuh dengan menggunakan CO₂.

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari air lindi, aquabidestilata, CdCl₂ dan H₂O₂. Konsentrasi air lindi yang digunakan pada saat pendedahan adalah 63%. CdCl₂ dan H₂O₂ didapatkan dari gudang bahan kimia SITH ITB. Aquabidestilata didapat dari PT. Sakura, Indonesia. Penentuan dosis CdCl₂ berdasarkan literatur dan penelitian sebelumnya yaitu 1 mg/kg berat badan tikus. Dosis H₂O₂ yang diberikan adalah 1 Mm.

Desain Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK). Hewan uji dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu: air lindi 63%, akuabides sebagai kontrol pelarut, CdCl₂ sebagai kontrol positif air lindi dan H₂O₂ sebagai kontrol positif peningkatan logam berat. Setiap kelompok memerlukan pengulangan sebanyak enam kali, sehingga didapatkan jumlah total

hewan uji yang diperlukan adalah 24 ekor. Hewan uji diberikan pembedahan dengan zat uji selama 14 hari. Pada hari ke-15, hewan uji dibunuh untuk dilakukan pembedahan dan isolasi jaringan testis. Komponen logam berat diukur menggunakan metode *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS), konsentrasi Vitamin E testis tikus dengan menggunakan *Hight Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Isolasi dan Cryopreservation Testis Tikus

Tikus dieuthanasia pada hari ke-15, dibedah pada bagian abdominal, bagian skrotum dibuka, testis diisolasi dan dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi PBS pH 7,8 steril yang bersuhu 4°C. Isolasi testis dilakukan dengan cara testis kanan dan kiri diisolasi secara terpisah dan dibersihkan dari jaringan-jaringan lemak maupun jaringan ikat. Testis dimasukkan ke dalam cryotube yang berukuran 1,8 mL, ditimbang sehingga diketahui berat masing-masing testis. Cryotube yang berisi testis tersebut kemudian dimasukkan ke dalam nitrogen cair dengan suhu -196°C dan disimpan pada suhu -20°C.

Pengukuran Konsentrasi Logam Berat pada Testis

Sampel testis yang diuji adalah testis sebelah kiri. Sampel dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 70-80°C selama 24 jam. Sampel tersebut ditimbang dan digerus. Sampel yang sudah halus dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL. Sampel kemudian ditambahkan HNO₃ sebanyak 10 mL dan HCl 1 mL, kemudian dipanaskan dengan menggunakan hot plate dengan suhu 80°C selama 2 jam, didiamkan selama 10 menit, disaring menggunakan kertas saring. Homogenat ditambah aquabidestilata sampai volume mencapai 50 mL. Sampel diuji dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) di Laboratorium Pusat Sumber Daya Mineral, Batubara dan Panas Bumi, Bandung, Jawa Barat.

Pengukuran Konsentrasi Vitamin E pada Testis

Preparasi sampel untuk pengujian Vitamin E dengan cara sampel yang diawetkan dengan metode *cryopreservation*. Ekstraksi Jaringan dilakukan kemudian dilakukan saponifikasi. Saponifikasi dilakukan dengan cara 1,5 mL homogenat jaringan atau suspensi dari fraksi subseuler (supernatan) ditambah dengan 1 mL etanol absolut dan 0,5 mL asam askorbik 25 mL. Homogenat tersebut kemudian dipreinkubasi pada suhu 70°C selama 5 menit dalam tabung kaca. KOH ditambahkan pada campuran tersebut dan inkubasi dilanjutkan pada suhu 70°C dan dilakukan selama 30 menit.

Setelah inkubasi dengan suhu tinggi, tabung kemudian didinginkan dengan menempatkan pada tempat berisi es dan ditambahkan 4 mL heksana murni. Heksana murni ini ditambahkan untuk mengekstrak sampel yang menempel pada dasar labu. Setelah itu tabung divortex selama minimal 1 menit dan kemudian disentrifugasi. Kemudian dilakukan pemurnian heksana dan sampel siap dilakukan pengujian HPLC.

HASIL PENELITIAN**Kandungan Logam Berat Testis Tikus yang Dipaparkan Air Lindi TPAs Sarimukti**

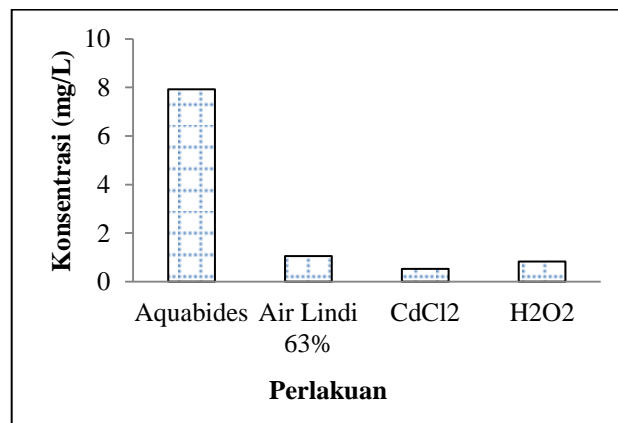
Hasil penelitian konsentrasi logam berat jaringan testis tikus yang diinduksi air lindi TPAs Sarimukti dapat dilihat pada tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan air lindi TPAs Sarimukti 63% menyebabkan perubahan konsentrasi logam berat Zinc (Zn) meskipun peningkatannya tidak jauh dari kontrol perlakuan. Pada perlakuan air lindi TPAs Sarimukti, konsentrasi Zn pada jaringan testis adalah 0,6 ppm. Hal tersebut menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan kontrol perlakuan (aquabidestilata) yaitu 0,5 ppm dan lebih rendah dari kontrol positif H_2O_2 dan $CdCl_2$ yaitu 4,6 ppm dan 6,7 ppm. Sedangkan untuk keenam logam yang lain yaitu: Cu, Pb, Ag, As, Cd dan Fe konsentrasinya 0 ppm.

Tabel 1. Konsentrasi Logam Berat pada Testis Tikus Wistar

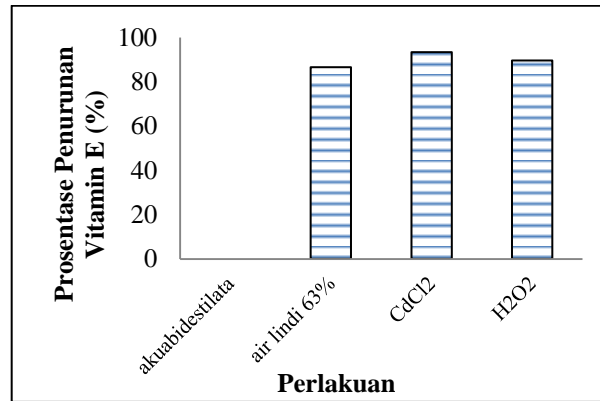
Perlakuan	Konsentrasi Logam Berat (ppm)						
	Cu	Pb	Zn	Ag	As	Cd	Fe
Aquabides	0	0	0,5	0	0	0	0
Air lindi 63%	0	0	0,6	0	0	0	0
H_2O_2	0	0	4,6	0	0	0,1	0
$CdCl_2$	0	0	6,7	0	0	0	0

Kandungan Vitamin E Testis Tikus yang Dipaparkan Air Lindi TPAs Sarimukti

Hasil penelitian mengenai kandungan vitamin E testis tikus dipaparkan pada Gambar IV.3. Konsentrasi vitamin E testis pada kelompok yang dipaparkan air lindi TPAs Sarimukti 63% lebih rendah dibanding kelompok perlakuan aquabidestilata. Konsentrasi Vitamin E testis tikus yang didedahkan dengan air lindi yaitu 1,06 ppm, sedangkan kelompok kontrol pelarut yang didedahkan aquabidestilata yaitu 7,92 ppm. Konsentrasi tersebut masih lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu $CdCl_2$ dan H_2O_2 yang konsentrasi masing-masing adalah 0,53 ppm dan 0,85 ppm.

**Gambar 2. Konsentrasi Vitamin E pada Testis Tikus Wistar**

Penurunan konsentrasi vitamin E pada testis tikus Wistar yang dipaparkan air lindi TPAs Sarimukti 63% sebesar 86,6 % dibandingkan dengan perlakuan akuabidestilata. Persentase penurunan vitamin E pada perlakuan tersebut tidak jauh berbeda dengan kontrol positif perlakuan dengan CdCl_2 dan H_2O_2 yaitu 93,3% dan 89,5% (gambar 3).



Gambar 3. Persentase Penurunan Konsentrasi Vitamin E pada Testis Tikus

PEMBAHASAN

Konsentrasi Zn di testis yang lebih tinggi diduga akibat dari konsentrasi Zn yang tinggi pada air lindi TPAs Sarimukti. Sedangkan konsentrasi keenam logam yang tidak terdeteksi pada testis diduga disebabkan oleh kandungan keenam logam tersebut di air lindi yang rendah (mendekati 0) sehingga tidak terjadi akumulasi di testis karena pada proses biotransformasi di hati, keenam logam tersebut dapat diekskresikan keluar tubuh.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti lain. Beberapa penelitian menjelaskan bahwa paparan zat dari tempat pembuangan sampah menyebabkan akumulasi logam berat Hg, Fe, Zn, Ni, Cd, As pada testis (Oyelowo et al., 2020). Logam berat dapat memberikan efek gangguan reproduksi pada tikus jantan dengan mengganggu hormonal hipotalamus-hipofisis-testis (Adedara et al., 2019). Paparan air lindi menyebabkan penurunan hormon reproduksi seperti FSH, LH dan testosteron (Wasiu & Abdulfatai, 2019). Efek toksik logam berat yang terlihat antara lain kelainan morfologi spermatozoa dan penyempitan lumen tubulus seminiferus akibat penebalan epitel tubulus seminiferus (Ademola et al., 2020).

Hasil penelitian yang dilakukan berbeda dengan penelitian lain disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor tersebut antara lain: kondisi iklim, cuaca, pengelolaan sampah tiap individu, jumlah dan jenis sampah yang dibuang, umur TPA, kondisi geologi (Seibert et al., 2019; Vaccari et al., 2019), teknologi pengolahan limbah (Luo et al., 2019) dan waktu pengambilan sampel (berdasarkan musim) (Xaypanya et al., 2018). Konsentrasi logam berat TPAs Sarimukti yang rendah sehingga tidak terakumulasi pada testis disebabkan oleh beberapa faktor antara lain jenis sampah yang ada di TPAs Sarimukti merupakan sampah rumah tangga (bukan sampah industri). Selain itu pengambilan sampel ketika musim kemarau juga menjadi faktor penting karena pada penelitian lain menjelaskan pada saat musim kemarau kandungan logam berat air lindi rendah

disebabkan oleh tidak adanya pergerakan molekul-molekul di dalam air (Xaypanya et al., 2018).

Penurunan konsentrasi vitamin E testis Tikus Wistar yang dipaparkan air lindi menunjukkan bahwa air lindi TPAs Sarimukti dapat menyebabkan ketidakseimbangan antioksidan non enzimatis di dalam tubuh. Meskipun Penurunan konsentrasi vitamin E merupakan salah satu marka stres oksidatif yang mengindikasikan adanya peningkatan level ROS pada tingkat sel, jaringan, maupun organ. Berdasarkan kedua data tersebut dapat diketahui bahwa air lindi dapat menyebabkan penurunan vitamin E pada testis tikus Wistar akibat senyawa-senyawa yang bersifat toksik yang terkandung di dalam air lindi. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa toksik tersebut menyebabkan penurunan konsentrasi vitamin E pada testis akibat adanya peningkatan pembentukan ROS sehingga menyebabkan stres oksidatif pada testis. Sperma sangat rentan terhadap stres oksidatif akibat kandungan sitoplasma yang sedikit dan lipid yang tinggi (Asadi et al., 2017). Vitamin E merupakan antioksidan non enzimatis yang larut dalam lemak yang berperan dalam menghambat peroksidasi lipid sehingga menjaga stabilitas membran sel dan lipoprotein (Fang et al., 2021; Mumtaz et al., 2020). Apabila keseimbangan vitamin E terganggu maka membran sel akan mengalami kerusakan (Saito et al., 2020).

Persentase penurunan konsentrasi vitamin E testis tikus yang diinduksi air lindi TPAs Sarimukti 63% dibandingkan dengan perlakuan kontrol pelarut (aquabidestilata). Penurunan konsentrasi vitamin E testis pada perlakuan air lindi 63% sebesar 86,6 % jika dibandingkan dengan perlakuan akuabides. Paparan air lindi menyebabkan ketidakseimbangan pro-oksidan/antioksidan sehingga meningkatkan radikal pada testis (Yakubu & Omar, 2020). Peningkatan ROS seperti lipid peroksida dan gangguan level antioksidan menyebabkan penurunan kualitas sperma dan disfungsi testis (Asadi et al., 2017). Dalam hal ini, peningkatan radikal lipid peroksil menyebabkan vitamin E (α -tokoferol) dalam jumlah yang sedikit tidak mampu untuk menetralkan radikal bebas sehingga menyebabkan kerusakan membran sel (Saito et al., 2020).

Air lindi sangat berbahaya terhadap membran sel di testis jika melebihi batas normal. Efek biotoksin dari komponen yang ada di air lindi dapat memberikan efek secara individual, sinergis, antagonis atau interferensi kolektif pada membran sel normal testis (Akintunde et al., 2013). Toksikannya tersebut melewati sirkulasi darah sistemik dan berubah menjadi oksidan (seperti Pb^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} dan Fe^{3+}). Bentuk teroksidasi ini bercampur dan berikatan dengan biomolekul di testis, seperti *polyunsaturated fatty acids* (PUFA), protein dan enzim. Kerusakan membran sel disebabkan oleh gangguan enzim ATPase. ATPase ini merupakan enzim yang berperan dalam transport ion yang berada pada membran sel dan juga berpengaruh terhadap level senyawa yang mengandung gugus thiol (Azevedo et al., 2016).

Interaksi antara ROS akibat peningkatan logam berat Zn dengan membran sel menyebabkan disfungsi dari ATPase. Apabila terjadi gangguan pada enzim ini maka dapat merusak aktivitas enzim dan juga dapat merusak asam amino atau pun protein pada bagian hidrofobik membran sel (Jomova & Valko, 2011). Dampak selanjutnya adalah terjadi kerusakan pada membran sel di jaringan testis, inaktivasi reseptor di membran sel, inaktivasi enzim dan peningkatan

permeabilitas jaringan sehingga menyebabkan gangguan spermatogenesis (Adedara et al., 2015).

SIMPULAN

Air lindi TPAs Sarimukti menyebabkan perubahan konsentrasi logam berat Zn pada testis tikus Wistar, sedangkan pada keenam logam berat yaitu: As, Cu, Cd, Pb, Fe dan Ag konsentrasinya 0. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi logam berat di air lindi yang sangat rendah dan juga adanya biotransformasi di hati. Air lindi TPA Sarimukti diduga dapat menyebabkan peningkatan ROS yang diindikasikan dengan biomarker penurunan konsentrasi Vitamin E pada testis yang menyebabkan kerusakan membran sel sehingga berlanjut dengan kerusakan sel dan jaringan testis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adedara, I. A., Abiola, M. A., Adegbosin, A. N., Odunewu, A. A., & Farombi, E. O. (2019). Impact of Binary Waterborne Mixtures of Nickel and Zinc on Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis in Rats. *Chemosphere*, 237, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124501>
- Adedara, I. A., Awogbindin, I. O., Adesina, A. A., Oyebiyi, O. O., Lawal, T. A., & Farombi, E. O. (2015). Municipal Landfill Leachate-Induced Testicular Oxidative Damage is Associated with Biometal Accumulation and Endocrine Disruption in Rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 68(1), 74–82. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0075-x>
- Ademola, O. J., Alimba, C. G., & Bakare, A. A. (2020). Reproductive Toxicity Assessment of Olusosun Municipal Landfill Leachate in *Mus musculus* using Abnormal Sperm Morphology and Dominant Lethal Mutation Assays. *Environmental Health and Toxicology*, 35(2). 1-10 <https://doi.org/10.5620/eaht.e2020010>
- Akintunde, J. K., Oboh, G., & Akindahunsi, A. A. (2013). Testicular Membrane Lipid Damage by Complex Mixture of Leachate from Municipal Battery Recycling Site as Indication of Idiopathic Male Infertility in Rat. *Interdisciplinary Toxicology*, 6(4), 192–197. <https://doi.org/10.2478/intox-2013-0028>
- Anbarkeh, F. R., Nikraves, M. R., Jalali, M., Sadeghnia, H. R., & Sargazi, Z. (2019). The Effect of Diazinon on Cell Proliferation and Apoptosis in Testicular Tissue of Rats and the Protective Effect of Vitamin E. *International Journal of Fertility and Sterility*, 13(2), 154–160. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2019.5612>
- 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>
- Azevedo, M. M., Guimarães-Soares, L., Pascoal, C., & Cássio, F. (2016). Copper and Zinc Affect the Activity of Plasma Membrane H⁺-ATPase and Thiol Content in Aquatic Fungi. *Microbiology (United Kingdom)*, 162(5), 740–747. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000262>
- Fang, J., Xie, S., Chen, Z., Wang, F., Chen, K., Zuo, Z., Cui, H., Guo, H., Ouyang, P., Chen, Z., Huang, C., Liu, W., & Geng, Y. (2021). Protective

- Effect of Vitamin E on Cadmium-Induced Renal Oxidative Damage and Apoptosis in Rats. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02606-4>
- Fu, Z., & Xi, S. (2019). The Effects of Heavy Metals on Human Metabolism. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30(3) 167–176. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1701594>
- Gandhi, J., Hernandez, R. J., Chen, A., Smith, N. L., Sheynkin, Y. R., Joshi, G., & Khan, S. A. (2017). Impaired Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis Activity, Spermatogenesis, and Sperm Function Promote Infertility in Males with Lead Poisoning. *Zygote*, 25(2), 103-110. <https://doi.org/10.1017/S0967199417000028>
- He, Y., Zou, L., Luo, W., Yi, Z., Yang, P., Yu, S., Liu, N., Ji, J., Guo, Y., Liu, P., He, X., Lv, Z., & Huang, S. (2020). Heavy Metal Exposure, Oxidative Stress and Semen Quality: Exploring Associations and Mediation Effects in Reproductive-Aged Men. *Chemosphere*, 244, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125498>
- Jomova, K., & Valko, M. (2011). Advances In Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease. *Toxicology*, 283(2–3), 65–87. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>
- Luo, H., Zeng, Y., Cheng, Y., He, D., & Pan, X. (2019). Recent Advances in Municipal Landfill Leachate: A Review Focusing on Its Characteristics, Treatment, and Toxicity Assessment. *Science of the Total Environment*, 1-105. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135468>
- Marreiro, D., Cruz, K., Morais, J., Beserra, J., Severo, J., & de Oliveira, A. (2017). *Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms*, 6(2). 1-9. <https://doi.org/10.3390/antiox6020024>
- Mumtaz, S., Ali, S., Khan, R., Shakir, H. A., & Tahir, H. M., Mumtaz, S., Andleeb, S. (2020). Therapeutic Role of Garlic and Vitamins C and E Against Toxicity Induced by Lead on Various Organs. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07654-2>
- Nesta, B. S., Shouta, M. M. N., Yoshinori, I., Osei, A., Elvis, B., Hazuki, M., & Mayumi, I. (2016). Heavy Metals and Metalloid Accumulation in Livers and Kidneys of Wild Rats Around Gold-Mining Communities in Tarkwa, Ghana. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 8(7), 58–68. <https://doi.org/10.5897/jece2016.0374>
- Oyelowo, O. T., Omamogho, O. E., & Ezenwajiaku, I. F. (2020). Heavy Metals Correlate with Cellular Adenosine Triphosphate and Fructose Levels in Municipal Dumpsite Exposure. *Biokemistri*, 32(1), 1–10. <http://ojs.klobexjournals.com/index.php/bkr/article/view/459>
- Saito, H., Hara, K., Kitajima, S., & Tanemura, K. (2020). Effect of Vitamin E Deficiency on Spermatogenesis in Mice and Its Similarity to Aging. *Reproductive Toxicology*, 1-36. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.10.003>
- Seibert, D., Quesada, H., Bergamasco, R., Borba, F. H., & Pellenz, L. (2019). Presence of Endocrine Disrupting Chemicals in Sanitary Landfill Leachate, Its Treatment and Degradation by Fenton Based Processes: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 131, 255–267.

<https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.09.022>

Vaccari, M., Tudor, T., & Vinti, G. (2019). Characteristics of Leachate from Landfills and Dumpsites in Asia, Africa and Latin America : An Overview. *Waste Management*, 95, 416–431.

<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.06.032>

Wasiu, A. O., & Abdulfatai, A. (2019). Toxic Effects of Paraquat Dichloride Leachate on Testes and Sperm Parameters of Male Wistar Rats. *International Journal of Anatomy and Research*, 7(1.3), 6274–6279.

<https://doi.org/10.16965/ijar.2018.457>

Xaypanya, P., Takemura, J., Chiemchaisri, C., Seingheng, H., & Tanchuling, M. A. N. (2018). Characterization of Landfill Leachates and Sediments in Major Cities of Indochina Peninsular Countries — Heavy Metal Partitioning in Municipal Solid Waste Leachate. *Environments*, 5(6), 1-24.

<https://doi.org/10.3390/environments5060065>

Yakubu, M. T., & Omar, S. A. (2020). Impact of Groundwater Samples and Leachates from Gbagede Dumpsite, Amoyo, Kwara State, Nigeria, on Testes and Prostate of Male Wistar Rats: A Biochemical And Histological Study. *Andrologia*, 52(11), 1–15. <https://doi.org/10.1111/and.13801>