

Pengaruh Ekstrak Etanolik Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) Terhadap Nilai Ekspresi TNF- α Testis Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Model Sindrom Metabolik

Tyas Nur Winarno Putri^{1*}, Dyah Ratna Budiani², Muthmainah³

1. Program Studi Sarjana Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta
2. Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta
3. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta

Korespondensi : tyasnurwp@student.uns.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Peningkatan angka penderita sindrom metabolik secara global dianggap mengkhawatirkan karena mengakibatkan komplikasi masalah kesehatan pada berbagai organ termasuk organ reproduksi pria. Infertilitas pada pria yang disebabkan oleh inflamasi kronik dan kematian sel yang terjadi pada sindrom metabolik erat kaitannya dengan peran TNF- α sebagai mediator inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik daun kelor terhadap ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar model sindrom metabolik.

Metode: Penelitian bersifat ekperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Subjek tikus Wistar dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berisi 6 tikus, KI sebagai kontrol normal, KII sebagai kelompok induksi sindrom metabolik, dan KIII, KIV, KV sebagai kelompok sindrom metabolik yang diberi ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis secara berurutan 150 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 350 mg/kgBB. Induksi sindrom metabolik menggunakan pakan tinggi lemak dan STZ-NA. Perhitungan ekspresi TNF- α menggunakan metode semikuantitatif IDS. Analisis ekspresi TNF- α menggunakan uji One-Way ANOVA yang dilanjutkan post hoc LSD dan uji regresi linear.

Hasil: Uji One-Way ANOVA ekspresi TNF- α pada jaringan testis menunjukkan $p=0,001$ ($p<0,05$), maka terdapat perbedaan ekspresi TNF- α yang signifikan pada kelima kelompok. Perbedaan bermakna terdapat pada KI terhadap KII dan KII terhadap KIV dan KV. Uji regresi linear menunjukkan pengaruh dosis ekstrak etanolik daun kelor memberikan arah negatif terhadap ekspresi TNF- α .

Simpulan: Pemberian ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam) dengan dosis 150 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 350 mg/kgBB dapat menurunkan ekspresi TNF- α .

Kata Kunci: TNF- α ; ekstrak etanolik daun kelor; sindrom metabolik; testis; spermatogenesis

ABSTRACT

Background: Increasing numbers of metabolic syndrome (SM) globally has been a concern for it causes health complications on various organs including male reproductory. Male infertility caused by chronics inflammation and cell death in metabolic syndrome patients has been linked with TNF- α role as inflammation mediator. Thus, this study aimed to determine the effect of ethanolic extract of Moringa leaves on the expression of TNF- α in testicular tissue of Wistar rats with metabolic syndrome model.

Method: This is an experimental research with *posttest only control group design*. Wistar rats as subject are divided into 5 groups with 6 rats each, KI as control group, KII as group with induced SM model, and KIII, KIV, KV as group with induced SM model and given ethanolic extract of Moringa leaves with doses of 150 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, and 350 mg/kgBB consecutively. HFD and injection of STZ-NA was used to induced SM. Expression of TNF- α was measured with IDS while One-Way ANOVA followed by post hoc LSD and linier regression was used to analyze IDS score.

Result: One-Way ANOVA showed significant difference with $p=0,001$ ($p<0,05$), this significant difference was found between KI to KII and KII to KIV and KV. Linier regression showed ethanolic extract of Moringa leaves had negative effect on TNF- α expression.

Conclusion: Administration of ethanolic extract of Moringa leaves at 150 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, and 350 mg/kgBB has the potential effect to reduce TNF- α expression in testicular tissue of Wistar rats.

Keywords: TNF- α ; ethanolic extract of moringa leaves; metabolic syndrome; testes; spermatogenesis

PENDAHULUAN

Sindrom metabolik diekspektasikan menjadi epidemic global seiring dengan meningkatnya angka obesitas dan diabetes tipe 2 secara global. Peningkatan ini disebabkan oleh perubahan pola makan masyarakat, penurunan aktivitas fisik dan pola hidup sedentari (Saklayen, 2018). Sindrom metabolik adalah kumpulan dari beberapa faktor risiko diantaranya peningkatan trigliserida, perubahan metabolisme glukosa, penurunan kolesterol *high density lipoprotein* (HDL) dan peningkatan tekanan darah dan adiposit (Bitew *et al.*, 2020). Faktor risiko tersebut menyebabkan inflamasi low grade yang kronis dan sistemik, termasuk pada testis (Leisegang *et al.*, 2019). Inflamasi yang terjadi disebabkan oleh peningkatan ROS yang menimbulkan keadaan stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif ini memberikan efek negatif pada testis berupa penurunan motilitas sperma dan spermatogenesis juga peningkatan apoptosis sel germinal testis (Kumar *et al.*, 2015). Salah satu komponen persinyalan yang memediasi apoptosis dan necroptosis adalah TNF- α (Kallioli *et al.*, 2016).

Berkembangnya minat terhadap pengobatan herbal sebagai alternative pengobatan berbagai penyakit seperti sindrom metabolik membuat tanaman herbal semakin populer untuk diteliti manfaatnya, salah satunya adalah tanaman kelor (Dewi, 2019). Daun dari tanaman ini memiliki nilai gizi tinggi sehingga sering dikonsumsi sebagai makanan. Kandungan senyawa fitokimianya seperti tannin sterol, flavonoid, saponin, dan alkaloid juga memberikan berbagai efek kesehatan seperti antidiabetes, antikanker, antiinflamasi dan antioksidan (Gopalakrishnan *et al.*, 2016; Mbikay, 2012). Kemampuan antidiabetes, antiinflamasi, dan antioksidan dari tanaman ini diduga mampu menurunkan sitokin proinflamasi, hiperglikemia dan dyslipidemia yang terjadi sehingga mampu menekan proses kematian sel pada berbagai organ termasuk pada jaringan testis (Irfan *et al.*, 2020; Luetragoon *et al.*, 2020; Mbikay, 2012). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam) terhadap ekspresi TNF- α di testis serta kaitannya dengan infertilitas pada pria menggunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak dan induksi STZ-NA.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan *post-test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Subjek yang digunakan pada penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria inklusi, yaitu tikus putih dengan galur Wistar, berjenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan dan berat badan 150-200 gram. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah tikus yang tampak sakit dengan gejala, penurunan berat badan, piloereksi, tidak mau makan dan minum, feses lembek, cair dan berbau, tampak pucat dan mati sebelum penelitian selesai.

Teknik pengambilan sampel menggunakan metode purposive sampling dengan jumlah sampel sebanyak 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok. Variabel bebas pada penelitian ini adalah Ekstrak Etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam) dengan variabel terikat, yaitu nilai ekspresi TNF- α jaringan testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dimana ekspresi TNF- α akan dinilai dengan metode semikualitatif IDS. Skor IDS kemudian akan diuji normalitas distribusinya dengan uji Shapiro-Wilk, kemudian dilakukan uji beda dengan one-way ANOVA yang dilanjutkan post hoc LSD. Dilakukan pula uji regresi linier untuk mengetahui besar pengaruh dosis terhadap ekspresi TNF- α . Penelitian ini sudah mendapat ethical clearance oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi dengan nomor: 997/XI/HREC/2021.

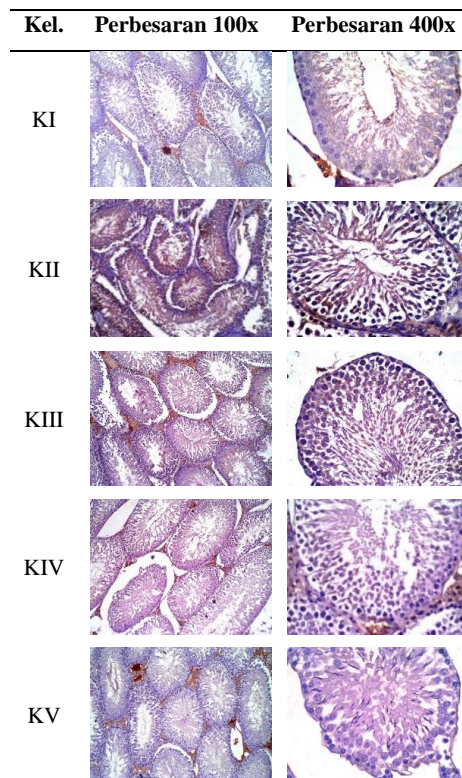
HASIL

Pencapaian Sindrom Metabolik

Penilaian pencapaian sindrom metabolik pada sampel dilakukan menggunakan kriteria NCEP-ATP III, yaitu obesitas sentral, tekanan darah >130/85, trigliserida \geq 150mg/dL, HDL <40mg/dL, dan GDP \geq 110mg/dL dan kriteria menurut Suman *et al.*, yaitu peningkatan berat badan >8%, kolesterol total >110mg/dL, tekanan darah sistolik >130mg/dL, trigliserida >150mg/dL, HDL <35mg/dL, dan gula darah >200 mg/dL. Berdasarkan kriteria tersebut maka kelompok kontrol negatif (KII), kelompok sindrom metabolik dengan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dosis 150mg/kgBB (KII), kelompok sindrom metabolik dengan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dosis 250mg/kgBB (KIV), dan kelompok sindrom metabolik dengan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dosis 350mg/kgBB (KV) telah mencapai sindrom metabolik karena memenuhi 3 dari 5 kriteria NCEP-ATP III dan 4 dari 6 kriteria Suman *et al.* Sementara kelompok kontrol normal (KI) tidak mencapai keadaan sindrom metabolik.

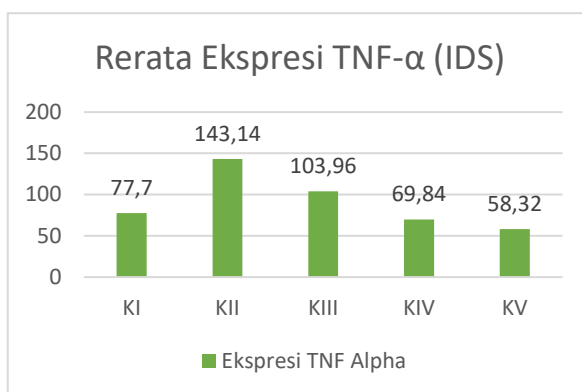
Data Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis

Ekspresi TNF- α diukur secara semikualitatif dengan menggunakan skor IDS. Sel dianggap positif kuat jika tercap coklat tua, positif sedang jika tercat coklat muda, positif lemah jika kuning keemasan, dan negative jika tercat biru keunguan. Hasil pengecatan dengan IHC antibody anti-TNF- α pada jaringan testis dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1. Hasil Pengecatan IHC Antibodi Anti-TNF- α pada Jaringan Testis Tikus

Dari hasil perhitungan didapatkan rerata ekspresi TNF- α dalam skor IDS pada tabel 1. Diketahui bahwa rerata ekspresi TNF- α paling tinggi pada KII 143,14 dan nilai ekspresi TNF- α terendah pada KV dengan 58,32.



Gambar 2. Diagram Batang Ekspresi TNF- α

Analisis Data Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis

Hasil uji normalitas data ekspresi TNF- α pada jaringan testis menggunakan Shapiro-Wilk pada KI, KII, KIII, KIV, dan KV secara berurutan adalah 0,114; 0,065; 0,141; 0,818; dan 0,484. Setiap kelompok memiliki nilai $p > 0,05$ yang berarti data kelompok terdistribusi normal sehingga memenuhi syarat uji parametrik one-way ANOVA.

Uji one-way ANOVA dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rerata ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus antar kelompok yang diuji. Berdasarkan uji one-way ANOVA didapatkan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$), maka dapat diinterpretasikan bahwa terdapat perbedaan rerata ekspresi TNF- α pada jaringan testis diantara kelompok yang diuji.

Berdasarkan hasil uji posthoc LSD pada tabel 1. berikut didapatkan adanya perbedaan ekspresi TNF- α pada jaringan testis yang signifikan antara KI dengan KII dengan nilai $p = 0,002$, lalu antara KII dengan KIII, KIV, dan KV dengan nilai p secara berurutan 0,048; 0,001; dan 0,000, antara KIII dengan KV dengan nilai $p = 0,023$ ($p < 0,05$), serta antara KIII dengan KIV dan antara KIV dengan KV yang masing-masing bernilai 0,082 dan 0,546 ($p > 0,05$).

Tabel 1. Uji Post hoc LSD

Kel.	Terhadap Kel.	Nilai P
KI	KII	0,002
KII	KIII	0,048
	KIV	0,001
	KV	0,000
KIII	KIV	0,082
	KV	0,023
KIV	KV	0,546

Tabel 2. Model Summary Uji Regresi Linier Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis

Keterangan	Nilai
R	0,743
R Square	0,552

Tabel 3. Koefisien Uji Regresi Linier Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis

Keterangan	Nilai
Nilai P	0.000
Konstanta (a)	194,812
Koefisien regresi (b) ekstrak etanolik daun kelor	-28,856

Berdasarkan tabel 2. dan tabel 3. Diketahui bahwa nilai korelasi atau hubungan antara variabel bebas ekstrak etanolik daun kelor dengan variabel terikat ekspresi TNF- α , yaitu 0,743 dengan koefisien determinasi (*R square*) sebesar 55,2%. Nilai konstanta (a) sebesar 194,812 dan nilai koefisien regresi (b) dosis ekstrak etanolik daun kelor sebesar -28,856 sehingga persamaannya menjadi $Y = 194,812 - 28,856X$. Nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) berarti terdapat pengaruh besarnya dosis ekstrak etanolik daun kelor yang signifikan terhadap ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus.

PEMBAHASAN

Analisis Data Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis

Melalui pengamatan preparat histopatologi jaringan testis tikus Wistar diperoleh data rerata ekspresi dalam satuan IDS adalah $77,70 \pm 38,80$ untuk KI; $143,14 \pm 27,64$ untuk KII; $103,96 \pm 34,45$ untuk KIII; $69,84 \pm 30,01$ untuk KIV; dan $58,32 \pm 30,98$ untuk KV. Kemudian dilakukan uji beda menggunakan One-Way ANOVA yang menunjukkan nilai $p = 0,001$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata ekspresi TNF- α antar kelompok yang diuji.

Hasil uji post hoc LSD antara kontrol normal (KI) dengan kontrol negatif (KII) yang menunjukkan nilai $p = 0,002$ berarti pemberian pakan tinggi lemak dan injeksi STZ-NA untuk menimbulkan kondisi sindrom metabolik dapat meningkatkan ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar secara signifikan. Pemberian pakan tinggi lemak untuk menginduksi sindrom metabolik akan meningkatkan asam lemak bebas (FFA) dan lipogenesis sehingga menyebabkan hiperplasia dan hipertrofi adiposit. Adiposit yang mengalami hipertrofi dan hiperplasia akan memicu peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (de Moura e Dias *et al.*, 2021). Keadaan hiperkolesterolemia lalu akan mengaktivasi NADPH oksidase sehingga produksi ROS meningkat dan menimbulkan keadaan stres oksidatif (Bhattacharya *et al.*, 2018). Pada testis keadaan stress oksidatif akan meningkatkan defek pada sperma dan fragmentasi DNA, hal ini akan memicu perubahan komponen dan jalur persinyalan TNF- α yang sebelumnya memicu cell survival menjadi memicu kematian sel germinal testis (Ting & Bertrand, 2016).

Hasil uji post hoc LSD antara kelompok kontrol negatif (KII) dengan kelompok sindrom metabolik yang diberi ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB (KIII), 250 mg/kgBB (KIV), dan 350 mg/kgBB (KV) memiliki nilai p secara berurutan 0,048; 0,001; dan 0,000. Nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan ekspresi TNF- α yang bermakna diantara KII dengan KIII, KIV, dan KV. Nilai rerata ekspresi TNF- α pada KIII, KIV, dan KV lebih rendah jika dibandingkan dengan KII. Hal ini berarti pemberian ekstrak etanolik daun kelor dapat memberikan penurunan ekspresi TNF- α yang bermakna pada jaringan testis tikus Wistar yang diinduksi sindrom metabolik.

Penurunan ekspresi TNF- α pada jaringan testis ini diduga karena efek antioksidan antidiabetes, dan antiinflamasi yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder dalam daun kelor. Beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut diantaranya adalah tannin, saponin, alkaloid, sterol, dan flavonoid (Gopalakrishnan *et al.*, 2016; Mbikay, 2012).

Quercetin salah satu jenis flavonoid yang sering ditemukan dapat mengurangi hiperlipidemia pada hewan coba yang diberi pakan tinggi lemak dan melindungi dari stress oksidatif dan apoptosis pada tikus yang diinduksi streptozotocin (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki karakteristik molekul amfipatik sehingga lebih mudah untuk melewati membran lipid bilayer dan

mencegah kerusakan akibat stres oksidatif pada spermatozoa. Senyawa ini juga dapat meningkatkan meningkatkan *testicular lactate dehydrogenase* (LDH) dan *alkaline phosphatase* (ALP) yang berperan dalam spermatogenesis dan mencegah terjadinya defek sel testis saat maturasi. Flavonoid juga memiliki efek meningkatkan aktivitas enzim antioksidan sehingga dapat mengurangi akumulasi ROS dan produksi MDA. Tidak hanya itu, flavonoid juga dapat menjaga keutuhan sawar darah testis yang dibentuk oleh sel Sertoli dan meningkatkan ekspresi cAMP yang meregulasi testosterone dengan menghambat COX-2. Efek antiinflamasi flavonoid didapat melalui penurunan jumlah sitokin inflamasi seperti TNF- α dan IL-6 serta penurunan regulasi ekspresi iNOS (Ye *et al.*, 2020).

Saponin memiliki efek antidiabetes dan antiinflamasi, efek antidiabetesnya didapat dengan mengembalikan respon insulin dan induksi pelepasan insulin dari pankreas. Sementara, efek antiinflamasinya dilakukan dengan menghambat jalur persinyalan NF κ B sehingga menghambat pelepasan sitokin proinflamasi termasuk TNF- α (Jang *et al.*, 2013; Marrelli *et al.*, 2016). melindungi spermatozoa secara efektif dengan kemampuannya untuk memperbaiki lesi pada DNA sehingga jumlah sperma abnormal berkurang. Saponin juga dapat menstimulasi sel Sertoli dan sel germinal testis sehingga produksi sperma meningkat. Hal ini dilakukan dengan meningkatkan konversi testosterone ke DHT sehingga menstimulasi *androgen binding protein* (ABP) pada sel Sertoli. Peningkatan ABP lebih lanjut akan menstimulasi spermatogenesis. Selain itu kompleks DHT-ABP di epididymis akan meningkatkan maturasi spermatozoa menjadi sperma yang fertil (Hemalatha & Hari, 2015).

Tannin berpengaruh terhadap kondisi sindrom metabolik dengan menurunkan tekanan darah, dan kadar lipi serum. Senyawa ini juga memiliki efek antidiabetes dengan meningkatkan ambilan glukosa (Sharma *et al.*, 2021). Sebagai senyawa antioksidan, tannin dapat mengurangi stress oksidatif dengan menurunkan jumlah ROS dan TNF- α (Wu *et al.*, 2019). Pada testis tannin dapat meningkatkan SOD, GSH-Px, dan CAT yang mengubah senyawa radikal menjadi molekul air yang tidak berbahaya (Dai *et al.*, 2020).

Alkaloid sebagai zat antioksidan memiliki peranan penting dalam mengurangi stres oksidatif dengan meningkatkan rasio Bcl-2/Bax dan menurunkan caspase-3 dan caspase-9 sehingga menghambat jalur apoptosis intrinsik mitokondria (Nigdelioglu Dolanbay *et al.*, 2021). Alkaloid juga dapat menstimulasi sintesis testosterone dengan menstimulasi β -HSD, enzim yang mengkonversi DHEA menjadi testosterone (Vyas & Raval, 2016)

Sterol yang termasuk kedalam senyawa antioksidan membantu melindungi testis melalui struktur molekulnya yang membuat membrane plasma menjadi lebih stabil. Selain itu sterol juga dapat meningkatkan jumlah Bcl-2 yang akan menghambat apoptosis melalui regulasi status redox seluler (Pratiwi *et al.*, 2021). Kemampuan metabolit sekunder pada daun kelor berperan penting dalam mengurangi stres oksidatif pada testis sehingga dapat meningkatkan spermatogenesis dan fertilitas pada pria (Asadi *et al.*, 2017).

Dari hasil uji post hoc LSD pada KIII terhadap KIV dan KIV terhadap KV didapatkan nilai p sebesar 0,082 dan 0,546; hal ini berarti pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 250 mg/kgBB dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar dengan besaran nilai yang serupa dengan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dosis 150 mg/kgBB dan 350 mg/kgBB. Sementara, pada uji LSD KIII terhadap KV didapat nilai signifikansi sebesar p=0,023. Nilai p>0,05 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi TNF- α yang bermakna diantara kedua kelompok tersebut. Hal ini berarti perubahan dosis ekstrak etanolik daun kelor dari dosis 150 mg/kgBB ke 350 mg/kgBB dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar secara signifikan.

Hubungan antara Dosis Ekstrak Etanolik Daun Kelor Terhadap Nilai Ekspresi TNF- α pada Jaringan Testis Tikus Wistar

Pada uji regresi linier didapat persamaan $Y = 194,812 - 28,856X$ dengan nilai signifikansi 0,000. Hal ini berarti dosis ekstrak etanolik daun kelor sebagai variabel bebas memiliki pengaruh yang

bermakna terhadap rerata ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus putih sebagai variabel terikat. Hasil ini sejalan dengan hasil uji beda antara KIII dengan KV.

Pada tabel 3. Nilai konstanta (a) sebesar 194,812, nilai ini menunjukkan nilai konsisten variabel terikat yaitu ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus sebesar 194,812, sementara nilai koefisien regresi (b) untuk ekstrak etanolik daun kelor sebagai variabel bebas adalah -28,856. Hal ini memiliki makna bahwa setiap penambahan 1% dosis ekstrak etanolik daun kelor akan menurunkan nilai ekspresi TNF- α sebanyak 28,856 dan koefisien regresi yang bernilai negative juga bermakna bahwa dosis ekstrak etanolik daun kelor memberi pengaruh negatif terhadap nilai ekspresi TNF- α pada jaringan testis. Sementara, nilai R Square 0,552 memiliki interpretasi bahwa pengaruh dari dosis ekstrak etanolik daun kelor terhadap nilai ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar adalah sebesar 55,2% dan 44,8% dari nilai ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar dipengaruhi oleh variabel lain yang tidak diteliti.

Penelitian ini tidak didahului isolasi metabolit sekunder untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanolik daun kelor, juga tidak diketahui persentase komposisinya sehingga tidak dapat diketahui dengan pasti senyawa metabolit sekunder apa saja yang berpengaruh terhadap penurunan ekspresi TNF- α . Variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini juga tergolong masih sedikit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan nilai ekspresi TNF- α pada kelompok yang diuji dan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada jaringan testis tikus Wistar secara signifikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Slamet Riyadi, dr., M.Kes, yang telah banyak memberikan masukan dalam penulisan naskah publikasi ini, seluruh laboran bagian Laboratorium Patologi Anatomi, dan seluruh petugas Laboratorium PSPG UGM yang telah membantu pelaksanaan penelitian dalam hal ini pembuatan model sindrom metabolik dan perlakuan pada hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- 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>
- Bhattacharya, A., Tiwari, P., Sahu, P. K., & Kumar, S. (2018). A Review of the Phytochemical and Pharmacological Characteristics of *Moringa oleifera*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(4), 181–191. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_126_18
- Bitew, Z. W., Alemu, A., Ayele, E. G., Tenaw, Z., Alebel, A., & Worku, T. (2020). Metabolic syndrome among children and adolescents in low and middle income countries: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13098-020-00601-8>
- Dai, X., Zhou, L. Y., Xu, T. T., Wang, Q. Y., Luo, B., Li, Y. Y., Gu, C., Li, S. P., Wang, A. Q., Wei, W. H., & Yang, S. M. (2020). Reproductive responses of the male brandt's vole, *lasiodomys brandtii* (Rodentia: Cricetidae) to tannic acid. *Zoologia*, 37, 1–11. <https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e52232>
- de Moura e Dias, M., dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Sediya, C. M. N. de O., Pereira, S. S., de Oliveira, L. L., Gouveia Peluzio, M. do C., Martinez, J. A., & Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00647-2>
- Dewi, R. S. (2019). Persepsi Masyarakat Mengenai Obat Tradisional di Kelurahan Simpang Baru Kecamatan

- Tampan Kota Pekanbaru. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(2), 75–79. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v8i2.782>
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Kumar, D. S. (2016). Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5(2), 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>
- Hemalatha, S., & Hari, R. (2015). Fertility enhancing effect of saponin rich butanol extracts of tribulus terrestris fruits in male albino rats. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(1), 36–43.
- Irfan, H. M., Khan, N. A. K., & Asmawi, M. Z. (2020). Moringa oleifera Lam. leaf extracts reverse metabolic syndrome in Sprague Dawley rats fed high-fructose high fat diet for 60-days. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 0(0), 1–7. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1762661>
- Jang, K. J., Ki Kim, H., Han, M. H., Oh, Y. N., Yoon, H. M., Chung, Y. H., Kim, G. Y., Hwang, H. J., Kim, B. W., & Choi, Y. H. (2013). CytoAnti-inflammatory effects of saponins derived from the roots of Platycodon grandiflorus in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 31(6), 1357–1366. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1330>
- Kalliolias, G. D., Ivashkiv, L. B., & Program, T. D. (2016). *TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies*. 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.169.TNF>
- Kumar, S., Agrawal, D., Sharma, K., & Swain, T. (2015). Association of Male Infertility to Metabolic Syndrome and Other Related Disorders. *Journal of Integrative Nephrology and Andrology*, 2(4), 107. <https://doi.org/10.4103/2225-1243.168524>
- Leisegang, K., Henkel, R., & Agarwal, A. (2019). Obesity and metabolic syndrome associated with systemic inflammation and the impact on the male reproductive system. *American Journal of Reproductive Immunology*, 82(5), 1–14. <https://doi.org/10.1111/aji.13178>
- Luetragoon, T., Sranujit, R. P., Noysang, C., Thongsri, Y., Potup, P., Suphrom, N., Nuengchamnon, N., & Usuwanthim, K. (2020). Bioactive compounds in moringa oleifera Lam. Leaves inhibit the pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide-induced human monocyte-derived macrophages. *Molecules*, 25(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules25010191>
- Marrelli, M., Conforti, F., Araniti, F., & Statti, G. A. (2016). Effects of saponins on lipid metabolism: A review of potential health benefits in the treatment of obesity. *Molecules*, 21(10), 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules21101404>
- Mbikay, M. (2012). Therapeutic potential of Moringa oleifera leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 3 MAR(March), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00024>
- Nigdelioglu Dolanbay, S., Kocanci, F. G., & Aslim, B. (2021). Neuroprotective effects of allocryptopine-rich alkaloid extracts against oxidative stress-induced neuronal damage. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 140(April), 111690. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111690>
- Pratiwi, R., Nantasenam, C., Ruankham, W., Suwanjang, W., Prachayasittikul, V., Prachayasittikul, S., & Phopin, K. (2021). Mechanisms and Neuroprotective Activities of Stigmasterol Against Oxidative Stress-Induced Neuronal Cell Death via Sirtuin Family. *Frontiers in Nutrition*, 8(May), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.648995>
- Saklayen, M. (2018). The epidemic of the metabolic syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(12), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., Gat, Y., & Kumar, A. (2021). Health effects, sources, utilization and safety of tannins: a critical review. *Toxin Reviews*, 40(4), 432–444. <https://doi.org/10.1080/15569543.2019.1662813>
- Ting, A. T., & Bertrand, M. J. M. (2016). More to Life than NF- κ B in TNFR1 Signaling. *Trends in Immunology*, 37(8), 535–545. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.06.002>

- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, *6*(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/antiox6040091>
- Vyas, N. Y., & Raval, M. A. (2016). Aphrodisiac and spermatogenic potential of alkaloidal fraction of *Hygrophila spinosa* T. Ander in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *194*, 947–953. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.080>
- Wu, Y., Zhong, L., Yu, Z., & Qi, J. (2019). Anti-neuroinflammatory effects of tannic acid against lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells via inhibition of NF- κ B activation. *Drug Development Research*, *80*(2), 262–268. <https://doi.org/10.1002/ddr.21490>
- Ye, R. J., Yang, J. M., Hai, D. M., Liu, N., Ma, L., Lan, X. B., Niu, J. G., Zheng, P., & Yu, J. Q. (2020). Interplay between male reproductive system dysfunction and the therapeutic effect of flavonoids. *Fitoterapia*, *147*, 104756. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104756>