

Penulis  
apt. Dwisari Dillasamola, M. Farm |  
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

# Infertilitas

Kumpulan Jurnal Penelitian Infertilitas



**Editor** : Hendra Kurniawan, S.Si., M.Si.,

**Desain Cover** :

**Penulis** : apt. Dwisari Dillasamola, M.Farm

**ISBN** :

**Penerbit** :

LPPM – Universitas Andalas

Gedung Rektorat Lantai 2 Kampus Unand Limau Manis

Kota Padang, Sumatera Barat, Indonesia

**Website** : [www.lppm.unand.ac.id](http://www.lppm.unand.ac.id)

Telp. : 0751-72645

Email : [lppm.unand@gmail.com](mailto:lppm.unand@gmail.com)

### **Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan buku “**Infertilitas: Kumpulan Jurnal Penelitian mengenai Infertilitas**”. Buku ini disusun agar dapat membantu para mahasiswa dalam mempelajari konsep-konsep infertilitas beserta mempermudah mempelajari materi system reproduksi dan kualitas sperma dan ovum terutama untuk pasangan suami istri yang sulit mendapatkan keturunan.

Penulis pun menyadari jika di dalam penyusunan buku ini mempunyai kekurangan, namun penulis meyakini sepenuhnya bahwa sekecil apapun buku ini tetap akan memberikan sebuah manfaat bagi pembaca.

Akhir kata untuk penyempurnaan buku ini, maka kritik dan saran dari pembaca sangatlah berguna untuk penulis kedepannya.

Padang, Desember 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>BAB I INFERTILITAS</b>	
1.1 Definisi.....	1
1.2 Klasifikasi Infertilitas.....	1
1.3 Epidemiologi.....	1
1.4 Faktor Penyebab.....	1
1.5 Pemeriksaan Dasar Fertilitas.....	2
<b>BAB II SISTEM REPRODUKSI MENCIT JANTAN</b>	
2.1 Sistem Reproduksi Mencit Jantan.....	4
2.2 Spermatogenesis.....	5
2.3 Spermatozoa dan Proses Pematangan di Epididimis .....	7
2.4 Analisis Semen.....	9
2.5 Regulasi Hormon pada Alat Reproduksi Pria .....	11
2.6 Radikal Bebas dan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS) .....	12
<b>BAB III SISTEM REPRODUKSI MENCIT BETINA</b>	
3.1 Siklus Reproduksi .....	15
3.2 Fertilisasi dan Kopulasi.....	15
3.3 Implantasi.....	16
3.4 Embriologi .....	16
3.5 Jumlah Anak yang Dilahirkan.....	17
<b>BAB IV METODE PENELITIAN INFERTILITAS</b>	
4.1 Metode Eksperimental dengan <i>Post Only Control Group</i> .....	18
4.2 Metode Uji Efek Teratogen.....	19

## **BAB V JURNAL PENELITIAN INFERTILITAS**

5.1	The effect of ethanol extract of beetroot (L.) on the number, morphology spermatozoa and testis weighin Male Mice ( <i>Mus Musculus</i> ) by exposure to heat.....	21
5.2	The Effect of Bluetooth of Smartphone against Radiation Teratogenicity in Mice Fetuses .....	26
5.3	Anti-Infertility Effects Test of Date Palm Fruit Extract ( <i>Phoenix dactylifera</i> L.) in Female Mice ( <i>Mus musculus</i> ) Compared with Propolis .....	30
5.4	Effect of Exposure for a Long Time by Mobile Phone Calls Radiation to The Fetal Mice .....	35
5.5	The Effect of Extract of Date Palm Fruit ( <i>Phoenix dactylifera</i> L.) on Fertility in Male Mice ( <i>Mus musculus</i> L.) .....	40
5.6	Evaluation of Propolis and Milk Administration on Caffein-Induced <i>Mus musculus</i> Fetus Skeletal .....	44
5.7	Uji Efek Teratogenik dari Yoghurt terhadap Fetus Mencit Putih ( <i>Mus musculus</i> ) .....	52
5.8	Pengaruh Pemberian Teh Hijau dan Propolis terhadap Jumlah dan Motilitas Spermatozoa serta Berat Testis Mencit Putih Jantan ( <i>Mus musculus</i> L ) yang Diinduksi Etanol .....	57
5.9	The Effect of Radiation Exposure from Smartphone to Fetus Mice.....	62
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>67</b>

# **BAB I**

## **INFERTILITAS**

### **1.1. Definisi**

Infertilitas adalah suatu keadaan dimana pasangan suami istri yang telah menikah satu tahun atau lebih dan telah melakukan hubungan seksual secara teratur dan adekuat tanpa menggunakan kontrasepsi tapi tidak memperoleh kehamilan.

### **1.2 Klasifikasi**

Secara garis besar infertilitas dapat di bagi dua yaitu:

1. Infertilitas primer, merupakan keadaan dimana istri belum hamil setelah satu tahun atau lebih melakukan hubungan seksual secara teratur dan adekuat tanpa kontrasepsi.
2. Infertilitas sekunder, merupakan keadaan dimana istri sebelumnya sudah hamil tetapi keguguran atau istri sebelumnya sudah hamil tetapi tidak hamil lagi setelah satu tahun atau lebih melakukan hubungan seksual secara teratur dan adekuat tanpa kontrasepsi.

### **1.3. Epidemiologi**

Menurut *World Health Organization* bahwa sekitar 50-80 juta pasangan infertil di dunia. Di dunia sekitar 2 juta pasangan infertil meningkat setiap tahunnya. Menurut *National Survey of Family Growth* bahwa pada tahun 1982 sampai tahun 1995 persentase wanita infertil mengalami peningkatan dari 8,4% menjadi 10,2%. Diperkirakan pada tahun 2025 kejadian infertil akan meningkat hingga 7,7 juta. Menurut Badan Pusat Statistik pada tahun 2012 bahwa persentase pasangan infertil di indonesia tahun 2011 adalah 15-25% dari pasangan yang ada dan jumlah ini akan meningkat setiap tahunnya.

### **1.4 Faktor Penyebab**

1. Faktor non-organik
  - i) Usia, usia istri sangat menentukan kehamilan. Dimana, adanya hubungan terbalik antara bertambahnya usia istri dengan penurunan kemungkinan untuk mengalami kehamilan.
  - ii) Frekuensi sanggama, kemungkinan terjadinya kehamilan ketika pasangan suami istri melakukan sanggama dengan frekuensi 2-3 kali dalam seminggu.

- iii) Pola hidup (alkohol, merokok, berat badan), pada perempuan, minum alkohol tidak ada hubungannya dengan peningkatan risiko kejadian infertil tetapi pada lelaki terdapat sebuah laporan bahwa minum alkohol dalam jumlah banyak dapat menurunkan kualitas sperma. Dari beberapa penelitian bahwa merokok dapat menurunkan fertilitas perempuan. Sehingga dianjurkan untuk menghentikan kebiasaan merokok. Perempuan dengan indeks massa tubuh  $>29 \text{ kg/m}^2$  atau tergolong obesitas terbukti mengalami keterlambatan kehamilan.

## 2. Faktor organik

- i. Masalah vagina, masalah vagina yang memiliki kaitan erat dengan peningkatan kejadian infertilitas adalah sebagai berikut: dispareunia, ditandai dengan rasa tidak nyaman atau rasa nyeri saat melakukan sanggama; vaginismus, ditandai dengan rasa nyeri saat penis akan melakukan penetrasi ke dalam vagina; vaginitis, infeksi kuman seperti *Klamidiatrakomatis*, *Nisemia gonore* dan bakterial vaginosis seringkali tidak menimbulkan gejala klinik sama sekali.
- ii. Masalah uterus, faktor uterus yang memiliki kaitan erat dengan kejadian infertilitas adalah serviks, kavumuteri dan korpusuteri.
- iii. Masalah tuba, tuba fallopii memiliki peran yang besar di dalam proses fertilitas, karena tuba berperan di dalam proses transpor sperma, kapasitas sperma proses fertilitas dan transpor embrio. Kelainan tuba yang seringkali dijumpai pada penderita infertilitas adalah sumbatan tuba baik pada pangkal, bagian tengah maupun ujung distal dari tuba.

## 1.5 Pemeriksaan Dasar Infertilitas

### 1. Anamnesis

Memperoleh data apakah pasangan suami istri atau salah satunya memiliki kebiasaan merokok atau minum, minuman beralkohol. Data tentang terapi khusus seperti hipertensi, kortikosteroid dan sitostatika. Siklus haid merupakan variabel yang sangat penting. Perlu dilakukan anamnesis terkait dengan frekuensi sanggama.

### 2. Pemeriksaan fisik

Pemeriksaan tinggi badan, penilaian berat badan, dan pengukuran lingkar pinggang. Penentuan indeks massa tubuh perlu dilakukan dengan menggunakan

formula berat badan (kg) dibagi dengan tinggi badan ( $m^2$ ). Perempuan dengan IMT  $>25 \text{ kg/m}^2$  termasuk kedalam kelompok kriteria berat badan lebih sedangkan IMT  $<19 \text{ kg/m}^2$  kriteria berat badan kurang. Adanya pertumbuhan rambut abnormal atau pertumbuhan jerawat yang banyak dan tidak normal pada perempuan seringkali terkait dengan kondisi hiperandrogenisme, baik klinis maupun biokimia.

### **3. Pemeriksaan penunjang**

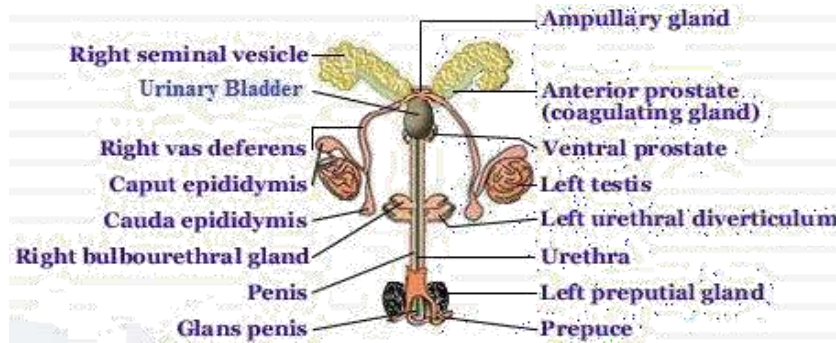
Penilaian kadar progesteron pada fase luteal media yang kurang lebih 7 hari sebelum perkiraan datangnya haid. Penilaian kadar progesteron pada fase luteal media menjadi tidak memiliki nilai diagnostik yang baik jika terdapat siklus haid yang tidak normal. pemeriksaan kadar TSH dan prolaktin hanya dilakukan jika terdapat indikasi berupa siklus yang tidak berevolusi, terdapat keuhangalatore atau kelainan kelenjar tiroid. Pemeriksaan kadar LH dan FSH dilakukan pada fase proliferasi awal (hari ke 3-5) terutama jika dipertimbangkan terdapat peningkatan LH atau FSH pada kasus sindrom ovarium polikistik (SOPK).



## BAB II SISTEM REPRODUKSI MENCIT JANTAN

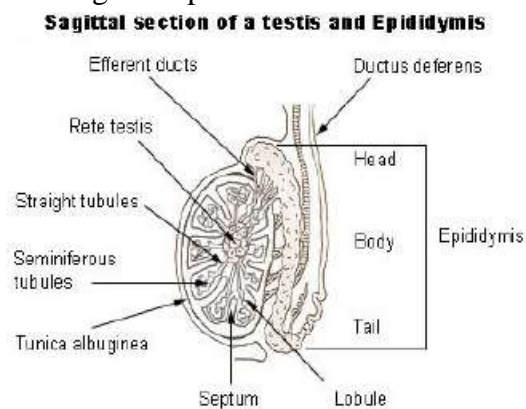
### 2.1 Sistem Reproduksi Mencit Jantan

Sistem reproduksi mencit jantan terdiri atas sepasang kalenjer kelamin (testis), saluran reproduksi dan kalenjer asesori serta organ kopulasi. Masing masing organ tersebut berjumlah sepasang, kecuali uretra dan penis. Testis merupakan suatu kalenjer endokrin, karena memproduksi testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig yang berpengaruh pada sifat-sifat jantan dan berperan dalam spermatogenesis.



Gambar 1. Sistem reproduksi mencit jantan

Testis mencit terdiri atas tubulus seminiferus dan jaringan stroma. Pada lapisan bagian dalam epitel tubulus seminiferus terdapat sel germinatif dan sel sertoli, sedangkan pada jaringan stroma terdapat pembuluh darah, limfe, sel saraf, sel makrofag dan sel Leydig. Sel Leydig berfungsi menghasilkan hormon testosteron yang dikontrol oleh hormon gonadotropin. Jika sekresi hormon gonadotropin mengalami hambatan maka sekresi testosteron akan mengalami penurunan.



Gambar 2. Testis mencit (*Mus musculus*)

Pada organ reproduksi jantan terdapat saluran reproduksi yang terdiri atas vas eferens, epididimis, vas deferens, duktus ejakulatorius dan uretra. Vas eferens merupakan saluran yang berkelok-kelok dan lumennya dibatasi oleh sekelompok sel epitel bersilia. Epididimis terdiri dari bagian kaput, korpus dan kauda yang berfungsi sebagai tempat maturasi sperma dan tempat penyimpanan sperma sementara. Epididimis pada bagian kaput berfungsi untuk penyerapan cairan yang dikeluarkan oleh testis dan memberikan sekresi cairan yang diproduksi oleh sel-sel epitelnya untuk membantu perubahan morfologi akrosom yaitu melalui kondensasi inti, pelepasan sitoplasma, peningkatan muatan negatif dan penambahan lapisan glikoprotein Menurut.

Spermatozoa yang berasal dari epididimis akan diteruskan menuju ke vas deferens. Lumen vas deferens tersusun atas sekelompok sel epitel kolumnar berlapis semu. Vas deferens dibungkus oleh lapisan otot longitudinal di bagianluar dan dalamnya, sedangkan lapisan otot sirkuler terletak diantara keduanya. Lanjutan vas deferens adalah duktus ejakulatorius. Duktus ejakulatorius memiliki otot-otot yang kuat dan berperan selama ejakulasi. Saluran ini akan bermuara pada uretra. Uretra tersusun atas sekelompok sel epitel transisional, jaringan ikat longgar, banyak terdapat pembuluh darah dan dibungkus lapisan otot lurik yang tebal.

Kelenjar seks asesori terdiri atas vesikula seminalis, kelenjar koagulasi, ampula, bulbouretra dan kelenjar preputialis. Fungsi kelenjar seksasesori secara umum adalah mengeluarkan sekret cairan berupa plasma semenyang berfungsi sebagai medium pelarut dan sebagai pengaktif sperma karena semen adalah substrat yang kaya akan natrium, kalium klorida, nitrogen, asamsitrat, asam askorbat, inositol, fruktosa, fosfatase dan sedikit. Penis sebagai organ kopulasi berfungsi untuk menyalurkan spermatozoa ke dalam saluran reproduksi betina. Penis terdiri dari bagian-bagian: korpus kavernosumpenis, korpuskavernosum uretra, preputialis.

## **2.2 Spermatogenesis**

Spermatogenesis adalah proses perkembangan spermatogonia menjadi spermatozoa yang matang atau menjadi sperma. Spermatogenesis pada manusia terjadi dari spermatogonia sampai menjadi spermatozoa memerlukan waktu sekitar 75 hari. Spermatogenesis merupakan proses dimana sel-sel benih primitif ( $2n$ ) dalam tubulus seminiferus testis diubah menjadi spermahaploid ( $n$ ). Proses ini dimulai selama masa

remaja, yaitu sekitar usia 13 tahun. Proses ini berlanjut sepanjang hidup, tetapi ada penurunan tajam pada usia tua.

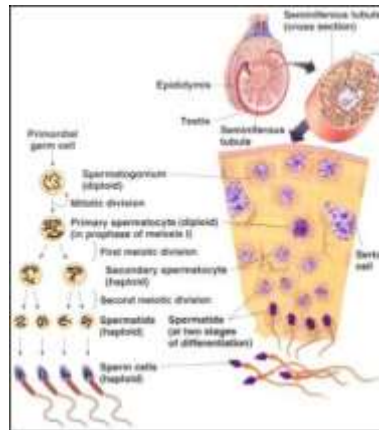
Tahapan spermatogenesis ada tiga, yaitu spermatositogenesis, meiosis dan spermiogenesis. Dalam spermatositogenesis, spermatogonia membelah dan menghasilkan sel spermatosit. Spermatogonia adalah sel kecil berdiameter 12 um. Pada masa pubertas sel-sel ini membelah dengan mitosis beberapa kali untuk menghasilkan sejumlah besar spermatogonia. Sel-sel ini mengalami diferensiasi untuk membentuk spermatosit primer dengan 46 kromosom. Setiap spermatogonium pertama-tama membelah menjadi dua spermatosit primer. Spermatosit primer kemudian mengalami meiosis untuk menghasilkan dua spermatosit sekunder yang haploid dan secara genetik berbeda setelah pembelahan meiosis kedua diperoleh empat spermatid haploid.

Spermatogenesis mencit berlangsung lebih kurang  $8,63 \pm 0,25$  hari untuk satu siklus epitel seminiferus. Spermatogenesis mencit berlangsung selama empat siklus epitel seminiferus, sehingga keseluruhan proses spermatogenesis membutuhkan waktu lebih kurang 35,5 hari. Waktu tersebut terdiri atas 8 hari untuk perubahan sel spermatogonia A menjadi spermatosit primer; 12,5 hari untuk perubahan meiosis spermatosit primer dan sekunder; 9,5 hari untuk fase spermatid, dan 5,5 hari untuk fase pematangan.

Proses spermatogenesis mencit pada dasarnya sama seperti mamalia lainnya. Berawal dari adanya sel stem atau sel induk yang berada pada lapisan luar tubulus seminiferus yang kemudian akan berdiferensiasi menjadi sel-sel immatur yang disebut spermatogonia. Spermatogonia merupakan sel epitel germinal pada tubulus seminiferus dan merupakan diploid sel (dengan 46 kromosom). Spermatogonia terus menerus berproliferasi menjadi spermatosit primer melalui proses pembelahan mitosis (46 kromosom). Spermatosit primer merupakan sel sperma yang matur dan berpindah ke bagian luar tubulus seminiferus atas peran dari sel sertoli. Sel sertoli berperan dalam mensupport central channel tubulus.

Proses spermatogenesis tergantung pada lingkungan, hormon dan temperatur. Kontrol hormonal terhadap spermatogenesis terjadi melalui mekanisme interaksi hipotalamus, kelenjar pituitary dan sel leydig. Hipotalamus menstimulasi kelenjar pituitary untuk menghasilkan *folikel stimulating hormone*(FSH) dan kelenjar leydig menghasilkan hormon testosteron. Folikel *stimulating* hormon menstimulasi produksi *androgen binding protein* atau pengikat androgen oleh sel sertoli untuk menjaga kadar

testosteron yang sangat penting dalam mempertahankan spermatogenesis. Epitel seminiferus sangat sensitif terhadap suhu lingkungan yang akan berpengaruh terhadap spermatogenesis. Untuk berlangsungnya spermatogenesis diperlukan suhu tubuh yang normal atau  $2^{\circ}\text{C}$  di atas normal sampai kurang dari  $8^{\circ}\text{C}$  di bawah normal. Faktor lain yang dapat menghambat spermatogenesis adalah diet rendah vitamin B dan E, pengaruh anabolik steroid, digoksin, alkohol, penyakit infeksi, serta terpapar radio aktif.



Gambar 3. Spermatogenesis

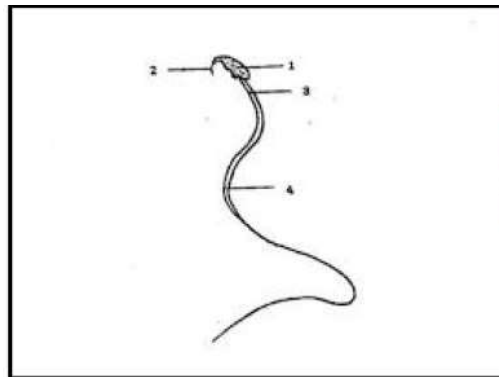
## 2.3 Spermatozoa dan Proses Pematangan di Epididimis

### a. Spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel tunggal padat yang tidak dapat tumbuh dan membelah, yang terdiri dari bagian kepala, leher, dan ekor. Spermatozoa dihasilkan dari testis melalui proses spermatogenesis. Spermatozoa merupakan sel yang ukurannya lebih kecil dibandingkan dengan ovum. Spermatozoa yang matang mempunyai panjang sekitar 55-65  $\mu\text{m}$ . Spermatozoa terdiri dari bagian-bagian yang seluruhnya dibungkus oleh sitoplasmanya. Spermatozoa memiliki panjang 3-4 mikrometer. Tampak depan bentuknya oval. Terdiri dari inti (nukleus) dan ujung akhir memiliki topi yang dikenal sebagai akrosom.

Pembentukan sperma diawali ketika spermatid pertama kali terbentuk, mereka masih memiliki karakteristik sel epiteloid yang biasa, tetapi tidak lama kemudian spermatid mulai berdiferensiasi dan berubah menjadi spermatozoa. Setiap spermatozoon terdiri dari kepala dan ekor. Kepala terdiri dari inti sel yang terkondensasi dengan hanya lapisan sitoplasma

dan membran sel tipis di sekitar permukaannya. Di bagian luar anterior dua pertiga dari kepala adalah topi tebal yang disebut akrosom yang terbentuk terutama dari badan golgi, yang berisi sejumlah enzim yang mirip dengan enzim yang ditemukan dalam lisosom dari sel tipikal, termasuk hyaluronidase (yang dapat mencerna filamen jaringan organik) dan enzim proteolitik yang kuat (yang dapat mencerna protein). Enzim ini berperan penting dalam memungkinkan sperma masuk ke dalam sel telur.



Keterangan :

1. Kepala (*caput*)
2. Akrosom
3. Bagian tengah (*middle piece*)
4. Ekor (*cauda*)

Gambar 4. Spermatozoa mencit

Pada mencit, panjang keseluruhan spermatozoa kurang lebih 1,225  $\mu\text{m}$  dengan bagian kepala berbentuk kait. Spermatozoa bergerak dari tubulus seminiferus menuju epididimis dan bertahan sekitar tiga minggu hingga sampai spermatozoa matang. Selanjutnya spermatozoa memasuki saluran vas deferens hingga ujung saluran dan bercampur dengan sekret vesika seminalis, kelenjar prostat, dan kelenjar cowper. Sebaiknya pengumpulan spermatozoa mencit dilakukan dengan menggunakan alat seperti elektroejakulator sehingga volume spermatozoa yang dikeluarkan dalam satu kali ejakulasi dapat terukur secara kuantitatif. Sehingga akan dihasilkan jumlah spermatozoa yang lebih banyak dibandingkan dengan metode laparotomi.

#### **b. Proses Pematangan di Epididimis**

Setelah pembentukan dalam tubulus seminiferus, sperma memerlukan beberapa hari untuk melewati tubulus epididimis sepanjang 6 meter. Sperma diangkat dari tubulus seminiferus dan dari bagian awal epididimis. Namun, setelah berada di epididimis selama 18 hingga 24 jam, sperma mengembangkan kemampuan motilitas, meskipun beberapa protein penghambat dalam cairan epididimis masih mencegah motilitas akhir sampai

setelah ejakulasi.

Spermatozoa mengalami pematangan di epididimis baik secara morfologi, fisiologi, biokimia, maupun metabolisme. Perubahan fisiologi antara lain pematangan kemampuan spermatozoa dalam memfertilisasi sel telur. Pematangan tersebut ditandai dengan perubahan bentuk permukaan akrosom dan kapasitas motilitas progresif. Sementara itu, perubahan biokimia yaitu sel principal Epididimis menyekresikan lipid dalam fosfolipid yang diperlukan untuk proses pematangan spermatozoa.

Pergerakan spermatozoa untuk mencapai sel telur terjadi karena adanya feromon. Secara bahasa, feromon berasal dari kata phero (pembawa) dan mone (sensasi). Feromon adalah suatu zat kimia yang berasal dari kelenjer endokrin makhluk hidup untuk mengenali individu lain diluar dirinya. Feromon tidak bisa dilihat dengan mata, tidak bisa diraba dan mudah menguap. Ketika terhirup feromon akan diteruskan ke hipotalamus (bagian otak yang mengatur emosi). Pada binatang feromon merupakan faktor utama yang menimbulkan daya tarik antara binatang jantan dan betina. Ketika binatang betina mengeluarkan feromon, binatang jantan akan menangkap sinyal tersebut dan akan mencari sumber feromon kemudian melakukan perkawinan.

## **2.4 Analisis Semen**

Semen berasal dari vas deferens, merupakan cairan yang terakhir diejakulasi. Semen berfungsi mendorong sperma keluar dari duktus ejakulatori dan uretra, cairan dari vesikula seminalis membuat semen lebih kental. Enzim pembeku dari cairan prostat menyebabkan fibrinogen dari cairan vesikula seminalis membentuk koagulum yang lemah. Walaupun sperma dapat hidup beberapa minggu dalam duktus genitalia pria, setelah sperma diejakulasi kedalam semen jangka hidup maksimal sperma hanya 24-48 jam. Volume semen dan hitung spermatozoa menurun cepat bila ejakulasi berulang. Walaupun hanya diperlukan satu spermatozoa untuk membuahi ovum, setiap mililiter semen secara normal mengandung 100 juta spermatozoa. Prostaglandin dalam semen yang sebenarnya datang dari vesikula seminalis, berkadar tinggi, tetapi fungsi turunan asam lemak ini dalam semen tidak diketahui.

Analisis semen adalah langkah awal dalam mengevaluasi infertilitas pria. *World Health Organization* (WHO) telah menetapkan bahwa analisis semen digunakan sebagai

standar pemeriksaan kualitas semen seorang pria. Analisis semen terdiri atas pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik antara lain pemeriksaan warna, pengukuran volume, dan pengukuran pH. Pemeriksaan mikroskopik antara lain penghitungan konsentrasi, persentase abnormalitas, persentase motilitas, dan viabilitas spermatozoa.

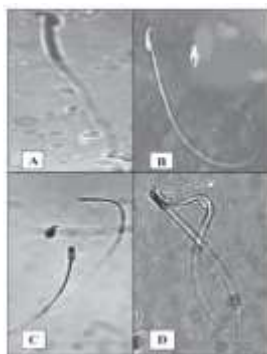
#### **a. Motilitas Spermatozoa**

Motilitas spermatozoa adalah kualitas gerak spermatozoa yang meliputi tipe pergerakan spermatozoa dan kecepatan gerak spermatozoa. Penilaian motilitas dilakukan dengan menghitung spermatozoa yang termasuk kategori motil yaitu jika spermatozoa bergerak cepat lurus ke depan, bergerak lambat atau tidak lurus, dan bergerak di tempat. Hasil penilaian tersebut dinyatakan dalam persentase yang menunjukkan jumlah spermatozoa motil. Seorang pria termasuk infertil apabila memiliki persentase motilitas spermatozoa kurang dari 40% atau yang disebut dengan astenozoospermia.

Gerakan maju-mundur ekor (gerakan flagella) memberikan motilitas sperma. Gerakan ini disebabkan oleh gerakan meluncur longitudinal secara ritmis di antara tubulus posterior dan anterior yang membentuk aksonema. Sperma yang normal bergerak dalam medium cair dengan kecepatan 1 sampai 4 mm/menit. Proses selanjutnya setelah pembentukan sperma adalah pematangan sperma di epididimis. Setelah terbentuk di tubulus seminiferus, sperma membutuhkan waktu beberapa hari untuk melewati tubulus epididimis yang panjangnya 6 meter. Sperma yang bergerak dari tubulus seminiferus dan dari bagian awal epididimis adalah sperma yang belum motil, dan tidak dapat membuahi ovum. Akan tetapi, setelah sperma berada dalam epididimis selama 18-24 jam, sperma akan memiliki kemampuan motilitas.

#### **b. Morfologi Spermatozoa**

Penyimpangan dari spermatozoa normal dianggap sebagai abnormalitas. Abnormalitas dapat berupa abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi pada spermatogenesis, antara lain kepala besar, kepala kecil, kepala rangkap, ekor rangkap, dan ekor menggulung. Abnormalitas sekunder terjadi pada proses pematangan di epididimis. Spermatozoa dianggap fertil apabila memiliki spermatozoa abnormal dibawah 40%. Morfologi spermatozoa normal yang kurang dari 50% disebut teratozoospermia.



Gambar 5. Sperma normal dan abnormal mencit

### c. Konsentrasi Spermatozoa

Semen seorang pria dianggap normal apabila konsentrasi spermatozoa lebih dari 20 juta per ml. Seorang pria dianggap infertil apabila konsentrasi spermatozoa kurang dari 20 juta per ml atau disebut oligozoospermia. Jumlah normal spermatozoa pada mencit yaitu sebesar  $\pm 50$  juta/ml.

## 2.5 Regulasi Hormon pada Alat Reproduksi Pria

Hormon seks utama pada pria adalah androgen. Jenis hormon androgen yang terpenting adalah testosteron. Hormon androgen diproduksi oleh sel-sel interstisial dari testis. Hormon ini bertanggung jawab terhadap perkembangan sifat-sifat gender primer dan sekunder pria. Sifat gender primer berkaitan dengan perkembangan sistem reproduksi pria dan produksi spermatozoa. Sifat gender sekunder berkenaan dengan ciri "kejantanan" yang tidak terkait langsung dengan sistem pembayaran, seperti suara, jakun, kumis, janggut dan lain-lain. Androgen menentukan pula tingkah laku pria, tingkah laku seksi, dan libido seksis.

Hipofisis, setelah distimulasi oleh hipotalamus, menghasilkan dua jenis hormon gonadotropin yaitu LH dan FSH, yang memberikan efek berbeda terhadap testis. Hormon LH (hormon luteinizing), yang dihasilkan oleh lobus anterior hipofisis, menstimulasi sel-sel interstisial dari testis untuk memproduksi androgen. Hormon FSH (follicle-stimulating hormone), juga diproduksi oleh lobus anterior hipofisis, menginduksi tubuli seminiferi untuk meningkatkan produksi spermatozoa. Berhubungan hormon androgen juga diperlukan untuk produksi spermatozoa, maka hormon LH secara tidak langsung menstimulasi proses spermatogenesis. Produksi hormon LH dan FSH dikontrol oleh satu



jenis hormon yang dihasilkan oleh hipotalamus, yaitu hormon GnRH (hormon pelepas gonadotropin). Konsentrasi LH, FSH, dan GNRH diatur oleh hormon androgen.

Pelepasan *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) oleh hipotalamus merangsang kalenjer hipofisis anterior untuk menyekresi LH dan FSH. LH merupakan rangsangan utama untuk sekresi testosteron oleh testis dan FSH memberikan spermatogenesis. Pengaruh GnRH meningkatkan sekresi LH dan FSH. Hipotalamus melepaskan GnRH, diangkut ke pelepasan hipotalamus anterior dalam rangsang pelepasan LH dan FSH darah portal. Hormon perangsangan ini ditentukan oleh frekuensi dari siklus sekresi dan jumlah GnRH yang dilepaskan setiap siklus. Sekresi LH diambil pelepasan GnRH dan sekresi FSH berubah lebih lambat sebagai respons perubahan jangka panjang GnRH. Hormon gonadotropin disekresi oleh sel-sel yang sama dalam hipofisis anterior.

Hormon estrogen dibentuk dari testosteron dan dirangsang oleh hormon perangsang folikel yang diperlukan spermatogenesis menyekresi protein pengikat endogen untuk mengikat testosteron dan estrogen juga membawa keduanya ke dalam cairan lumen tubulus seminiferus untuk pematangan sperma. Hormon pertumbuhan diperlukan untuk mengatur latar belakang fungsi metabolisme testis. Secara khusus meningkatkan pembesaran spermatogenesis. Jika tidak ada hormon pertumbuhan spermatogenesis sangat berkurang atau tidak ada sama sekali. Hormon testosteron dihasilkan oleh sel intersisial Leydig yang terletak di antara tubulus seminiferus. Sel ini sedikit pada bayi dan anak, namun banyak pada pria dewasa. Setelah pubertas, sel intersisial banyak menghasilkan hormon testosteron setelah disekresi testis. Sebagian besar testosteron dikeluarkan dengan protein plasma yang dikeluarkan dalam darah. Hormon testosteron sangat penting untuk pertumbuhan dan pembelahan sel germinal testis, yang merupakan tahap pertama dalam pembentukan sperma.

## 2.6 Radikal Bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS)

### a. Radikal Bebas

Istilah radikal bebas (biasanya disingkat radikal) umumnya digunakan dalam bidang kimia yang menunjuk kelompok atom-atom yang merupakan suatu unit, misalnya radikal karbonat ( $\text{CO}_3^*$ ), radikal nitrat ( $\text{NO}_3^*$ ), dan radikal metil ( $\text{CH}_3^*$ ). Lebih spesifik, radikal bebas didefinisikan sebagai setiap spesies yang didukung oleh satu atau lebih elektron yang

tidak berpasangan, yaitu elektron yang tersedia dalam orbital. Lambang dot radikal (\*) digunakan untuk mewakili keberadaan satu atau lebih elektron tak berpasangan.

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri. Kebanyakan radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum menyatu dengan atom lain.

#### **b. Reactive Oxygen Species (ROS)**

Senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif disebut sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok non radikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion hydroxyl radicals*, dan *peroxyl radicals* (RO<sub>2</sub>). Yang non radikal misalnya *hidrogen peroxide* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dan *organic peroxide* (ROOH). ROS dapat dihasilkan dari sumber eksogen dan endogen yang dapat menyebabkan kerusakan pada molekul yang berbeda dan bagian dari spermatozoa, sel yang sangat terpolarisasi.

Spesies oksigen reaktif (ROS) atau 'radikal bebas' adalah molekul turunan oksigen yang sangat reaktif yang memiliki elektron yang tidak berpasangan di orbital valensi luarnya. ROS termasuk radikal berpusat oksigen (radikal hidroksil, radikal oksida nitrat, dan radikal anion superoksida) dan turunan non-radikal (hidrogen peroksida, anion peroksinitrit, dan asam hipoklorit). ROS memainkan peran penting dalam pensinyalan sel dan homeostasis. ROS diproduksi oleh sel sperma dalam jumlah kecil dengan efek fungsional yang menguntungkan termasuk inisiasi kapasitasi sperma, regulasi pematangan sperma, dan peningkatan jalur pensinyalan seluler. Namun, kadar ROS yang tinggi mungkin memiliki efek paradoks pada fungsi sperma, yang pada akhirnya menyebabkan infertilitas.

#### **c. Sistem Pertahanan Antioksidan dan Stress Oksidatif**

Dalam jumlah yang normal, radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah putih yang menghasilkan (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun ia tidak

menyerang saran spesifik, sehingga ia juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, sehingga dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel. Tubuh memiliki mekanisme perlindungan yang menetralkan radikal bebas yang terbentuk, antara lain dengan enzim superoksidadismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathioneperoxidase (GPX).

Selain itu terdapat juga sistem pertahanan atau antioksidan yang berupa mikronutrien yaitu  $\beta$ -karoten, vitamin C dan vitamin E . Sistem pertahanan ini bekerja dengan beberapa cara antara lain berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan, atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan senyawa oksigen reaktif, atau mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif. Namun dalam keadaan tertentu, produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif melebihi sistem pertahanan tubuh, kondisi yang disebut *stress oksidatif*.

Kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dibandingkan dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh disebut sebagai stres oksidatif. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dan dapat mengoksidasi molekul di sekitarnya yang meliputi lipid, karbohidrat, asam amino, protein dan DNA, diikuti dengan kerusakan selular dan jaringan.

Stress oksidatif merupakan salah satu penyebab utama infertilitas pada tingkat molekuler. Stress oksidatif adalah suatu kondisi di mana kadar radikal bebas sangat tinggi dan membanjiri mekanisme pertahanan antioksidan. Dalam kasus seperti itu, kadar radikal bebas yang tinggi merusak semua molekul bioseperti lipid, karbohidrat, protein dan DNA mitokondria dan nuklir. Kerusakan yang dimediasi oleh Supraphysiological *Reactive Oxygen Species* (ROS) ditemukan pada 30-80% pria tidak subur. Stress oksidatif juga terlibat dalam patogenesis banyak penyakit lain seperti aterosklerosis, kanker, diabetes, kerusakan hati, rheumatoid arthritis, katarak, AIDS, Inflammatory Bowel Disease (IBD), Gangguan Sistem Saraf Pusat (SSP), penyakit Parkinson, penyakit neuron motorik dan kelahiran prematur.

## **BAB III**

### **SISTEM REPRODUKSI MENCIT BETINA**

#### **3.1 Siklus Reproduksi**

Siklus reproduksi disebut siklus estrus. Estrus atau birahi adalah suatu periode secara psikologis dan fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi dan siklus estrus ini hanya dilakukan oleh mamalia bukan primata yang tidak menstruasi. Siklus estrus adalah periode awal estrus sampai ke periode estrus berikutnya. Siklus estrus merupakan aktivitas antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium.

Berikut adalah fase estrus selama masa estrus sebagai berikut:

1. Metestrus, pada fase ini dijumpai sedikit leukosit pada sediaan hapus vagina. Periode ini berlangsung lebih kurang 1 hari.
2. Diestrus, pada fase ini dijumpai satu atau dua sel leukosit pada sediaan hapus vagina. Periode ini berlangsung lebih kurang 1 hari.
3. Proestrus, pada fase ini dijumpai banyak leukosit pada sediaan hapus vagina. Periode ini berlangsung lebih kurang 1 hari.
4. Estrus, fase ini tidak dijumpai leukosit pada sediaan hapus vagina. Pada fase ini mencit mau melakukan perkawinan. Periode ini berlangsung lebih kurang 1 hari.

Mencit termasuk hewan poliestrus artinya, dalam satu tahun mengalami siklus estrus berulang. Selama siklus estrus ini terjadi berbagai perubahan pada organ reproduksi maupun pada perubahan tingkah laku seksual. Siklus estrus dapat dipengaruhi oleh faktor cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial. Penentuan siklus estrus ini dapat diperiksa melalui hapusan vagina atau secara visualisasi.

#### **3.2 Fertilisasi dan Kopulasi**

Fertilisasi adalah proses penyatuan atau peleburan antara gamet jantan dengan gamet betina sehingga membentuk zigot. Fertilisasi pada mencit akan terjadi 7-10 jam sesudah kopulasi. Setelah itu embrio akan mencapai stadium blastula dalam waktu 3-5 hari. Mencit termasuk hewan yang hanya melakukan kopulasi pada malam hari. Mencit betina akan mulai birahi pada pukul 16.00-22.00. Ketika terjadi kopulasi maka sperma akan bergerak menuju tempat pembuahan. Pada mencit terjadinya kopulasi ditandai dengan adanya

sumbat vagina pada liang vagina. Sumbat vagina merupakan air mani yang menggumpal yang berasal dari sekret kelenjar prostat mencit jantan dan akan teramati selama 16 sampai 48 jam serta tidak mudah jatuh. Pergerakan sperma menuju tempat pembuahan dibantu oleh adanya gerakan peristaltik saluran kelamin dan silia dari uterus dan oviduk. Tempat pembuahan terjadi di oviduk bagian ampula.

### 3.3 Implantasi

Implantasi adalah proses tertanamnya embrio pada tahap blastosis akhir di dalam endometrium uterus. Implantasi ini dimulai dengan menempelnya trofoblas yang menutupi *innercellmass*. Tempat blastosis biasanya di antara dua kelenjar rahim. Implantasi embrio terjadi pada endometrium uterus non-glandular yang disebut crypta. Blastosis tidak langsung menempel pada endometrium tetapi bebas mengapung. Blastosis yang mengapung mendapatkan nutrisi dari kelenjar uterus yang disebut susu uterus. Waktu yang diperlukan blastosis untuk menjadi embrio yang terimplantasi pada endometrium adalah 5 hari. Waktu kehamilan saat terjadinya implantasi berbeda-beda pada berbagai hewan. Pada mencit implantasi terjadi pada hari kehamilan ke-4 sampai kehamilan ke-6. Lama kehamilan pada mencit ada sekitar 19-20 hari.

### 3.4 Embriologi

Setelah pembuahan, sel telur mengalami proliferasi sel, diferensiasi sel, migrasi sel, organogenesis. Embrio kemudian melewati suatu metamorfosis dan periode perkembangan fetus sebelum lahir.

Periode perkembangan fetus antara lain:

#### 1) Tahap pradiferensi/blastula

Tahap ini dimulai setelah ovulasi dan dilanjutkan dengan perkembangan membran zigot primitif di uterus. Selama tahap ini, embrio tidak rentan terhadap senyawa teratogen. Zat ini dapat menyebabkan kematian embrio akibat matinya sebagian besar sel embrio, atau tidak menimbulkan efek yang nyata. Bahkan bila terjadi efek yang agak berbahaya sel yang masih hidup akan menggantikan kerusakan tersebut dan membentuk embrio baru. Lamanya tahap ini berkisar antara 5-9 hari, tergantung dari jenis spesiesnya

2) Tahap organogenesis/embrio

Tahap pembentukan organ-organ dan sistem tubuh serta perubahan bentuk tubuh yang terjadi pada hari kehamilan ke-6 sampai kehamilan hari ke-16. Pada periode ini sel secara intensif mengalami diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi. Selama periode inilah sebagian besar organogenesis terjadi. sehingga fetus sangat rentan terhadap senyawa teratogen. Periode ini biasanya berakhir setelah beberapa waktu yaitu pada hari ke-10 sampai hari ke-14 pada hewan pengerat dan pada minggu ke-14 pada manusia. Selain itu tidak semua organ rentan pada saat yang sama dalam suatu kehamilan.

3) Tahap fetus/janin

Tahap terjadinya perkembangan dan pematangan fungsi jaringan, organ dan sistem yang tumbuh. Sehingga selama tahap ini, senyawa teratogen tidak akan menyebabkan cacat morfologi, tetapi dapat mengakibatkan kelainan fungsi. Seperti gangguan sistem saraf pusat, mungkin tidak dapat didiagnosis segera setelah kelahiran.

### **3.5 Jumlah Anak yang Dilahirkan**

Jumlah anak yang dilahirkan adalah jumlah total anak yang hidup dan mati pada waktu dilahirkan. Jumlah mencit berkisar antara 6-15 ekor per kelahiran. Berat badan anak mencit umumnya berkisar antara 0,5-1,5 g/ekor atau berkisar antara 1-1,5 g/ekor. Berat ringannya berat badan anak mencit akan mengganggu tumbuh kembang anak. Banyaknya jumlah anak yang dilahirkan oleh induk mencit dipengaruhi oleh umur mencit, musim kelahiran, nutrisi dan kondisi lingkungan, jumlah sel telur yang dihasilkan serta tingkat kematian embrio yang sangat berpengaruh terhadap jumlah anak yang dilahirkan. Morfologi tubuh saat anak mencit lahir adalah tidak berambut, buta, kaki yang belum berkembang, ekor yang pendek serta lubang telinga yang masih tertutup.

## **BAB IV METODE PENELITIAN INFERTILITAS**

### **4.1 Metode Eksperimental dengan Post Only Control Group**

#### **Pengambilan Spermatozoa Mencit**

Pemeriksaan kualitas spermatozoa dilakukan pada hari ke-36 perlakuan, mencit dikorbankan dengan cara anestesi dengan eter, kemudian dilakukan laparotomi pada bagian abdomen ventral. Lakukan pemotongan terhadap duktus deferens. Pengambilan spermatozoa dilakukan dengan pemijatan kedua duktus deferens yang telah dipotong dengan pinset, kemudian hasilnya ditampung didalam gelas arloji dan NaCl 0.9% 0,5 ml.

#### **Pengamatan Kualitas Spermatozoa Mencit**

##### **a. Pemeriksaan Jumlah Spermatozoa**

1. Buat terlebih dahulu sediaan stoke/sperma (larutan NaCL 0.9% 0,5 ml + spermatozoa) ditampung dengan gelas arloji.
2. Isi tabung reaksi dengan sediaan stoke 10 mikro ditambah dengan 90 mikro larutan George.
3. Teteskan diatas kamar hitung *Haemasitometer Improved Neubauer* yang telah ditutup dengan cover glass sebanyak 5 mikro.
4. Hitung jumlah spermatozoa dalam kamar hitung dibawah mikroskop
5. Perhitungan dilakukan dibawah mikroskop optilab. Spermatozoa yang beada pada 25 kotak kecil yang digunakan untuk penghitungan sel darah merah dijumlahkan, kemudian dibagi dengan faktor koreksi hemasitometer. Hasil pembagian tersebut merupakan jumlah spermatozoa total dalam juta/ml per ejakulat.

##### **b. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa**

1. Buat sediaan stoke/sperma (larutan NaCL 0.9% 0,5 ml + Spermatozoa) ditampung dalam gelas arloji.
2. Isi tabung reaksi dengan sediaan stoke 10 mikro dan 90 mikro larutan NaCl 0,9%
3. Hitung motilitas spermatozoa dalam kamar hitung dibawah mikroskop. Perhitungkan kemudian dilakukan dengan mikroskop optilab.

4. Cara perhitungan motilitas spermatozoa dengan metode WHO pada tahun 1988. Motilitas spermatozoa dapat yang bergerak dapat dihitung dari jumlah spermatozoa yang bergerak dari 100 spermatozoa yang didapatkan dari hasil pengamatan. Dengan kategori: jumlah spermatozoa yang bergerak lurus ke depan (A), jumlah spermatozoa yang tidak lurus atau bergerak lambat (B), jumlah spermatozoa yang bergerak ditempat (C), dan jumlah spermatozoa yang tidak bergerak (D).

**c. Pemeriksaan Morfologi Normal Spermatozoa**

1. Teteskan satu tetes sediaan stoke (sperma) diatas kaca objek
2. Dorong dengan kaca objek yang lain dengan posisi 45 derajat dari arah belakang ke depan.
3. Fiksasi dengan metanol, lalu keringkan.
4. Lalu teteskan larutan Giemsa, keringkan sekitar 20 menit kemudian cuci dengan air, keringkan.
5. Kemudian lakukan penghitungan dibawah mikroskop secara zigzag dengan pengamatan 10 lapangan pandang.
6. Hitung jumlah spermatozoa normal dan abnormal

## **4.2 Metode Uji Efek Teratogen**

Metode uji efek teratogen yang dapat dilakukan yaitu metode in vitro dan in vivo

**1. Metode in vitro**

Pada metoda in vitro yang biasa digunakan adalah pada embrio ayam. Metode ini sangat sederhana, yaitu hanya dengan menyuntikkan senyawa kimia ke dalam yolk sac telur yang telah diinkubasi selama empat hari. Selain pada embrio ayam, juga sering dipakai blastosis kelinci, yaitu dengan cara menyuntikkan senyawa yang diduga bersifat teratogen ke dalam blastosis. Namun, keduanya sama-sama tidak bisa mencerminkan kejadian yang sebenarnya terjadi pada manusia. Keduanya tidak melibatkan metabolisme obat atau senyawa. Senyawa yang diuji, apabila bersifat teratogenik hanya berupa senyawa induk dan tidak berupa hasil metabolit seperti yang terjadi pada manusia ataupun hewan uji mamalia.



## 2. Metode in vivo

Metode in vivo pada umumnya menggunakan hewan mamalia. Metode ini lebih dapat diterima, karena senyawa yang masuk ke dalam fetus berupa hasil metabolit, atau juga senyawa induk yang sesuai dengan sifat kinetika senyawa tersebut dalam tubuh hewan uji.

Adapun hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan pengujian teratogenik antara lain:

### 1. Rute pemberian senyawa

Senyawa uji harus diberikan dengan rute yang sama dengan manusia. Jadi, apabila senyawa uji adalah senyawa yang diperuntukkan untuk pemberian oral, maka cara demikian juga dilakukan pada hewan uji.

### 2. Lama pemberian

Pemberian senyawa uji dapat dilakukan selama masa organogenesis, yaitu waktu berlangsungnya pembentukan organ, yang berbeda tiap spesies mamalia.

### 3. Dosis

Pada prinsipnya yaitu pemberian dosis pada pengujian teratogenik adalah tidak toksik terhadap induk dan toksik terhadap fetus. Toksik pada fetus meliputi dapat menyebabkan kematian intra uterus, teratogenesis atau penghambatan pertumbuhan.

**BAB V**  
**JURNAL PENELITIAN INFERTILITAS**

**5.1 The effect of ethanol extract of beetroot (L.) on the number, morphology spermatozoa and testis weighin Male Mice (Mus Musculus) by exposure to heat**

Dillasamola D., Helmi A. and Dhila S. M.

*Der Pharmacia Lettre*, 2016, 8 (19):380-387

Abstract

This research aimed to know the influence of ethanol extract of beetroot (L.) on the number, morphology spermatozoa and testis weighin male mice (*Mus musculus*) by exposure to heat. This research was conducted by using Post Test Only Control Group Design. Data was statistically analyzed by using onewayANOVA followed by Duncan Post Hoc Test ( $P < 0.05$ ). The study used 30 male mice aged 2-3 months, weight 20-35 g and were randomly divided into 5 groups with 6 mice each groups. Group K- (negative control) were given distilled water, Group K+ (positive control) is exposed to temperatures of 40 ° C for 60 minutes/day, third group (P1) is exposed to temperatures of 40 ° C for 60 minutes/day and a solution of tuber extract bits dose of 100 mg / kgBB / day, fourth group (P2) is exposed to temperatures of 40 ° C for 60 minutes/day and a solution of tuber extract bits dose of 200 mg / kgBB / day, fifth group (P3) is exposed to temperatures of 40 ° C for 60 minutes/day and a solution of tuber extract bits dose of 400 mg / kgBB / day. This research lasted for 36 days, at 37 th day all mice were terminated, then the sperm count, morphology spermatozoa and testis weigh was done. The results showed significant differences in the number, morphology of spermatozoa and testis weight between groups ( $P < 0.05$ ). But Duncan's test based on the number and morphology did not show any significant difference. Where the ethanol extract of root beet (*Beta vulgaris* L.) with a dose of 100 mg / kgBB / day, 200 mg / kgBB / day and 400 mg / kgBB/day can not fix and increase the amount of morphologically normal spermatozoa in mice induced heat for 60 minutes. And testis weight at a dose of 200 mg / kgBB / day and 400 mg / kgBB / day showed a significant difference where the results showed that the ethanol extract of the tuber bit heavy testes capable of repairing damaged by exposure to heat.

Result and Discussion

**Table I. Results of examination of the number of spermatozoa**

Group	Mean	SD	P
K (-)	39.75	6.626	0.010
K(+)	27.383	4.135	
P1	30.667	5.870	
P2	31.1	5.0015	
P3	32.55	5.538	

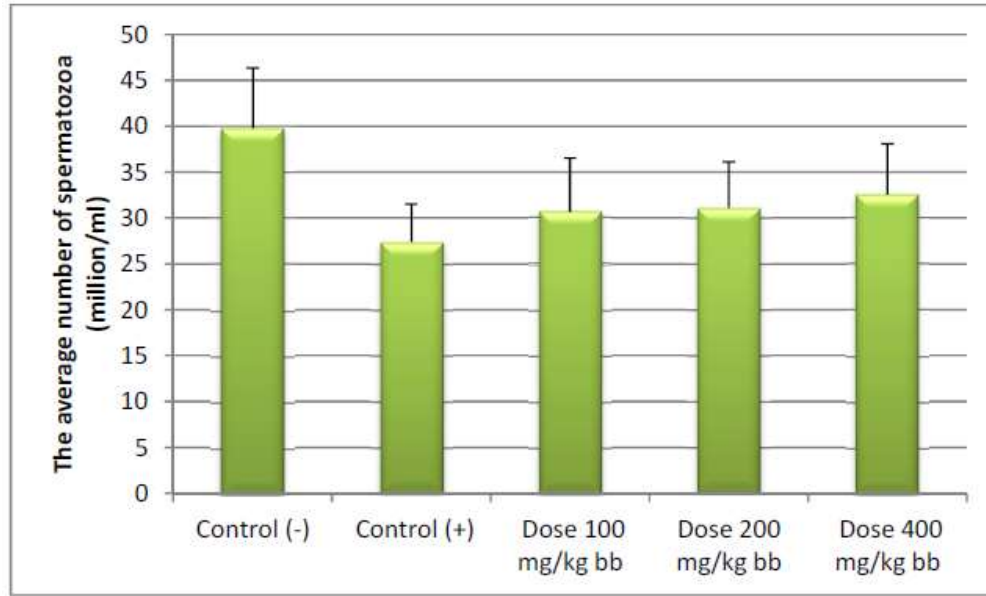


Figure . The bar chart the effect of tuber extract bits of the number of mice spermatozoa

Table II. Test results morphologically normal spermatozoa

Group	Mean	SD	P
K (-)	89.78	5.32	0,003
K(+)	65.73	9.96	
P1	74.96	10.34	
P2	76.12	3.12	
P3	75.82	12.78	

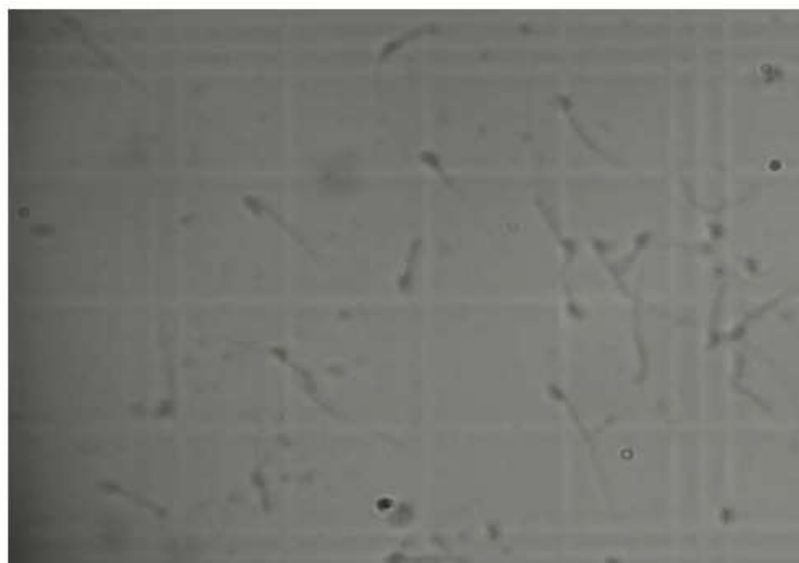


Figure. spermatozoa of mice in the hemocytometer (room count) (magnification 40x10)

Based on the result is acquired that there is differentiation numbers of sperm between negative and positive control groups. Moreover on the negative control is acquired 39,75 million/ml average number of sperm and on the positive control is gotten 27,383 million/ml average number of sperm. Furthermore, it can be concluded that the heat exposure affects the quality of sperm. It is also showed from P1, P2, and P3 with the average numbers of sperm are 30.667 million/ml, 31.1 million/ml and 32.55 million/ml. It can prove that ethanol extract of beet can repair the quality of damage sperm because of the heat exposure.

Meanwhile on the statistical test by using one way anove test is acquired the result is ( $\alpha < 0.05$ ) where on the spermatozoa number count there is significance differentiation between control groups and dose groups. The average numbers of spermatozoa between positive control and dose one have significane differentiation. The Anova table is discovered  $\alpha < 0,010$  where the acquired data has significance differentiation. After Duncan test, the data shows that between control groups and dose groups are in the two subsets that means there is significance data between control groups and dose groups.

It is supported by the data of normal spermatozoa morphology that on the negative control, the average normal of spermatozoa morphology is 89.78% and positive control groups is 65.73%, but on the P1 group is 74.96%, P2 group is 76.12% and P3 group is 75.82%.

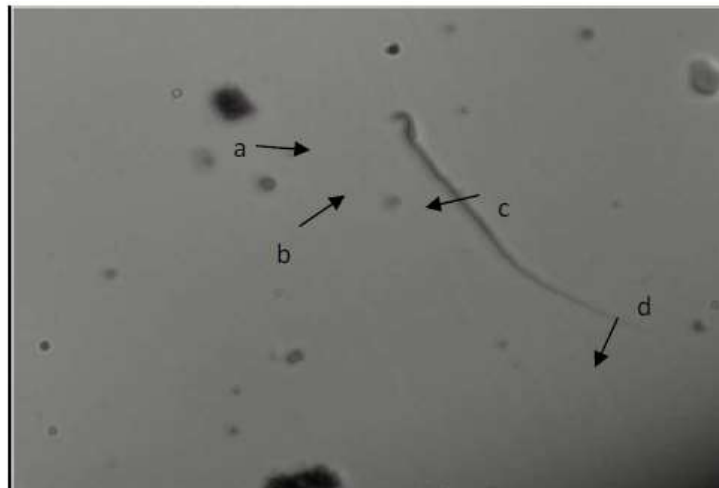


Figure . Morphology of normal spermatozoa, ga: the hook-shaped head, bh: neck, c: the central part, d: tails (magnification 40x10)



Figure . Morphology of abnormal spermatozoa, a: flattened head (magnification 40x10)

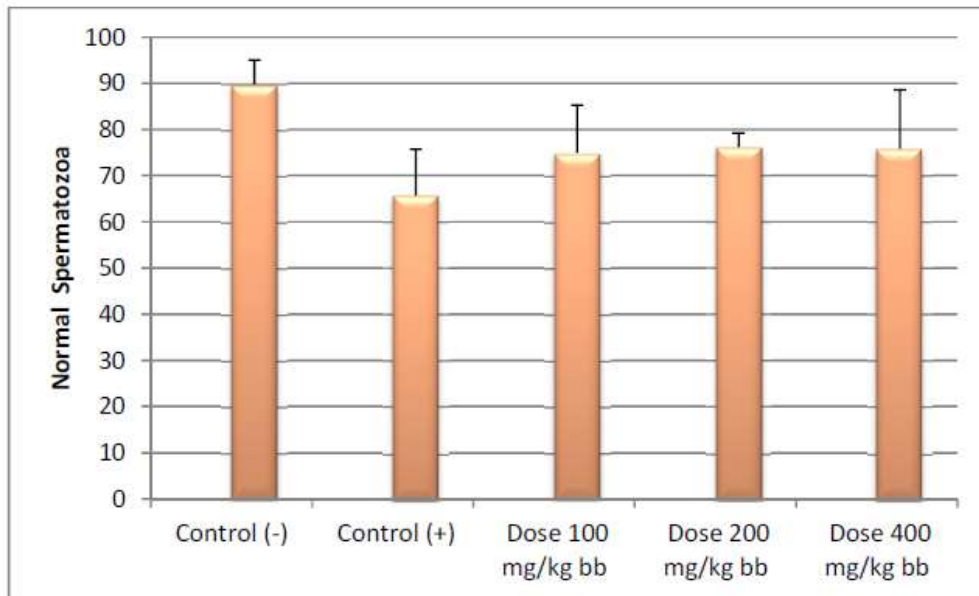
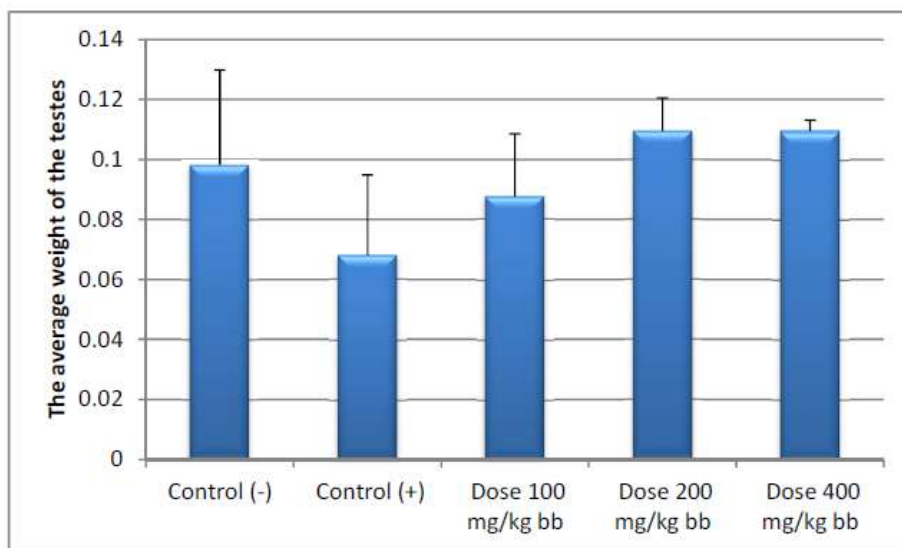


Figure . The bar chart beet extract to mice morphologically normal spermatozoa

**Table III. The result of testicle weight measuring**

Group	Mean	SD	P
K (-)	0.098	0.031	0,012
K(+)	0.067	0.0268	
P1	0.087	0.021	
P2	0.10955	0.010	
P3	0.10950	0.0036	

Moreover, the measuring of the testicle weight average of negative control groups, positive control group and P1, P2, and P3 groups are 0.098 gram, 0.067 gram, 0.087 gram, 0.10955 gram, and 0.10950 gram. The acquired data reveal the differentiation between positive control, P1, P2 and P3 group and negative control group ( $p \leq 0,05$ ). The result of the testicle weight average on the entire groups show the consistency of data because of the treatment groups cause the testicle weight is bigger than control one.



**Figure .Diagram stem tuber extract bits to the weight of the testes of mice**

### Conclusion

Based on the research that has been done, the conclusions are:

1. Giving 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB dose of beet ethanol extract cannot repair the number and increase the normal morphology of spermatozoa on mice that are induced by heat along 60 minutes.

2. Giving 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB doses of beet ethanol extract can repair the damage of testicle weight because of the heat exposure.

## 5.2 The Effect of Bluetooth of Smartphone against Radiation Teratogenicity in Mice Fetuses

Dillasamola D, Almahdy, Adrul F, Biomechy Oktomaliao P, Noverial

*Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*

### Abstract

The effect of bluetooth of smartphone against radiation teratogenicity in mice fetuses has been done. The aims of this research are to look the effect of exposure from mobile phone bluetooth radiation teratogenicity in mice fetuses. The research are an experimental studies used white female mice, which age about 2-3 months. These animals were divided into four groups where each group consists of four experimental animals. The first group is a control group which has been exposed by the bluetooth radiation. The second group has been exposed by the bluetooth radiation bluetooth radiation for 15 minutes. The third group has been exposed by the bluetooth radiation bluetooth for 30 minutes and the fourth group received a bluetooth radiation for 60 minutes. After the 18th day of pregnancy, the mice were killed by cervical dislocation and then conducting laparotomy. Embryo toxicity seen by counting the number of fetuses, number of fetuses were alive, and the number of defective fetus. Based on the descriptive analysis of the effect of radiation from the smartphone to the fetus bluetooth mice potential teratogenicity. On the results showed that administration of a smartphone bluetooth radiation causing slow growth and death of the fetus. On administration of bluetooth radiation for 30 minutes causing slow growth and fetal mortality. On administration of bluetooth radiation for 60 minutes causing slow growth. However, based on analysis ANOVA test showed that administration of a smartphone bluetooth radiation affects the main body weight significantly which raise the rate of progression of pregnancy. While the total number of fetuses and fetal body weight was not significantly affected. On administration of bluetooth radiation for 15 minutes, 30 minutes, and 60 minutes have not shown teratogenic effect clearly.

### Results and Discussion



Fig 1: Treatment cages

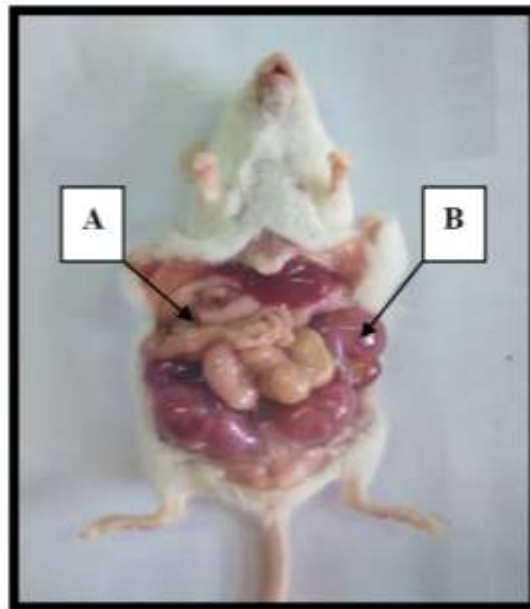
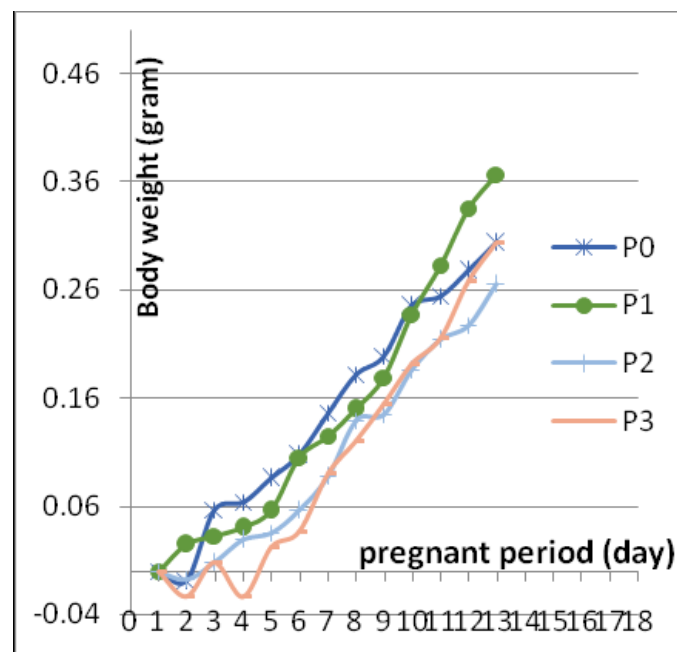


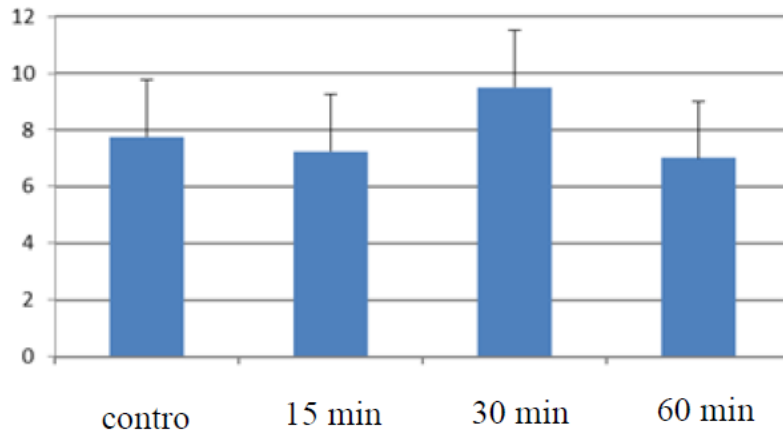
Fig 2: Laparotomy A. Intestine B. Uterus

Radiation exposure Bluetooth of smartphones in pregnant mice has been not affected the body weight during pregnancy mice was significantly ( $p > 0.05$ ). The average body weight during pregnancy mice in the control group, treatment for 15 minutes, 30 minutes, 60 minutes respectively was  $34.8 \pm 4.35$  grams;  $35.7 \pm 5.70$  g;  $4:26 \pm 38.5$  g;  $5:03 \pm 37.2$  grams.



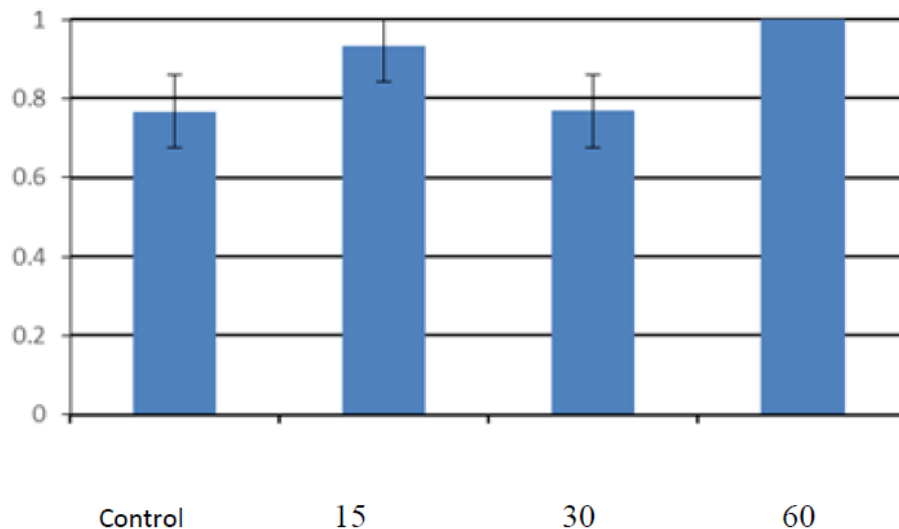


Radiation exposure bluetooth of smartphones in pregnant mice has been not affected the number of fetuses were significantly ( $p > 0.05$ ). Mean of fetuses to the control group, the treatment for 15 minutes, 30 minutes, 60 minutes respectively was  $9.5 \pm 2.38$  tail;  $11.3 \pm 0.96$  tail;  $8.0 \pm 2.71$  tail;  $9.3 \pm 5.91$  tail.

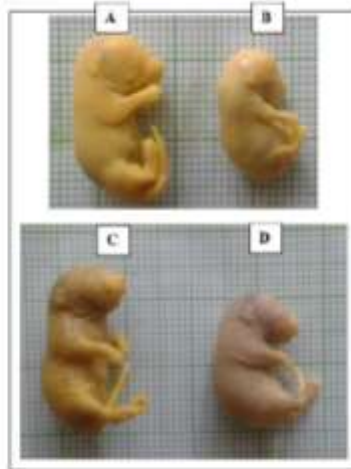


**Fig 4: Comparison of mean total number of fetuses in each treatment**

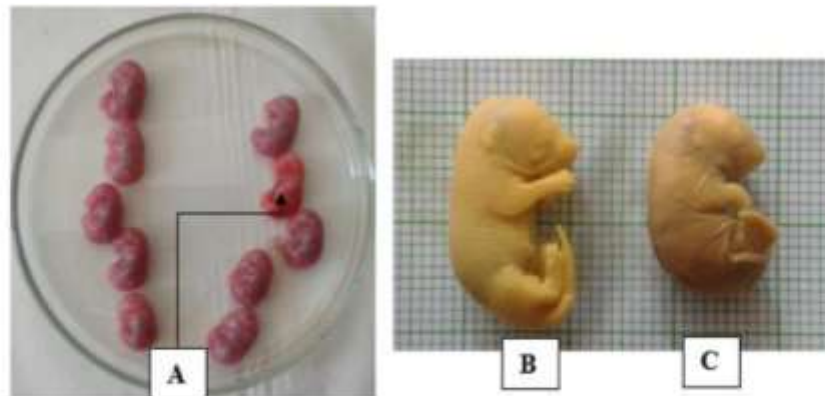
Radiation exposure Bluetooth of smartphones in pregnant mice has been not affected the mean body weight of fetuses were significantly ( $p > 0.05$ ). The mean body weight of the fetus to the control group, the treatment for 15 minutes, 30 minutes, 60 minutes respectively was  $0.6 \pm 0.13$  grams;  $0.8 \pm 0.33$  grams;  $1.3 \pm 0.34$  grams;  $1.1 \pm 0.62$  grams.



**Fig 5: Comparison of mean body weight the fetuses after laparotomy**



**Fig 6: Fixation using Bouin's solution A. Normal (group 3), B. Slow growth (group 3), C. Normal (group 4), D. Slow growth (group 4)**



**Fig 7: Fixation using Bouin's solution (group 3) A. Abnormalities, B. Normal, C. Fetus was soaked with Bouin's solution**

### Conclusion

Study the effect of radiation exposure from Bluetooth smartphones in the mice fetuses, conducted in vivo may cause fetal death. Based on the test Anova analysis showed that radiation exposure bluetooth of smartphone does not affect the total number of fetuses and fetal body weight significantly. Effect of radiation exposure from bluetooth of smartphone pregnancy affects the development by raising the rate of progression of pregnancy.

### 5.3 Anti-Infertility Effects Test of Date Palm Fruit Extract (*Phoenix dactylifera* L.) in Female Mice (*Mus musculus*) Compared with Propolis

Dwisari Dillasamola, Almahdy A, Ria Anggraini, Skunda Diliarosta, Biomechy Oktomaliao P, Noverial

*Asian J Pharm Clin Res*, Vol 11, Issue 11, 2018, 433-436

#### Abstract

**Objective:** The date palm (*Phoenix dactylifera* L) is one of the plants empirically used to increase fertility. The aim of this study was to compare the effect of ethanol extract of date palm fruit and propolis on fertility in female mice.

**Methods:** Five groups were assigned to 1 control and 4 experimental groups. The experimental group treated by oral administration of 100, 200, and 400 mg/kgBW of khalal date fruit extract and 200 mg/kgBW of propolis for 5, 10, and 15 days. Control groups received no extract. After 5, 10, and 15 days, the mice were deeply anesthetized with anesthetic ether and sacrificed. Histological changes in ovary and uterine were measured. The data were analyzed using two-way ANOVA and Duncan test.

**Results:** The results of the study of the effect of the dose and duration of the ethanol extract of khalal date fruit on the histology of ovaries and uterine mice showed that there was an increase in the number of primary, secondary, tertiary, de Graaf, and corpus luteum follicles but did not affect the follicle of atresia and myometrial and endometrial thickness. In propolis a dose of 100 mg/kgBW increase occurs only in primary, secondary, and corpus luteum follicles.

**Conclusion:** Ethanol extract of khalal date fruit and propolis can increase the number of ovarian follicles. Ethanol extract of khalal date fruit dose can increase the number of ovarian follicles higher than propolis.

#### Results and Discussion

##### Results

The ethanol extract of 100 mg/kgBW dose of khalal dates does not affect the number of ovarian follicles of both primary (Table 1), secondary (Table 2), tertiary (Table 3), de Graaf follicles (Table 4), corpus luteum (Table 5), and follicle atresia (Table 6), and endometrial and myometrial thickness (Tables 7 and 8).

Giving ethanol extract of 200 mg/kgBW and 400 mg/kgBW dose of khalal dates increase the number of ovarian follicles of both primary (Table 1), secondary (Table 2), tertiary (Table 3), de Graaf (Table 4), and corpus luteum follicles (Table 5). Giving ethanol extract of 200 mg/kgBW and 400 mg/kgBW doses of khalal dates does not affect on the number of follicle atresia (Table 6) and thickness of endometrium and myometrium (Tables 7 and 8). Giving propolis 100mg/kgBW increases the number of primary (Table 1), secondary (Table 2), and corpus luteum follicles (Table 5). The duration of extract giving

(10 and 15 days) has effect on the number of primary follicles (Table 1) and secondary follicles (Table 2). The duration of the extract of 5 days, 10 days, and 15 days has no effect on the number of tertiary follicles (Table 3), de Graaf (Table 4), corpus luteum (Table 5), follicular atresia (Table 6), and endometrial thickness and myometrium (Tables 7 and 8). Giving ethanol extract of khalal dates dose 200 mg/kgBB gives the highest increase of ovarian follicle amount compared to dose 100 mg/kgBW and 400 mg/kgBW and propolis 100 mg/kgBW.

**Table 1: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on primary follicles**

Duration of Administration (days)	The average number of primary follicles±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	2.67±0.58	2.33±0.58	2.67±0.58	4.67±0.58	5.33±0.58	3.53 <sup>a</sup> ±1.36
10	3.00±1.00	3.00±1.00	5.67±1.16	4.33±0.58	4.33±1.16	4.07 <sup>ab</sup> ±1.34
15	3.67±0.58	6.00±1.00	4.33±0.58	4.33±0.58	3.33±0.58	4.33 <sup>b</sup> ±1.13
Average±SD	3.11±0.79	3.78 <sup>ab</sup> ±1.86	4.22 <sup>a</sup> ±1.48	4.44 <sup>b</sup> ±0.53	4.33 <sup>b</sup> ±1.12	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

**Table 2: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on secondary follicles**

Duration of administration (days)	The average number of secondary follicles±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	1.33±0.58	0.67±0.58	8.33±1.53	6.00±1.00	2.67±1.16	3.80 <sup>a</sup> ±3.14
10	1.33±0.58	5.67±0.58	9.67±2.08	5.00±1.00	5.33±1.53	5.40 <sup>a</sup> ±2.95
15	2.00±1.00	7.00±1.00	7.33±0.58	3.33±0.58	6.00±1.73	5.13 <sup>b</sup> ±2.36
Average±SD	1.55 <sup>a</sup> ±0.726	4.45 <sup>b</sup> ±2.96	8.44 <sup>a</sup> ±1.67	4.78 <sup>b</sup> ±1.39	4.67 <sup>b</sup> ±2.00	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

**Table 3: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on tertiary follicles**

Duration of Adm (days)	The average number of tertiary follicles±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	0.33±0.58	2.00±1.00	2.33±0.58	2.00±1.00	1.24±0.43	1.17 <sup>a</sup> ±0.56
10	1.33±0.58	0.67±0.58	4.33±0.58	0.67±0.58	1.19±0.24	1.14 <sup>a</sup> ±0.63
15	1.00±1.00	0.67±0.58	4.00±1.00	2.67±0.58	1.61±0.34	1.61 <sup>a</sup> ±0.34
Average±SD	0.89 <sup>a</sup> ±0.78	1.11 <sup>ab</sup> ±0.93	3.55 <sup>a</sup> ±1.13	1.78 <sup>b</sup> ±1.09	1.33 <sup>b</sup> ±0.37	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

**Table 4: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on de Graafian follicles**

Duration of Adm (Days)	The average number of de Graafian follicles±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	0.67±0.58	0.33±0.58	2.67±0.58	2.67±1.16	1.00±1.00	1.47 <sup>a</sup> ±1.25
10	0.33±0.58	1.67±1.16	2.67±0.58	1.33±0.58	1.33±0.58	1.40 <sup>a</sup> ±1.07
15	0.67±0.58	1.00±1.00	1.67±0.58	0.67±0.58	0.33±0.67	0.87 <sup>a</sup> ±0.74
Average±SD	0.56 <sup>a</sup> ±0.53	1.00 <sup>ab</sup> ±1.00	2.33 <sup>a</sup> ±0.71	1.56 <sup>b</sup> ±1.13	0.78 <sup>ab</sup> ±0.83	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

**Table 5: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on corpus luteum**

Duration of Adm. (Days)	The average number of corpus luteum±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	3.67±1.53	3.33±1.53	6.33±1.53	4.67±1.16	6.33±0.58	4.50 <sup>a</sup> ±1.73
10	4.00±1.00	3.33±0.58	7.00±2.00	5.67±0.58	6.00±1.00	5.00 <sup>a</sup> ±1.81
15	2.67±1.53	4.00±1.00	9.33±1.53	7.00±1.73	8.00±1.00	5.75 <sup>b</sup> ±2.99
Average±SD	3.45 <sup>a</sup> ±1.33	3.55 <sup>a</sup> ±1.01	7.55 <sup>a</sup> ±2.01	5.78 <sup>b</sup> ±1.48	6.78 <sup>bc</sup> ±1.20	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

Table 6: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on atretic follicles

Duration of Adm. (Days)	The average number of atretic follicles±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	1.00±1.00	0.00±0.00	1.67±0.58	1.00±1.00	0.33±0.58	0.80±0.86
10	0.67±0.58	2.00±1.00	0.33±0.58	1.00±0.00	0.67±0.58	0.93±0.79
15	1.33±0.58	1.67±0.58	0.33±0.58	0.67±0.58	1.33±1.16	1.07±0.80
Average±SD	1.00±0.71	1.22±1.09	0.78±0.83	0.89±0.60	0.78±0.83	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

Table 7: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on endometrium

Duration of Adm (days)	The average thickness of endometrium(µm)±SD				Propolis 100 mg/kgBW	Average±SD
	control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	172.97±26.04	106.63±64.13	162.99±39.18	103.46±18.26	184.72±119.88	146.16±65.29
10	102.82±6.35	141.44±9.55	187.69±46.72	116.01±22.28	103.99±42.94	130.39±41.85
15	146.46±21.73	95.97±18.11	116.00±71.29	123.62±26.90	158.45±36.53	128.02±40.82
Average±SD	140.75±35.19	114.55±39.53	155.56±56.52	114.36±21.59	149.05±75.23	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

Table 8: Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on myometrium

Duration of Adm (days)	The average thickness of myometrium (µm) ±SD				Propolis 100mg/kgBW	Average±SD
	Control	100 mg/kgBW	200 mg/kgBW	400 mg/kgBW		
5	67.61±18.36	67.40±26.97	94.35±40.11	69.28±27.64	167.14±113.34	93.16±62.48
10	79.50±34.57	114.68±17.03	122.19±11.99	71.66±4.01	63.95±25.21	90.40±30.32
15	81.44±12.52	62.34±3.14	73.35±34.51	81.43±23.04	104.22±16.93	80.56±22.66
Average±SD	76.18±21.55	81.48±29.70	96.63±34.44	74.12±18.94	111.77±73.97	

Different alphabet (a, b, or ab) in the same column or row means there are significant differences (p<0.05). SD: Standard deviation

## Discussion

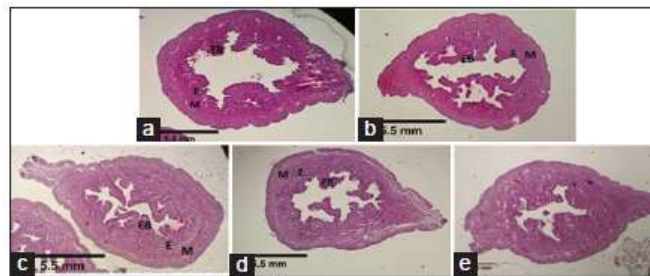
The aim of this study was to compare the effect of ethanol extract of date palm fruit and propolis on fertility in female mice. The parameters observed were the number of primary, secondary, tertiary, de Graaf, and corpus luteum follicles as well as the thickness of the endometrial and myometrial walls. Results of observations of ovarian histologic preparations in the cortical section of the treatment group were obtained by primary, secondary, tertiary, de Graaf, and corpus luteum follicles compared to the control group (Fig. 1).

The results of the study of the effect of the dose and duration of the extract of ethanol on the histology of ovaries and uterine mice showed that there was an increase in the number of primary, secondary, tertiary, de Graaf, and corpus luteum follicles but did not affect the follicle of atresia and myometrial and endometrial thickness.

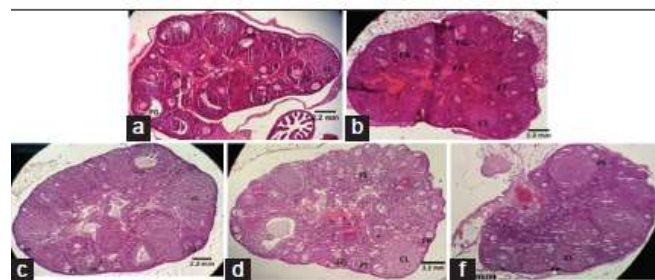
Propolis dose 100 mg/kgBW increase occurs only in primary (Table 1), secondary (Table 2), and corpus luteum follicles (Table 5). The average number of ovarian follicles of both primary, secondary, tertiary, de Graaf, and corpus luteum follicles increased from the control group, especially in the group given the 200 mg/kgBB dose extract. While the

duration of extract giving (5, 10 and 15 days) does not affect the number of ovarian follicles and the thickness of the uterine wall significantly. The fruit of khalal dates contains many important compounds such as steroids, anthocyanins, procyanidins, carotenoids, flavonoids, phytoestrogens, and various other compounds. In this study, the compounds that play a major role in increasing the number of ovarian follicles are phytoestrogens. Flavonoids in plants or also called phytoestrogens are one group of active compounds in plants that have a chemical structure similar to estradiol. Phytoestrogens consist of three main compounds, namely isoflavones, coumestants, and lignans. According to research, dates contain the highest phytoestrogens. These compounds have the ability to bind to estrogen receptors and provide both estrogenic and antiestrogenic effects. Phytoestrogens can increase estrogen levels according to previous studies which show that dates can increase estrogen and progesterone levels while propolis has the strongest antioxidant activity against oxidants and free radicals (H<sub>2</sub>O, O<sub>2</sub>, and OH) compared with other bee products. Provision of propolis aims to prevent the formation of free radicals. Propolis which is an beekeeping product contains Caffeic Acid Phenethyl Ester. Research has shown that antioxidants in propolis can protect ovarian follicles from oxidative damage and prevent them from becoming atresia. Propolis with a dose of 200 mg/kgBB has an ameliorative effect on ovarian toxicity in female rats induced by methoxychlor. The success of follicular differentiation depends on the presence of steroids and growth factors that stimulate follicular differentiation. The growth of the ovarian follicle is achieved through the proliferation and differentiation of granulosa cells. One of the strong follicular growth stimulants is estrogen. Estrogen consists of three types of estriol, estrone, and estradiol. Estradiol increases the proliferation of granulosa cells and promotes the growth of preantral follicles and antrum formation. The result showed that the average number of treatment group atresia follicles did not differ significantly with the control group (sig>0.05). The main mechanism that causes cells to be atresia is apoptosis in granulosa cells. Estrogen plays an important role in the regulation of growth, development, homeostasis, and cell death (apoptosis) in the ovaries. Estrogens prevent apoptosis in granulosa cells by inhibiting endonuclease activity in granulosa cells. The average number of follicular atresia of the treatment group did not differ significantly with the control group (sig>0.05) also showed that elevated estrogen levels were not so high

that they did not cause negative feedback and inhibited the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in the hypothalamus resulting in follicular atresia.



**Fig. 1:** Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on uterine walls in control and various experimental groups ( $\times 40$ , H and E); E: endometrium; and M: Myometrium. (a) Control group, (b) treatment Group 1 (extract dose 100 mg/kgbw), (c) treatment Group 2 (extract dose 200 mg/kgbw), (d) treatment Group 3 (extract dose 400 mg/kgbw), and (e) treatment Group 4 (propolis dose 100 mg/kgBW)



**Fig. 2:** Effect of ethanol extract of khalal date fruit and propolis on ovarian follicles in control and various experimental groups ( $100\times$ , H and E); FP: Primary follicle; FS: Secondary Follicle; FT: Tertiary Follicle; FG: Graafian Follicle; CL: Corpus Luteum; and FA: Atretic Follicle. (a) Control group (b) treatment Group 1 (extract dose 100 mg/kgBW), (c) treatment Group 2 (extract dose 200 mg/kgBW), (d) treatment Group 3 (extract dose 400 mg/kgbw), and (e) treatment Group 4 (propolis dose 100 mg/kgBW)

Based on Fig. 2, it is seen that the histology structure of the uterus in the control group and the treatment group found no damage to the lining of the uterine wall. The epithelial epithelium juggle indicates that the mice are in the estrous cycle while the unmarked epithelium indicates that the mice are in the proestrus phase at the time of sacrifice.

Based on the result of statistical analysis, it is not seen the effect of dose and duration of extract and propolis administration on myometrial thickness and endometrium of mice. The thickness of the endometrium and myometrium of the treatment group mice did not differ significantly with the control group ( $\text{sig} > 0.05$ ), suggesting that steroidal compounds that have a role such as the estrogen hormone (phytoestrogens) in the extract do not cause

too high estrogen levels which can lead to increased thickness endometrium and myometrium. Estrogen is used for cell proliferation of the uterus, working by binding to estrogen receptors present in the uterus. It also shows that propolis only provides protection and does not increase the amount of estrogen in mice, so there is no increase in uterine wall thickness of mice in accordance with previous studies. From the overall data processing, it was found that the extract of ethanol of khalal dates had an effect on the number of ovarian follicles except for the atresia follicle but had no effect on endometrial thickness and myometrium, and propolis only increases primary, secondary follicles, and corpus luteum. Propolis only gives protection effect .

#### Conclusion

Ethanol extract of khalal date fruit and propolis can increase the number of ovarian follicles. Ethanol extract of khalal date fruit dose can increase the number of ovarian follicles higher than propolis.

#### **5.4 Effect of Exposure for a Long Time by Mobile Phone Calls Radiation to The Fetal Mice**

Dillasamola D, Almahdy, and Ariani D.

*Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*

#### Abstract

The purpose of this research is to serve for original scientific article that contribute substantively to the education of the causative factors and mechanism leading to adverse pregnancy outcomes in the human population, including pregnancy loss, structural birth defects, and developmental disabilities. The research was looked at the effect of exposure for a long time from mobile phone calls radiation to the fetal mice. The research used white female mice as the experimental animals, which age about 2-3 months, these animals divided into 4 groups. The first group was the control. The second, third, and fourth group were treated for 15, 30 and 60 minutes. The treatment was given after 6-15 days of gestation. The pregnant mice were placed in a cage and a mobile phone. Mobile phone frequency is 1600-1800 MHz with SAR 0.607 W/Kg when it silent and vibration only. Mice were exposed to radiation by a call from another phone repeatedly without answer during the period determined in accordance with the test group. After the pregnancy was 18 days continued with laparotomy. The observed were the number of fetuses, fetal body weight, fetal defects, and fixation. The result of this research showed that exposure of mobile phone calls radiation does not affect the number of fetuses and fetal body weight ( $p > 0,05$ ). The results showed that administration of radiation exposure during the 15-minute phone call causes growth disorders and death. Fetus was impaired growth in radiation exposure for 30 and 60 minutes. Radiation exposure of pregnant mice can be a risk to the fetus visceral defects.



## Results and Discussion

day	Body weight pregnant mice (g)			
	P0	P1	P3	P4
6	30,4	36,6	33,3	32,9
7	31,9	36,3	32,8	33,8
l8	32,9	37,4	33,1	34,3
9	32,8	38,8	32,0	35,0
10	33,3	39,5	34,5	35,4
11	33,6	40,3	35,3	35,9
12	34,6	41,1	37,4	37,1
13	36,1	42,5	38,8	38,6
14	37,2	44,3	40,6	39,8
15	38,9	46,9	42,9	41,8
16	40,4	48,4	43,4	44,0
17	42,6	50,9	45,1	45,8
18	45,7	52,1	47,1	47,9
X	36,2	42,7	38,2	38,6
SD	4,56	5,39	5,20	4,88
X±SD	36,2±4,56	42,7±5,39	38,2±5,20	38,6±4,88

**Tabel II: Body weight pregnant mice**

Exposure by radiation phone calls on pregnant mice did not affect the weight of pregnant mice ( $p > 0.05$ ).

No. Mice	Total fetus (tail)			
	P0	P1	P2	P3
1	13	12	4	15
2	9	12	9	7
3	8	11	10	2
4	8	10	9	13
X	9,5	11,3	8,0	9,3
SD	2,38	0,96	2,71	5,91
ΣX	38	45	32	37
X±SD	9,5±2,38	11,3±0,96	8,0±2,71	9,3±5,91

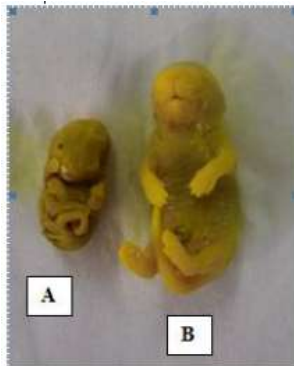
**Table III: Total group treatment**

Exposure by radiation phone calls on pregnant mice did not affect the number of fetuses were significantly ( $p > 0.05$ ).

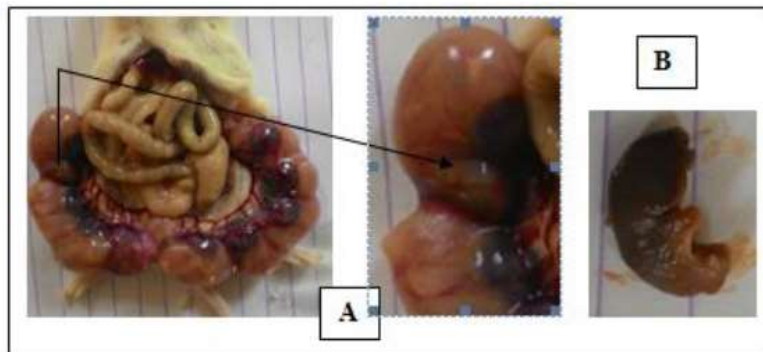
No. Mencit	Body weight of fetal (g)			
	P0	P1	P2	P3
1	0,48	1,001	1,664	0,523
2	0,457	0,533	1,424	1,823
3	0,637	0,544	1,013	1,379
4	0,726	1,183	0,953	0,63
X	0,6	0,8	1,3	1,1
SD	0,13	0,33	0,34	0,62
$\Sigma X$	2,3	3,261	5,054	4,355
X $\pm$ SD	0,6 $\pm$ 0,13	0,8 $\pm$ 0,33	1,3 $\pm$ 0,34	1,1 $\pm$ 0,62

**Tabel IV: Fetal body weight after laparotomy on 18<sup>th</sup> day pregnant**

Exposure by radiation phone calls on pregnant mice did not affect fetal body weight significantly ( $p > 0.05$ ).

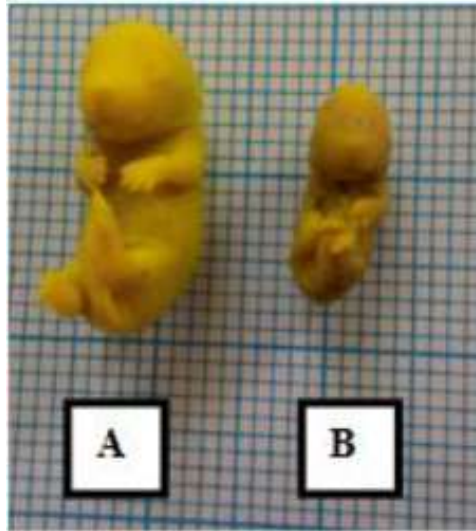


**Figure 2: curling tail**



**Figure 3: Die of fetal**

After 15 minutes treatment the fetus group was fixed with Alizarin red solution, the results did not any bone abnormalities. However, the 2-tailed found dead at the time of laparotomy. And after fixed with bouin's solution, we found slow the growth of the fetus and one fetus had a curling tail.



**Figure 4: Growth disorder of fetal**

After 30 minutes of the treatment group were fixed with Alizarin red solution, the results did not any abnormalities. However, after fixed with Bouin's solution was found one tail fetus experience slow growth.

Fetus from the group exposure 60 minutes were fixed with alizarin solution, the results did not any abnormalities. However, after fixed with Bouin's solution was found two tail fetus experience slow growth.

The observation of radiation exposure on the phone call each time does not affect the number of fetuses and fetal body weight significantly ( $p > 0.05$ ). Observation of the number of fetuses to the control group, the treatment for 15, 30, and 60 minutes respectively was  $9.5 \pm 2.38$  tail;  $11.3 \pm 0.96$  tail;  $8,0 \pm 2,71$  tail;  $9.3 \pm 5.91$  tail (Appendix 3, Table III). While the observation of the fetal body weight of the control group, the treatment for 15, 30 and 60 minutes respectively was  $0.6 \pm 0.13$  grams;  $0.8 \pm 0.33$  grams;  $1.3 \pm 0.34$  grams,  $1.1 \pm 0.62$  grams (Appendix 3 continued, Table IV). The treatment group during 30 minutes has the number of fetuses born slightly, so that the average weight of the fetus great. It is not affected by exposure to radiation phone calls.

Based on the result of the research showed that not significantly difference in the pregnant body weight, number of fetuses and fetal body weight. In observation of the pregnant mice body weight, number of fetuses and fetal body weight would not showed teratogenic effects. The number of fetuses, number of fetuses was born alive, number of

fetuses was stillborn, and weight of the fetus can be observed after the fetus removed from the uterus. However, there are two more aspects that would not be observed morphological abnormalities that may occur on the inside of the body (visceral) and abnormalities that may occur in bond.

At the time of laparotomy also made observations on the horn uterus and fetus. In the phone call treatment for 15 minutes were found two male fetuses experience slow growth and are dead and has a curling tail after being soaked with Bouin's solution. In the treatment of 30-minutes phone call found the tail of the fetus experiencing slow growth alive. In the treatment of 60-minute phone call was found two male fetuses experienced slow growth alive.

Compared to the study that used a mobile phone with a frequency of 900 MHz and SAR 1.165 W / Kg. Exposure by electromagnetic fields during one hour of the mobile phone in young adult rats would lead to an increase in the metabolic processes that occur in the head area. Different result with this research that used a mobile phone with a frequency of 1600-1800 MHz and SAR 0607 W / Kg at rest would cause defects in the fetus visceral form of dead fetal mice, growth retardation, curling tail. This may occur as a result of the use of electromagnetic fields from mobile phones with the SAR is different and frequency is different.

The Fetus was soak with Bouin's solution will be thick as tofu and yellow. The content of formaldehyde and acetic acid in Bouin's solution will preserve embryonic tissue. Chemical processes that occur in this case are complex. While fetal mice was give picric acid dye that is yellow and more easily to observe. The others parameters observe was eyelids, ears, feet, and toes, and cleft in the palate (cleft palate). To observe a gap in the ceiling would be done by wrenching the fetus that has been soaked with Bouin's solution. In the mouth cut with a sharp knife towards the rear until the head severed, then dispose of the fetus and observe the tongue there whether or not the cleft palate in mice. In this research was not find visceral abnormalities such as cleft palate.

Results soaked with alizarin solution would be observed abnormalities that may occur in skeleton. At normal fetuses there are seven cervical bones, thirteen pairs of thoracic spine, lumbar spine six, four sacral bones, and two or three caudal bone. All observed after the fetus was soaked in a solution of alizarin red - KOH 1% which causes

the fetus becomes transparent and dark red bone, thus all the abnormalities that exist in bond can be observed clearly with the aid of a magnifying glass. From the observations made, as compared with the normal form of the control group, did not reveal any abnormalities of the number and shape of bones in all treatment groups.

Morphological abnormalities did not occur in all fetuses in one group even in the same parent. It is caused by the presence of genetic susceptibility between individuals although originating from the same parent bond [12]. The observation found no abnormality in the feet, toes, frame, ceiling, ears, eyelids, head. However, it was discovered the fetus had a tail curling tail of treatment during a 15-minute phone call.

Of teratogenicity test results, there are a number of fetal abnormalities. However, the potential teratogen exposure to radiation from mobile phone calls is still uncertain because of the nature of the vulnerability of an individual even though derived from the same parent. Defects can also be caused by environmental factors. Therefore, needs to be done similar research using other species.

#### Conclusion

Test the effect of exposure for a long time to radiation phone calls on pregnant mice conducted in vivo with descriptive methods can lead to defects in the fetal mice visceral form of fetal death, growth retardation, curling tail. However, the provision of radiation exposure does not affect significantly (not significant) against the parent body weight of mice during pregnancy, number of fetuses and fetal weight by used one-way analysis of variance (ANOVA).

### 5.5 The Effect of Extract of Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera* L.) on Fertility in Male Mice (*Mus musculus* L.)

Dwisari Dillasamola, Almahdy, Feni Elfianita, Skunda Diliarosta, Biomechy Oktomaliao P, Noverial Noverial

*Asian J Pharm Clin Res*, Vol 12, Issue 1, 2019, 418-421

#### Abstract

**Objective:** Date palm is one of the plants that have used empirically to increase fertility. Ethanol induction can cause sperm damage in male mice. Sperm damage is one of the infertility agents. The aim of this study was to observe and determine anti-infertility effects of the ethanol extract of date palm fruit in khalal stage in male mice compared with propolis.

**Methods:** A total of 5 groups were assigned to 1 control and 4 experimental groups. Control group was treated by intraperitoneal administration of ethanol only. Meanwhile, experimental groups was treated by intraperitoneal administration of ethanol induction and oral administration of 140, 280, and 560 mg/kg BW of khalal date fruit extract and 1400 mg/kg BW of propolis for 34 days. At 35th day, the mice were deeply anesthetized with anesthetic ether and sacrificed. Laparotomy was performed to collect sperms from epididymis and testes for determining testis weight to analyze the sperm. The data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan's test.

**Results:** The result of the research showed that there were more anti-infertility activity of ethanol extract of date palm fruit in khalal stage ( $p < 0.05$ ) on sperm count, motility of sperm, and weight of testes in male white mice together with larger doses administration. The optimum activity was accepted by the administration of doses 560 mg/kg BW.

**Conclusion:** Ethanol extract of khalal date fruit and propolis can increase the quality of sperm pervade sperm count, sperm motility, and weight of testes. Ethanol extract of khalal date fruit can increase sperm quality higher than propolis.

## Results and Discussion

### Results

The administration of the ethanol extract of khalal dates (*P. dactylifera* L.) and propolis as a comparison showed antifertility activity that was significantly different ( $p < 0.05$ ) on the quality of spermatozoa in male white mice which included number of spermatozoa, sperm motility, and testicular weight of male white mice (*M. musculus* L.). There are 5 treatment groups, which are group with dose of 560 mg/kg BW, 280 mg/kg BW, 140 mg/kg BW, group with propolis, and control. Testicular weight of male white mice increased with increasing doses and propolis showed the second highest increase in testicular weight after a dose of 560 mg/kg BW as shown in Table 1. Meanwhile, the number of spermatozoa of male white mice also increased with increasing doses where propolis was in the third position which showed an increase in the number of spermatozoa as shown in Table 1, while the percentage of sperm motility also showed an increase with increasing dose and propolis showed the highest percentage of motility after the dose of 560 mg/kg BB and 280 mg/kg BB as shown in Table 1.

Table 1: Weight of testes and spermatozoa analysis in male white mice (*M. musculus* L.)

Doses	Berat testis kanan (g)±SE	Berat testis Kiri (g)±SE	Jumlah spermatozoa (juta/ml)±SE	Rata-rata % motilitas spermatozoa±SE
Control	0.112±0.005	0.108±0.005 <sup>a</sup>	177.8±44.05 <sup>a</sup>	19.28±3.59 <sup>a</sup>
Dose 140 mg/kg BB	0.131±0.005	0.121±0.004 <sup>ab</sup>	238.8±86.19 <sup>ab</sup>	33.38±4.76 <sup>b</sup>
Dose 280 mg/kg BB	0.136±0.007	0.131±0.005 <sup>bc</sup>	393±86.98 <sup>ab</sup>	39.69±3.24 <sup>bc</sup>
Dose 560 mg/kg BB	0.142±0.008	0.140±0.008 <sup>c</sup>	479±79.18 <sup>b</sup>	47.34±2.71 <sup>c</sup>
Propolis	0.136±0.003	0.136±0.003 <sup>bc</sup>	383.6±99.43 <sup>ab</sup>	35.42±4.57 <sup>bc</sup>

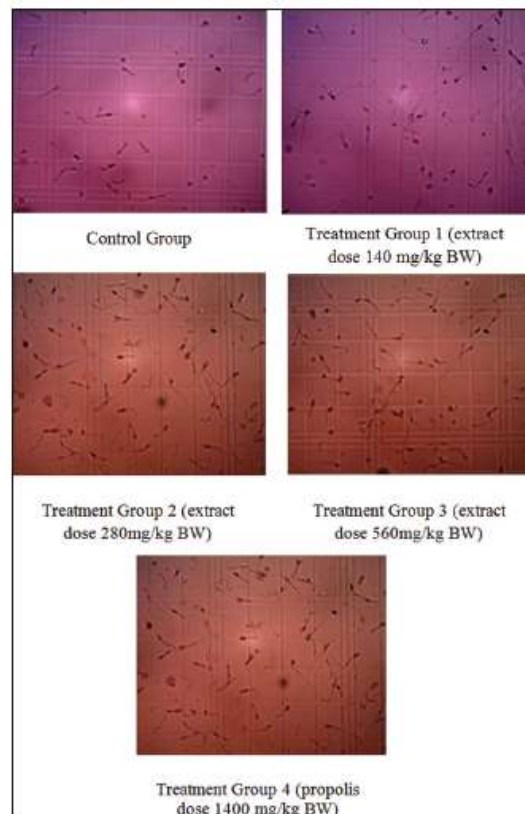
SE: Standar error; *M. musculus*: *Mus musculus*, Different alphabets (a, b, ab, c, bc) in the same column or row mean that there are significant differences ( $p < 0.05$ )

## Discussion

In this study, we can see the protective ability of ethanol extract of khalal dates (*P. dactylifera* L.) and propolis as a comparison in mice reproductive organs that have been given ethanol induction so that it influenced the quality of spermatozoa to the quality of spermatozoa produced. Administration of ethanol induction will cause spermatozoa production to be inhibited. The administration of ethanol extract of khalal dates (*P. dactylifera* L.) containing compounds that have antioxidant activity can provide protection against reproductive organ damage in male white mice (*Mus musculus* L.). Antioxidant compounds contained in dates can prevent cell damage that occurs due to oxidative stress in spermatogenic cells in the seminiferous tubules and Leydig cells in the testes.

Based on the research that has been done, there are differences in results between groups that were only given ethanol induction or a control group with the group given ethanol induction coupled with the ethanol extract of khalal dates (*P. dactylifera* L.) and propolis as a comparison or test group. The differences that appear indicate that there is a decrease in sperm quality in the form of a decrease in the number of spermatozoa, the percentage of sperm motility and testicular weight of mice from the test group to the control group. This is due to the effects of ethanol which is a free radical compound that causes oxidation chain reactions which often cause lipid peroxidation and lead to cell damage which can inhibit spermatozoa production and maturation. Observations made on the weight of testicular mice showed changes and increased testicular weight from the control group to the test group. Administration of ethanol induction can cause a decrease in testicular weight. In testicular organs of mice, the results of ethanol metabolism can cause damage to Leydig cells in the form of a decrease in cell volume, resulting in a decrease in testosterone production, a hormone that is needed in the process of maturation of the spermatozoa in the epididymis. In Sertoli cells, it can lead to enlargement of vacuoles caused by swelling of cisternae in the smooth endoplasmic reticulum. Ethanol can also cause a smaller diameter of the seminiferous tubules and enlarged lumen of the tubules. Disorders of Leydig cells, Sertoli cells, and seminiferous tubules can reduce the number of germ cells and testicular atrophy or decrease in testicular weight. This supports the results of the study that inducing ethanol can reduce the weight of testicular mice, so the administration of ethanol extracts of khalal dates (*P. dactylifera* L.) and propolis as a

comparison can improve damage to the testicular organs of mice as indicated by an increase in testicular weight in mice.



**Fig. 1: The appearance of spermatozoa in the count room hemocytometer improved Neubauer**

In observing the number of spermatozoa, there are more spermatozoa that die compared to the number of living spermatozoa (Fig. 1). This is caused by the administration of ethanol induction (free radicals) which can attack normal sperm cells so that they will form new free radical compounds in large quantities. The presence of free radicals will cause morphological changes from normal cells to abnormal even until cell death occurs. This is the reason why many spermatozoa die compared to the living. The length of time that a sperm can survive is influenced by several factors such as temperature, pH and osmolarity of the extracellular environment. Osmolarity has a very important role in determining the duration of spermatozoa which can move and survive. Spermatozoa exposed to low osmotic pressure conditions for a long time can cause disruption of the plasma membrane, causing swelling in the flagellum and mitochondria so that it ends with cell death.



## Conclusion

The administration of the ethanol extract of khalal dates (*P. dactylifera* L.) and propolis as a comparison gave anti-infertility activity which was significantly different from the quality of spermatozoa of male white mice (*M. musculus* L.) which was characterized by an increase in the number of spermatozoa, the percentage of sperm motility, and the weight of the left testis.

From male white mice, but did not give a significant effect on the weight of the right testis in male white mice (*M. musculus* L.) which had been induced by ethanol. The administration of ethanol extract of khalal dates (*P. dactylifera* L.) caused an increase in the number of spermatozoa, percentage of sperm motility, and testicular weight of male white mice (*M. musculus* L.) along with the increased dose given. The optimum activity was obtained at a dose of 560 mg/kg BW while the provision of propolis is it has a medium effect on the quality and weight of testicular mice.

### 5.6 Evaluation of Propolis and Milk Administration on Caffeine-Induced *Mus musculus* Fetus Skeletal

Dwisari Dillasamola, Almahdy, Novita Purnama Sari, Biomechy Oktomalio Putri, Noverial, Skunda Diliarosta  
*Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(1), 2018, 40-48

#### Abstract

Caffeine consumption by pregnant women at doses above 300 mg/day was suggested to cause skeletal damage. Propolis with high flavonoids concentration could increase the number of osteoblasts. This research aims to evaluate the effect of propolis and milk administration on fetal skeletal of caffeine-induced female mice (*Mus musculus*). Mice were divided into six groups: negative group, positive group of caffeine (a dose of 75 mg/kg BW), positive group of propolis (a dose of 1400 mg/kg BW), positive group of milk (200 ml), group D1 (caffeine 75 mg/kg BW and propolis 1400 mg/kg BW) and group D2 (caffeine 75 mg/kg BW and milk 200 ml). Data were processed using one-way ANOVA. The results showed that administration of propolis and milk on caffeine-induced mice during pregnancy does not affect the mice body weight, the number of fetuses and fetal weight significantly ( $P > 0.05$ ). No skeletal defects detected in group D1 and D2 (observation with Alizarin solution) compared to the negative group. In conclusion, the administration of propolis at the dose of 1400 mg/kg BW and 200 ml of milk can repair skeletal damage caused by caffeine induction.

## Results and Discussion

### Results

After comparing the effect of propolis and milk to the fetal mice skeletal (*Mus musculus*) induced by caffeine, positive group propolis, the positive group milk, dose groups 1 and 2 do not have skeletal abnormalities when compared with the negative group. Bone abnormalities found in the positive group of caffeine.

Research data in this study were tested statistically using one-way analysis of variance test as follows:

1. Test preparation given in the positive group of propolis, positive group of caffeine, milk positive group, dose 1 group and dose 2 group does not significantly affect the mice body weight during pregnancy (F count <F Table 0.05). The average weight gain during pregnancy in the negative group, positive propolis, caffeine positive group, positive milk group, dose 1 and dose 2 was 32.3 grams; 31.93 grams; 31.59 grams; 31.25 grams; 30.44 grams; 29.97 grams respectively.
2. The provision of propolis and milk to the caffeine-induced fetus mice does not significantly affect the average number of fetuses (F count <F Table 0.05). An average number of fetuses to the negative group, positive propolis group, caffeine positive group, positive milk group, dose 1 and dose 2 was 12.2 tail; 11.6 tail; 10.8 tail; 9.6 tail; 9 tail and tail 8.5, respectively.
3. The provision of propolis and milk to the caffeine-induced fetus mice does not significantly affect the average weight of fetuses (F count <F Table 0.05). The average weight of the fetus to the negative group, positive propolis group, caffeine positive group, positive milk group, dose 1 and dose 2 was 0.98 grams; 0.89 grams; 0.79 grams; 0.69 grams; 0.67 grams; and 0.66 grams, respectively.

### Discussion

In this research, the test was conducted to see the effect of propolis and milk on the mice fetal skeletal induced by caffeine. Besides, observation was done to see other effects such as abnormal fetal shape, their growth inhibition, haemorrhage or other abnormalities that may occur.

Caffeine is a methylxanthine class of compounds that can cross the placenta to substantially amniotic fluid, umbilical cord blood, plasma and urine. In pregnant women,

caffeine half-life increased from 3.5 hours to 16 hours. The pharmacokinetic changes occur due to an increased number of steroid hormones (estrogen and progesterone) during pregnancy. Steroid hormones (estrogen and progesterone) was acting as a competitive inhibitor of microsomal enzyme oxidase. When this enzyme is inhibited can cause a decrease in the amount of drug eliminated. This causes the longer the half-life of caffeine and caffeine also increases bioavailability, so that caffeine is in the plasma for a long time and the accumulation of substantial caffeine are potentially disrupt the fetus and placenta.

The use of caffeine as inducer compounds based on studies in animals during pregnancy, caffeine can cause skeletal abnormalities in the mice fetus. The use of propolis in this study was based on the role of propolis can accelerate osteogenesis, significantly increase the number of osteoblasts, and affect bone metabolism. The use of milk in this study was based on the knowledge that milk is a source of calcium and phosphorus which is very good for the growth of bones and teeth. In addition, milk is safe for consumption by pregnant women and is an antidote to the toxic substances that can harm pregnant women by chelating these harmful substances. Experiment D1 between propolis with caffeine was done because the content based on propolis chrysin can reduce the maximum concentration of caffeine in plasma, thus being a protective agent for the negative effects caused by caffeine. Later experiments D2 between milk and caffeine was done because milk is an antidote to neutralize the negative effects caused by caffeine.

Caffeine dose used in this study was 75 mg/kg BW, it is based on previous research that says that mice are more sensitive and malformations occurred in mice induced by caffeine at a dose of 75 mg/kg BW. Propolis dose used in this study were taken from 1/5 of the LD50 in mice. Propolis LD50 in mice is 7340 mg/kgBW (Burdock, 1998), so we get 1/5 of the LD50 dose is 1400 mg/kgBW. The use of propolis dose of 1400 mg/kgBW as the positive group based on the research conducted by Burdock in 1998 stated that the NOAEL (No Adverse Effect Level) of the mice were given a dose of 1400 mg propolis/kgBW for 90 days. And the milk dose used in this study was 200 ml by human daily consumption patterns in general.

Experimental animals used in this study were female white mice at the age of approximately two months, had a body weight of 20-30 grams and had never given birth. White mice were used as experimental animals because they have a short gestation period,

the high number of fetuses, simple handling, the price is relatively cheap and easy to obtain. In addition, in some research, mice are more susceptible to teratogens than other experimental animals.

Before being treated, mice were acclimatized for ten days to get the animals in the experimental conditions and avoid stress during treatment. Acclimatization for 10 days was also aimed to observe the estrous cycle. Female animals should have regular estrous cycles. This needs to be done in order to avoid false pregnancy even if the vaginal plug were found during mating. Observations of estrous cycle can be done visually by looking at the mice vagina as reddish, open and slightly damp.

**Table 1. The Average Body Weight of Mice During Pregnancy**

Day to-	Average Body Weight of Mice					
	K-	K + Caffeine	K + Propolis	K + Milk	D1	D2
6	25.9	27.02	27.1	26.28	26.6	26
7	27.2	28.16	28	27.48	26.76	26.46
8	27.7	28.9	28.12	28.04	27.08	26.9
9	28.4	29.02	28.78	28.78	28.02	27.58
10	29.8	29.54	29.8	29.88	28.68	28.18
11	31.3	30.2	30.4	30.86	29.38	28.94
12	32.3	31.02	30.8	32.66	29.98	30.42
13	33.8	32.86	32.42	34.12	30.48	31.88
14	35.6	33.04	33.18	35.38	31.54	33.04
15	37	36.02	35	36.58	33.46	34.34
16	38.7	37.6	36.44	37.62	36.08	35.48
17	39.9	38.8	39.1	38.34	37.88	37.4
X ± SD	32.3 ± 4.71	31.85 ± 3.86	31.51 ± 3.59	32.17 ± 4.2	30.49 ± 3.66	30.55 ± 3.83

**Information:**

K-: Negative Group (Aquadest)

K + Caffeine: Propolis Positive Group dose of 75 mg / kgBW

K + Propolis: Positive Group dose of 1400 mg caffeine / kgBW

K + Milk: Milk Positive Group dose of 200 ml

D1 (Dose 1): The caffeine dose of 75 mg / kgBW + Propolis dose of 1400 mg / kg BW

D2 (Dose 2): The caffeine dose of 75 mg / kgBW dose + Milk 200 ml

Giving the test preparation carried out for ten days beginning on the 6th day and ending on the 15th day because at this time the fetus is during the period of organogenesis. In this organogenesis period, the fetus is very vulnerable to teratogenic compounds and at

this time the embryo organ began to take shape such as the eye, brain, heart, skeleton, urogenital. This period is referred to as the critical period of pregnancy. On day 1 until the 5th of gestation, mice were not given the test preparation because at the moment there are totipotency properties in the fetus that can repair damaged tissue. On day 16 and onwards, teratogen compound did not cause morphological defects but resulted in dysfunctional disorders that can not be detected immediately after birth.

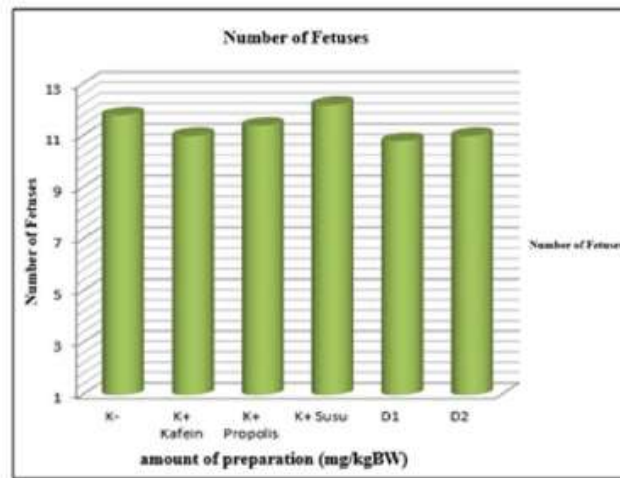


Figure 1. Number of Fetuses

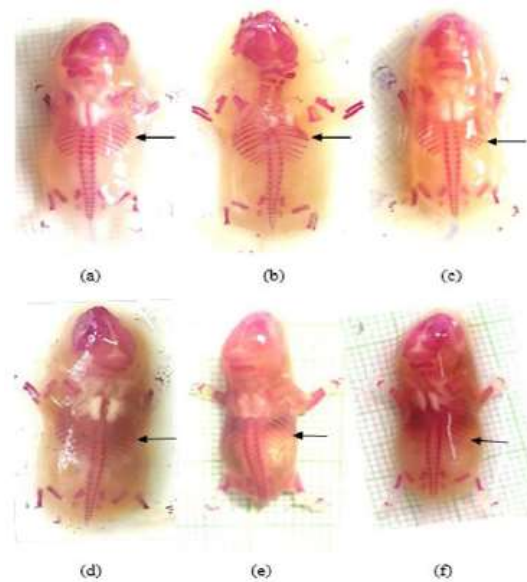
Observation of the increase in parent body weight during gestation to see the state of the parent of nutrition and health in general. In this case, the weighing is done from the time of administration of the compound to laparotomy, as it aims to see how the influence of the compound on mice (Table 1).

The increase in mice body weight, seen in the 6th to 8th gestation, yet an increase in mice body weight is large enough. The increase in mice body weight is likely to increase at day 11 to 17 of pregnancy. The increase is due to the development of mice fetal and increased volume of amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. The number of fetus also affect the increase in body weight of mice parent, generally, the greater the increase of total fetus, the greater increase in body weight of the mother (Figure 1).

To see the effect of the test preparation to the fetal mice, then on day 17 of pregnancy performed laparotomy is spending parent fetus from the uterus. This is done because the mice gave birth spontaneously, tend to eat the defective, dead and nearly die offspring so

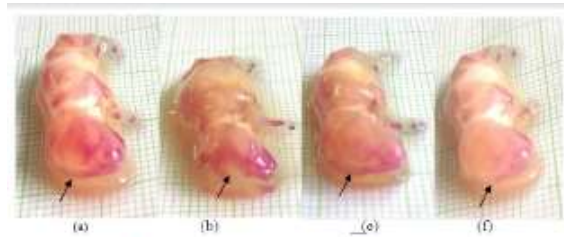
that it can affect the results of the calculation data. Besides, laparotomy was conducted to observe whether or not the resorption site that is the red or brownish-yellow blob on the former site of fetus implantation of the uterus.

Hemorrhage happen spontaneously due to platelet dysfunction. Hemorrhage is a discharge of blood from the cardiovascular system is accompanied by accumulation of tissue. A foreign substance in the network can change the osmotic pressure. Osmotic imbalance can be caused due to an interruption of pressure and viscosity of the liquid in different parts of the fetus such as the blood plasma and capillary extra space. This osmotic imbalance was caused by the concentration of methylxanthine in high fetal blood vessels. Methylxanthine high concentration can inhibit enzymes that hydrolyze cAMP phosphodiesterase, thereby increasing the amount of cAMP. The increase in cAMP causes blood vessels to dilate. It could also be the cause of hemorrhage. In pregnancy frequent hemorrhage shock. Hemorrhage shock can also be diagnosed with changes in body temperature. Hyperthermia is a failure condition regulation of body temperature (thermoregulation) due to the inability of the body to release heat or excessive heat production by the body to release heat at a normal rate. Therefore, the possibility of hyperthermia can lead to hemorrhage.

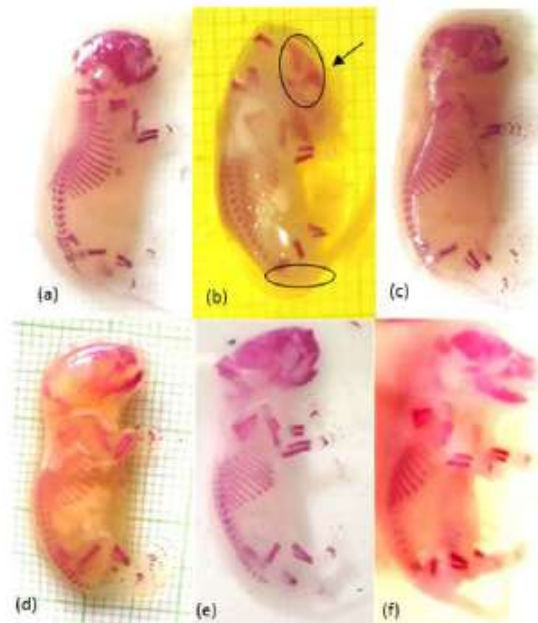


**Figure 2. The Observation After The Fetuses Was Fixed With A Solution of Alizarin Red in Each Treatment Group (Differences in Ribs, Pointed By Arrow)**

Growth inhibition occurs when a teratogen agents affecting cell proliferation, cell interaction, and a reduction in the rate of biosynthesis-related barriers to the synthesis of nucleic acids, proteins or mucopolysaccharides. Teratogen compounds with low dose capable of causing the death of some cells and can also cause cell turnover because of fetal cells have high regeneration ability. If one or a group of cells damaged by the interruption of toxic agents, the surrounding normal cells will divide and replace cells that are damaged. Substitution of damaged fetal cells will be maintained during the period of organogenesis in order to form a normal morphology. If that fails or does not reach the target in organogenesis phase, it will cause fetal malformations.



**Figure 3. The Observation After The Fetuses was Fixed With A Solution of Alizarin Red in Each Treatment Group (differences in tail, pointed by arrow)**



**Figure 4. The observation after the fetuses was fixed with a solution of Alizarin red in each treatment group (differences in skull, pointed by arrow)**

Fetal growth restriction may be caused by disruption of cell division, so that the synthesis of nucleic acids and proteins are disturbed. Fetal growth proliferation by mitosis and cell proliferation rate is a function of the speed of growth. Giving caffeine during organogenesis is potentially causing delayed embryonic development because caffeine can decrease the activity of DNA polymerase enzyme, induces mitotic cells before DNA replication perfect ending, as well as inhibiting the enzyme phosphodiesterase. Therefore it can be restricted growth fetuses.

From the results of fetuses with alizarin red soaking dosing 1 and 2, bone disorders are not found. Such as those disorders found in the positive group of caffeine. In normal fetuses the skull, ribs, and coccyx normal. All observed after the fetus is immersed in a solution of alizarin red - KOH 1% that causes the fetus becomes transparent and the bone becomes dark red so that shape of bones can be observed. In the administration of caffeine at the dose of 75 mg/kg, it was found that the ribs were not fused, abnormalities of the fetal skull, and no tail. These is caused by caffeine, due to reduced amount of calcium, thus deficiency of calcium (Figure 2, 3, 4).

The absence of bone abnormalities in the first dose group fetus given caffeine is because propolis. Propolis contains flavonoids chrysin to lower the concentration of caffeine in plasma in vivo. Later in the dose group 2 fetus given milk and caffeine are also no bone disorders found, because milk may act as antidotes simultaneously nourish the fetus with calcium contained in milk, so that calcium deficiency caused by caffeine is not the case.

On the caffeine positive group, fetus has a skeleton with a perfect ossification. This is due to internal factors, the hormone that may maintain bone mass. A study stated that the hormone is one of the factors that influence whether or not the bones strong. Hormones are natural substances made by specialized cells in the body. Hormones circulate in the bloodstream and can affect the activity of cells in various places in the body. Also, the hormone can also help limit the amount of bone resorption. These is made clear by another study that showed the estrogen hormone deficiency can cause osteoporosis in mice.

#### Conclusion

It can be concluded that the administration of propolis at the dose of 1400 mg/kg BW and 200 ml of milk can repair skeletal damage caused by caffeine induction.



## 5.7 Uji Efek Teratogenik dari Yoghurt terhadap Fetus Mencit Putih (*Mus musculus*)

Dwisari Dillasamola, Almahdy, Amirah Desri, Skunda Diliarosta

*Jurnal Sains Farmasi & Klinis* | Vol. 05 No. 01 | April 2018

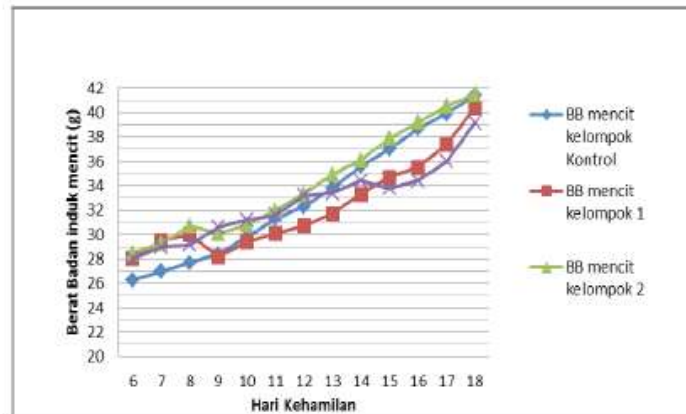
### Abstrak

Yoghurt merupakan salah satu olahan susu yang dibuat dengan fermentasi asam laktat yaitu bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Pada penelitian ini dilakukan uji efek teratogen dari yoghurt terhadap fetus mencit putih betina (*Mus musculus*). Induk mencit putih betina sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol, D1, D2, dan D3 berturut-turut yaitu 0,52 gram; 1,04 gram; dan 2,08 gram yoghurt. Data hasil penelitian diolah menggunakan ANOVA Satu Arah dan uji wilayah berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian yoghurt selama kehamilan dapat mempengaruhi berat badan induk mencit ( $p < 0,05$ ). Pemberian yoghurt selama kehamilan tidak mempengaruhi jumlah fetus, dan berat badan fetus secara bermakna ( $p > 0,05$ ). Pengamatan secara cacat morfologi tidak ditemukan cacat skeletal setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun ditemukan cacat visceral cleft palate fetus mencit pada kelompok dosis 2,08 gram. Dapat disimpulkan yoghurt aman dikonsumsi pada kelompok dosis 0,52 gram dan dosis 1,04 gram. Yoghurt berpotensi menyebabkan teratogen pada beberapa fetus kelompok dosis 2,08 gram.

### Hasil dan Pembahasan

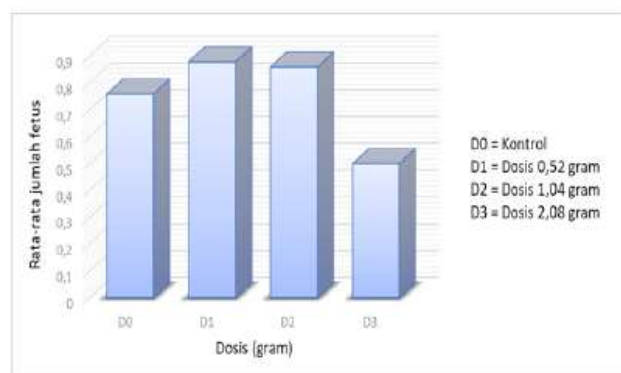
Uji teratogenik dari yoghurt terhadap mencit putih bertujuan untuk melihat efek teratogen yang dapat ditimbulkan dari konsumsi yoghurt yang berlebihan. Hal ini penting terutama bagi ibu hamil agar dapat terhindar dari bahaya teratogen. Kandungan dari yoghurt yang diperkirakan dapat menyebabkan teratogen adalah Asam Laktat. Pemberian yoghurt yang berlebihan dapat memberikan efek teratogen pada mencit sebagai hewan uji. Pada kelompok D1 pemberian sediaan uji tidak mempengaruhi induk mencit maupun fetus mencit. Berat badan induk mencit selama kehamilan tidak mengalami penurunan berat badan. Jumlah fetus setelah dilaparotomi rata-rata normal, tetapi ada satu induk dengan berat yang normal tetapi hanya memiliki dua fetus setelah dilaparotomi. Berdasarkan hasil pengamatan, kedua fetus tersebut memiliki berat badan normal dan tidak mengalami kecacatan. Selain itu, pada induk mencit lainnya ditemukan empat ekor fetus dalam keadaan mati saat dikeluarkan dari uterus induknya. Hal ini disebabkan karena adanya kerentanan individu terhadap lingkungan, sedangkan fetus mencit lainnya berada dalam keadaan normal. Kematian fetus saat lahir tidak terjadi pada semua fetus dari induk mencit yang sama. Matinya fetus diduga, hal ini disebabkan oleh adanya faktor kerentanan genetik

(kepekaan) dari fetus tersebut terhadap senyawa yang terdapat pada yoghurt. Kelahiran fetus yang tidak bernyawa dicirikan dengan tidak adanya pergerakan fetus saat dikeluarkan dari uterus.



**Gambar 1.** Perubahan berat badan rata-rata induk mencit pada masa kritis kehamilan selama pemberian yoghurt untuk tiap kelompok perlakuan

Pada kelompok D2 berat badan induk mencit normal, tetapi pada saat laparatomi ditemukan satu ekor fetus pada satu induk yang mengalami tapak resorpsi dan dalam keadaan mati saat dikeluarkan dari uterus induknya. Tapak resorpsi merupakan gumpalan merah yang tertanam pada uterus yang disebabkan oleh pengaruh pemberian yoghurt pada masa organogenesis. Pada masa ini tidak terdapat sifat totipotensi sehingga tidak terjadi perbaikan kerusakan pada jaringan serta tidak terjadi perkembangan selanjutnya. Akibatnya fetus mati dan terbentuk gumpalan merah.

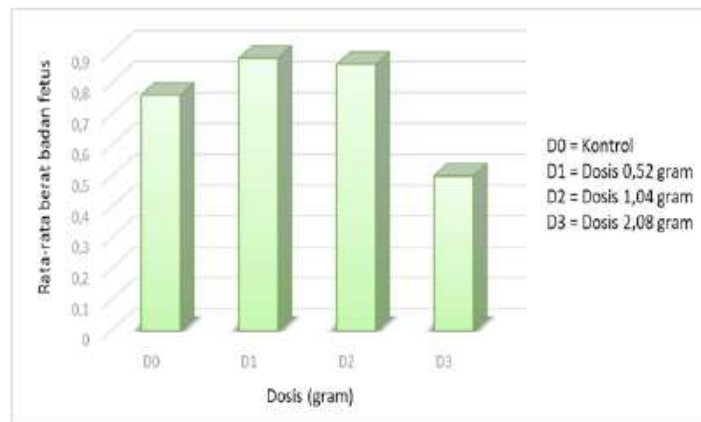


**Gambar 2.** Jumlah rata-rata fetus pada masing-masing kelompok

Pada kelompok D3 dua ekor mencit mengalami pendarahan pada hari kehamilan ke-14. Pendarahan ini disebabkan oleh kondisi patologis atau ketidakseimbangan osmotik

yang disebabkan gangguan tekanan dan viskositas cairan pada embrio yang berbeda antara plasma dan ruang ekstrasvaskular atau cairan ekstra dan intra embrionik. Perbedaan ini menyebabkan pembuluh darah pecah. Ketidakseimbangan osmotik ini disebabkan oleh konsentrasi asam laktat yang tinggi di pembuluh darah fetus. Hal ini dikarenakan jumlah yoghurt yang diberikan tinggi dan metabolisme fetus belum sempurna, sehingga menyebabkan penumpukan asam laktat di darah.

Penumpukan asam laktat menyebabkan pembuluh darah pecah sehingga terjadi keguguran. Pada induk mencit lainnya, terdapat lima fetus yang mengalami haemoragi pada bagian perut. Haemoragi spontan dapat disebabkan akibat disfungsi trombosit. Hal ini disebabkan adanya gangguan sirkulasi darah. Konsumsi yoghurt yang berlebihan dapat meningkatkan keasaman darah (menurunkan pH darah). Penumpukan asam laktat dapat mengganggu integritas seluler dan dapat menghancurkan jaringan janin.



**Gambar 3.** Rata-rata berat badan fetus setelah dilaparotomi

Hasil penelitian pada uji teratogenitas dari yoghurt terhadap fetus mencit menunjukkan Pemberian yoghurt pada kelompok D1 (0,52 gram), D2 (1,04 gram), dan D3 (2,08 gram) dapat mempengaruhi berat badan induk mencit selama kehamilan secara bermakna ( $P < 0,05$ ), sebagaimana telah ditunjukkan oleh Gambar 1, tetapi tidak mempengaruhi jumlah rata-rata fetus, pada Gambar 2, dan berat badan rata-rata fetus pada Gambar 3 menunjukkan hasil secara bermakna ( $P > 0,05$ ). Keadaan ini disebabkan karena berkembangnya fetus mencit dan bertambahnya volume cairan amnion, plasenta, serta selaput amnion. Selain itu, jumlah fetus juga mempengaruhi kenaikan berat badan induk mencit. Hasil pengamatan terhadap rata-rata jumlah fetus dapat dilihat pada lampiran. Pemberian yoghurt D1 dan D2 secara berturut-turut menghasilkan rata-rata jumlah fetus 10

ekor dan 11 ekor. Sedangkan pemberian yoghurt D3 menghasilkan 11 ekor dari induk 1, enam ekor dari induk 3 dan tujuh ekor dari induk 5. Dua induk lainnya mengalami pendarahan pada hari ke- 14 kehamilan. Akan tetapi, jumlah fetus pada kelompok D1, D2, dan D3 tidak berbeda secara nyata dengan jumlah fetus kelompok kontrol. Dengan kata lain, secara statistika menggunakan Analisa Varian satu arah dapat dikatakan bahwa pemberian yoghurt tidak mempengaruhi jumlah fetus secara bermakna.

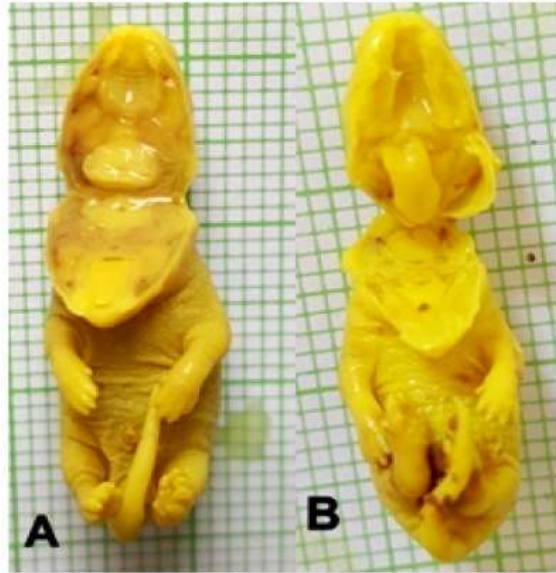


Gambar 4. Teratogenik dari Yoghurt : Tapak resorpsi



Gambar 5. Teratogenik dari yoghurt yang mengalami haemoragi

Pemberian sediaan uji pada kelompok D1 ditemukan 4 ekor fetus dengan berat badan yang rendah dan dengan kondisi mati pada satu induk mencit. Pemberian sediaan uji pada kelompok D2 ditemukan tapak resorpsi dari satu ekor induk dalam kondisi mati seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4, dan pemberian sediaan uji pada kelompok D3 ditemukan adanya pendarahan pada dua ekor induk mencit berbeda. Lima ekor mencit mengalami haemoragi dan juga ditemukan tapak resorpsi pada induk mencit yang berbeda pada Gambar 5.



Gambar 6. Fetus (A) normal dan (B) Cleft Palate

Pendarahan ini disebabkan oleh kondisi patologis atau ketidakseimbangan osmotik yang disebabkan gangguan tekanan dan viskositas cairan pada embrio yang berbeda antara plasma dan ruang ekstravaskular atau cairan ekstra dan intra embrionik. Perbedaan ini menyebabkan pembuluh darah pecah. Pada induk mencit lainnya, terdapat lima fetus yang mengalami haemoragi pada bagian perut. Haemoragi spontan dapat disebabkan akibat disfungsi trombosit. Selain itu, jumlah fetus mencit pada dua ekor induk mencit tidak mencapai 10 ekor fetus.

Pada pengamatan secara morfologis berdasarkan hasil fiksasi fetus mencit dengan larutan Alizarin merah terhadap terhadap kelompok D1, D2, dan D3 menunjukkan pertulangan yang normal. Hal ini dilihat dari pengamatan dari tulang dada, tulang kaki, dan jari-jari kaki, pada setiap kelompok setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada pengamatan secara morfologis berdasarkan hasil fiksasi fetus mencit dengan larutan Bouin's tidak ditemukan kelainan morfologis pada fetus mencit kelompok D1 dan D2 tetapi pada kelompok D3 ditemukan adanya cacat pada celah langit-langit atau cleft palate pada dua ekor fetus dari induk yang berbeda setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol, seperti yang terlihat pada Gambar 6.

Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa konsumsi yoghurt secara berlebihan dapat menyebabkan efek teratogen bagi fetus, sehingga ibu hamil disarankan untuk tidak mengkonsumsi yoghurt secara berlebihan.

## Kesimpulan

Dari uji teratogenitas yoghurt yang dilakukan secara *in vivo* dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian yoghurt selama kehamilan dapat mempengaruhi berat badan induk mencit dan tidak mempengaruhi jumlah fetus, serta berat badan fetus secara bermakna selama kehamilan.

### **5.8 Pengaruh Pemberian Teh Hijau dan Propolis terhadap Jumlah dan Motilitas Spermatozoa serta Berat Testis Mencit Putih Jantan (*Mus musculus L*) yang Diinduksi Etanol**

Dwisari Dillasamola, Yufri Aldi, Ike Supriwardi, Skunda Diliarosta, Biomechy Oktomaliop

*SCIENTIA* Vol. 8 No. 1, Februari 2018

#### Abstrak

Teh Hijau dan Propolis memiliki kandungan senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan untuk melawan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek kandungan polifenol dalam teh hijau dan propolis terhadap kualitas spermatozoa mencit dan testis mencit yang diinduksi dengan etanol, yaitu dengan mengamati kenaikan jumlah dan motilitas spermatozoa dengan alat Hemasitometer *Improve Neubeur* serta kenaikan berat testis mencit. Mencit diinduksi etanol dengan dosis 2,8 g/kg BB secara intraperitoneal kemudian diberi produk Teh Hijau dosis 137 mg/kgBB dan propolis dosis 1400 mg/kgBB serta akuades secara oral selama 35 hari. Pemberian propolis dan teh hijau diketahui meningkatkan jumlah dan motilitas spermatozoa serta berat testis mencit yang efek optimal ditunjukkan pada pemberian propolis. Hasil dari uji statistik dengan ANOVA satu arah menggambarkan bahwa teh hijau dan propolis memberikan efek peningkatan jumlah dan motilitas spermatozoa serta berat testis dan juga memiliki efektifitas sebagai agen antioksidan pada organ reproduksi jantan yang dipapar dengan etanol.

#### Hasil dan Pembahasan

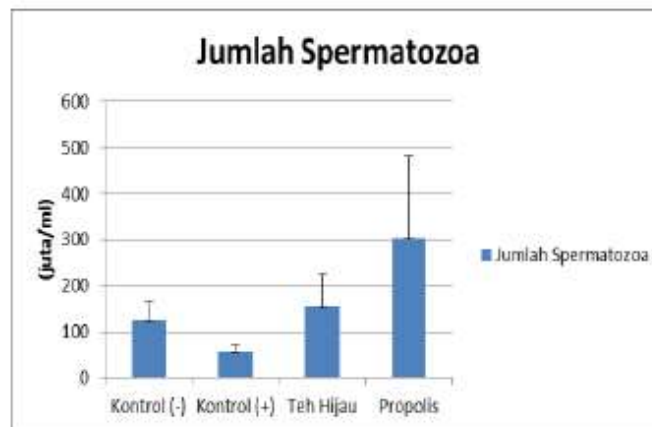
Dari hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan nyata antara mencit yang hanya diberi akuades dengan mencit yang diinduksi etanol serta mencit yang diberi perlakuan. Pada parameter jumlah dan motilitas spermatozoa mencit, kelompok perlakuan propolis menunjukkan jumlah rata-rata tertinggi diantara 3 kelompok lainnya.. Pada pengamatan berat testis mencit, peningkatan berat testis juga signifikan dan tinggi pada kelompok perlakuan propolis yang kemudian diikuti kelompok Teh Hijau Tong Tji lalu kontrol negatif dan positif.

Perbedaan yang terlihat mengindikasikan adanya penurunan kualitas sperma berupa penurunan jumlah spermatozoa dari mencit yang hanya diberi akuades yaitu ( $124,2 \pm 41,7$

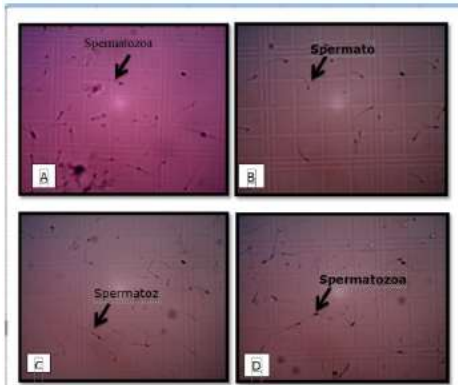
juta/ml) ke mencit yang diinduksi etanol yaitu ( $56,6 \pm 14,8$  juta/ml). Selain itu, penurunan kualitas spermatozoa juga ditandai dengan adanya penurunan persentase motilitas spermatozoa dari mencit yang hanya diberi akuades yaitu ( $32,8 \pm 13,98$ ) % ke mencit yang diinduksi etanol ( $22 \pm 9,97$ ) %.

**Tabel 1.** Hasil Perhitungan Rata-rata Jumlah Spermatozoa Mencit

Mencit	Rata-rata jumlah Spermatozoa (juta/ml) $\pm$ SD (Standar Deviasi)			
	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Teh Hijau 137 mg/kg BB	Propolis 1400 mg/kg BB
1	78	49	124	276
2	145	47	181	264
3	127	33	66	76
4	90	74	152	321
5	181	55	252	576
Rata-rata $\pm$ SD	124,2 $\pm$ 41,7	51,6 $\pm$ 14,8	155,0 $\pm$ 68,8	302,6 $\pm$ 179,3

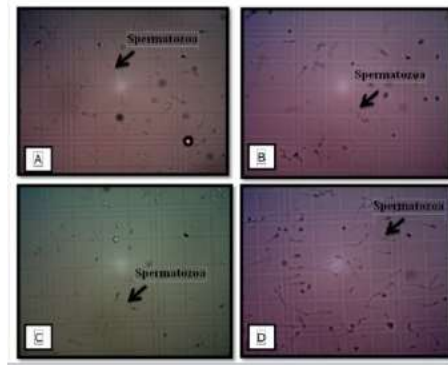


**Diagram 1.** Rata-rata Jumlah Spermatozoa



**Gambar 1.** Jumlah Spermatozoa pada Kamar Hitung Hemasitometer *Improve Neubeur*

- A. Kontrol (-)
- B. Kontrol (+)
- C. Teh Hijau
- D. Propolis

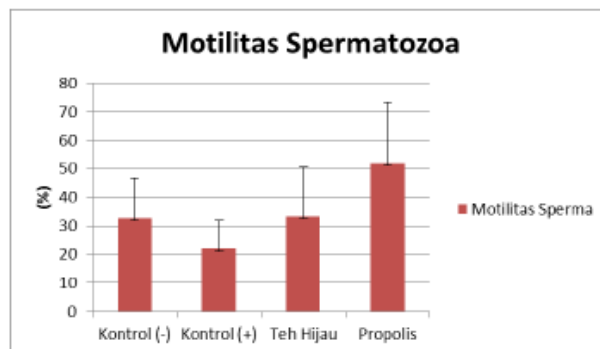


**Gambar 2.** Motilitas Spermatozoa pada Kamar Hitung Hemasitometer *Improve Neubeur*

- A. Kontrol (-)
- B. Kontrol (+)
- C. Teh Hijau
- D. Propolis

**Tabel 2.** Hasil Perhitungan Rata-rata Persentase Motilitas Spermatozoa Mencit

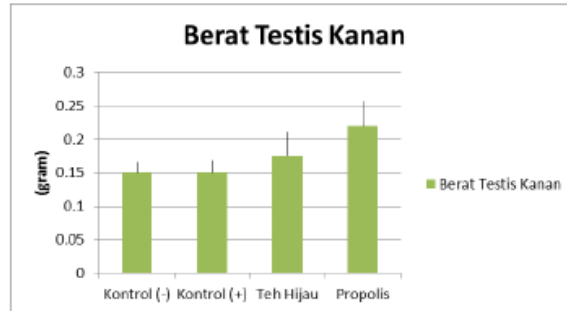
Mencit	Persentase Motilitas Spermatozoa (%) ± SD (Standar Deviasi)			
	Kontrol Normal	Kontrol Etanol	Kelompok Teh Hijau 137 mg/kgBB	Kelompok Propolis 28 mg/20 g BB
1	41	22	46	62
2	48	34	54	59
3	30	29	33	35
4	11	9	12	26
5	34	16	22	78
Rata-rata ± SD	32,8 ± 13,98	22 ± 9,97	33,4 ± 17,11	52 ± 21,15



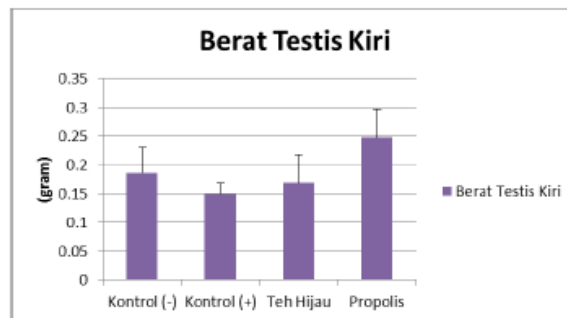
**Diagram 2.** Rata-rata persentase motilitas spermatozoa



Dari tabel, diagram dan gambar terlihat hasil perhitungan rata-rata jumlah dan motilitas spermatozoa mencit tertinggi pada kelompok propolis kemudian teh hijau, lalu kontrol negatif dan kontrol positif.



**Diagram 3. Berat Testis Kanan Mencit**



**Diagram 4. Berat Testis Kiri Mencit**

Pada pengukuran berat testis diperoleh hasil seperti pada diagram 3 dan 4. Untuk nilai rata-rata berat testis (kanan dan kiri) tertinggi yaitu pada kelompok pemberian Propolis. Sementara untuk nilai rata-rata tertinggi selanjutnya berbeda untuk testis kanan dan kiri. Pada testis kanan nilai rata-rata berat testis tertinggi setelah kelompok propolis yaitu kelompok teh hijau, sementara testis kiri yaitu kelompok kontrol negatif.

Selanjutnya dilakukan analisis statistik. Analisis statistik yang digunakan adalah ANOVA (analisis varian). Uji ANOVA yang digunakan adalah ANOVA satu arah. Uji ANOVA satu arah disebut juga dengan uji F. Pada pengujian ANOVA satu arah untuk parameter jumlah spermatozoa diperoleh  $F_{hitung} > F_{tabel}$  artinya pemberian teh hijau dan propolis mempengaruhi jumlah spermatozoa mencit dengan perbedaan yang signifikan atau bermakna antar kelompoknya. Pada parameter motilitas spermatozoa diperoleh  $F_{hitung} < F_{tabel}$  artinya pemberian teh hijau dan propolis tidak mempengaruhi motilitas spermatozoa mencit. Analisa statistik untuk parameter berat testis menunjukkan  $F_{hitung} >$

F tabel artinya pemberian teh hijau dan propolis mempengaruhi berat testis mencit dengan perbedaan yang signifikan atau bermakna antar kelompoknya.

Analisa lanjut menggunakan uji lanjutan Duncan menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, Teh Hijau Tong Tji® dengan pemberian Propolis berada pada dua subset yang berbeda, artinya terdapat beda yang signifikan antara kelompok kontrol, pemberian Teh Hijau dengan pemberian Propolis. Data yang signifikan ini juga dianalisa dengan Uji T, uji T dilakukan untuk membandingkan dua kelompok perlakuan yang tidak berhubungan. Dalam penelitian ini, uji T dilakukan terhadap kelompok Teh Hijau dan Propolis serta Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.

Uji T untuk parameter jumlah rata-rata spermatozoa antara kelompok Teh Hijau dan Propolis menunjukkan varian yang sama, artinya antara kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan terhadap parameter uji. Pada kelompok kontrol negatif dan positif dihasilkan varian yang berbeda antara kelompok. Artinya pengaruh perlakuan kontrol (-) dan kontrol (+) berbeda secara signifikan terhadap parameter uji.

Uji T untuk parameter motilitas spermatozoa tidak dilakukan karena dari hasil ANOVA diketahui bahwa perlakuan yang diberikan kepada hewan percobaan tidak mempengaruhi motilitas spermatozoa. Uji T untuk parameter berat testis kelompok Teh Hijau dan Propolis juga menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap parameter uji. Namun pada kelompok kontrol positif dan negatif hasil yang diperoleh menunjukkan varian yang sama. Artinya pengaruh kelompok kontrol negatif dan positif tidak berbeda secara nyata terhadap parameter uji.

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian induksi etanol (dosis 2,8 g/kgBB ) dapat menurunkan jumlah dan motilitas spermatozoa serta berat testis mencit putih jantan (*Mus musculus*. L). Pemberian Teh Hijau Tong Tji® dosis 137 mg/kgBB dan Propolis dosis 1400 mg/kgBB selama 35 hari berpengaruh meningkatkan jumlah spermatozoa dan berat testis mencit serta tidak berpengaruh terhadap peningkatan motilitas spermatozoa mencit putih jantan (*Mus musculus* L).

## 5.9 The Effect of Radiation Exposure from Smartphone to Fetus Mice

Almahdy, Dillasamola D, Irene O, and Biomechy Oktomaliao P

*Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*

### Abstract

A study on the effect of radiation exposure in pregnant mice against fetal anomalies have been done. A number of 20 pregnant mice were divided into four groups. The first group was the control group which did not expose to smartphone radiation. Groups 2-4 were expose to smartphone radiation for 15, 30 and 60 minute. Radiation exposure were given on day 6th to 18th of pregnancy. After the 18th day of pregnancy, animals were laparatomy. The observation parameters were body weight of the parent, number of viable fetuses, the number of dead fetuses, observation of defects in the fetus, and the observation results of fixation. The data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) with significance level of 5%. The result showed that pregnant mice were exposed smartphone radiation for 15, 30 and 60 minutes had low body weight compared to control group. The mice exposed for 15 and 30 minutes consist slower growth compared to 60 minutes exposure. Fetus disability cleft palate, and treads haemorrhagic resorption in radiation exposure for 60 minutes. It can be concluded that exposure of smartphone radiation to pregnant mice would affected growth of pregnancy and produced visceral defect fetus.

### Results and Discussion

In this study used smartphone type of Samsung as a media presenter electromagnetic wave radiation to the fetus mice. Radiation is a teratogen agents produced by environmental factors. Smartphone can emit radiation in the form of electromagnetic waves with a frequency of 900-1200 MHz. Besides the rapid use of smartphones last few years has raised concerns about the health risks caused by radiation of the smartphone. This is evidenced by the increasing number of studies on the dangers of smartphones and some of its produce defects in laboratory animals. In pregnant women radiation teratogen is an agent that can injure the developing embryo and can cause cell death or injury of chromosomes. The severity and damage to the embryo depends on exposure and stage of development). In the phase of organogenesis is the most vulnerable period of disability. This period witnessed a very intensive differentiation cells forming organs, so that the fetus is very sensitive to teratogenic substances. Observations of weight gain during pregnancy performed parent to see the state of nutrition and general health of the mother. In this period the weighing is done from the time of administration of the compound to laparatomi, which aims to see how the influence of the parent compound to mice. From the graph changes in body weight of mice its seen on day 6 to day 8 of pregnancy, weight gain

has not happened yet large enough parent mice. The weight gain seen tend to increase parent mice on day 9 until day 18 of pregnancy. The increase is due to the development of fetal mice and increased volume of amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. Total fetus also affect weight gain parent mice. Generally, the greater the weight gain, the parent, the more chances that the fetus will be born.

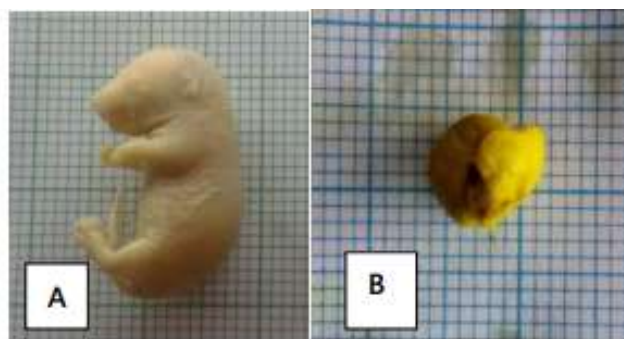
The observation of the parent mice performed during administration of radiation exposure up time will be laparotomi. The average weight gain during pregnancy the parent of mice in the control group, 15 minutes, 30 minutes and 60 minutes respectively was  $39.9 \pm 5.78$  grams;  $40.4 \pm 4.66$  grams;  $41.1 \pm 4.37$  grams;  $42.9 \pm 5.47$  grams. From these data no significant differences seen after administration of radiation exposure compared with the control group ( $P > 0.05$ ). This means that the treatment accorded not toxic to the parent mice.

Based on statistics obtained from the percentage difference between the parent body weight of mice during pregnancy in a group of 15 and 30 minutes look parent mice experienced a pregnancy progresses slower than the control group and the group 60 minutes experienced a fast development during pregnancy. This is certainly a question of why the low-dose radiation exposure led to the slow development compared radiation exposure with higher doses. This is due to the effects of radiation which can occur in non-target cells are cells that do not receive direct radiation exposure.

Radiation interacts with cells directly and transferring energy in the cell to cause a response or effect. It turned out that cells are not exposed to radiation able to respond as well as cells exposed to radiation and the effect is called the bystander effect. In the range of low-dose exposure bystander effect can be a mutation, chromosomal damage and cell transformation. Bystander effect occurs in non-target cells located around the cell which was exposed by radiation. Clearly, no bystander cells in said radiation or alpha particles crossed but receives a signal or factors secreted by cells in irradiation so as to cause a response in by stander cells. So, this effect could potentially improve the effectiveness of radiation biology at low dose by increasing the number of damaged cells in excess of cells that are directly exposed to radiation. Based on the data obtained in the group 60 minutes are known to experience rapid development during pregnancy that this is due to the adaptive response of cells to radiation exposure or obtain any response radio adaptive.

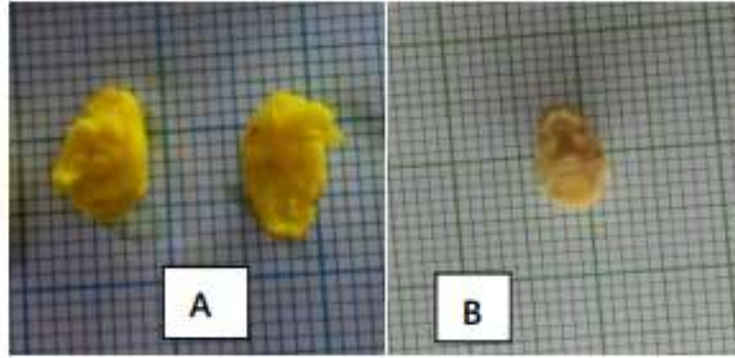
Adaptive response is a biological phenomenon that describes their resistance to high doses of radiation exposure after a single or multiple radiation exposure to the lowest dose. But did not rule on a higher dose of radiation exposure that is given will cause interference with the development of the pregnancy and the fetus effect is called the defect.

Observations on granting the group exposure to radiation for 15 minutes and 30 minutes of not finding teratogenic effects on the fetus were born either weight or the number of dead fetuses. Whereas in the group giving exposure to radiation for 60 minutes found a footprint resorption on one parent mice. Resorption their footprint in the form of a red blob that is embedded in the uterus allegedly caused by the effect of radiation exposure during organogenesis. At this time there are no longer totipotention nature that it can not repair damage to the network and there is no further developments. As a result of fetal death and formed a red blob. Still in the experimental group 60 minutes, found two tails fetuses who have died on two different parent of mice. Death of fetal mice were thought to be caused by the presence of a genetic vulnerability factor (sensitivity) of the fetus as an individual against exposure to radiation emitted by smartphone.



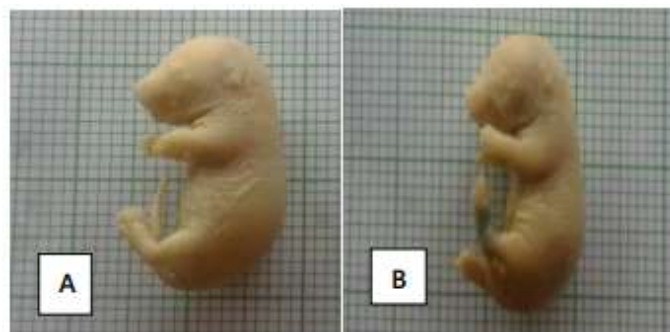
**Figure 1: Tread resorption in fetal mice were given exposure to radiation for 60 minutes**

In the treatment of the provision of radiation exposure for 60 minutes also found teratogenic effects in the form of cleft palate that is not the discovery of cracks in the ceiling 3 heads fetus from different mice. Observations cleft palate is done by cutting the head from the mouth area to the rear right mid earlobe until his head was separated into two parts. Having disposed of the fetus tongue found the ceilings are not able to close. Cleft palate occurs because of interference during the process of closing tissues in the ceiling caused by exposure to radiation by smartphone.



**Figure 2: Fetal cleft palate (the presence of a crack in the ceiling)**

It is also found on the legs haemorrhagic fetus distinct from the parent of mice given radiation exposure for 60 minutes. This is caused by blood circulation disorders. The system has a normal blood vessel endothelial lining is soft and slippery, platelets and fibrin are not easily attached. Endothelium intact nongenetic thrombus because endothelial cells produce some substances such as prostaglandin (PG12), proteoglycans, plasminogen activator and trombo-modulin, which can prevent the formation of thrombin. When endothelial damage when spurred by exposure to radiation, then the sub-endothelial tissue will be exposed. This situation will cause the clotting system is activated and platelets will be attached to the subendothelial tissue, especially collagen fibers, the basement membrane and micro-fibrils. Platelets are attached will release adenosine diphosphate and thromboxane A2 which will stimulate others still circulating platelets to change shape and stick together. Damage to the endothelial cells themselves will also activate the clotting system, forming thrombus.



**Figure 3: Haemorrhagic fetal mice**

Periods of these vulnerabilities can be concluded that the administration of radiation exposure for 15 minutes and 30 minutes did not cause defects in the fetus. however led to

the slow development of the mother mice during pregnancy. While the administration of radiation exposure for 60 minutes led to the increasing development of the mother mice during pregnancy, but in giving exposure to longer potentially cause defects in the fetus that is in the group of giving exposure to radiation for 60 minutes on days susceptible. In the treatment group 60 minutes also found two dead fetuses tail of a different parent. Stillborn characterized by the absence of fetal movement when removed from the uterus. Fetal death does not occur in every parent because different abilities of each parent to metabolize the drug. Embryotoxic effect of a substance can occur if it accumulates in the embryo that is genetically susceptible.

From this teratogenicity test results shows that there are a number of fetal abnormalities. However, the potential teratogen of radiation smartphone is still uncertain because of the nature of susceptibility between individuals although derived from the same parent. In this study, environmental factors such as infections, vitamin deficiencies are also potentially teratogenic to a fetus is not observed. Therefore, they need to do similar research using other species.

#### Conclusion

From test teratogenicity Award radiation exposure by smartphones in vivo can be concluded that: Provision of exposure to radiation from the smartphone for 15 minutes and 30 minutes led to slower development on the weight of parent bodies of mice during pregnancy but at giving exposure to radiation for 60 minutes led to the development faster on the parent body weight of mice during pregnancy. Exposure to radiation for 60 minutes by smartphone teratogenic effects and the potential to cause defects in the form of footprint resorption, cleft palate and haemorrhagic fetuses.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dillasamola D., Helmi A. and Dhila S. M. The effect of ethanol extract of beetroot (L.) on the number, morphology spermatozoa and testis weighin *Male Mice (Mus musculus)* by exposure to heat. *Der Pharmacia Lettre*. 2016; 8 (19):380-387
- Dillasamola D, Almahdy, Adrul F, Oktomaliao PB, Noverial. The Effect of Bluetooth of Smartphone against Radiation Teratogenicity in Mice Fetuses. *RJPBCS*. 2016;7(2)
- Dillasamola D, Almahdy, Angraini R, Diliarosta S, Oktomaliao PB, Noverial. Anti-Infertility Effects Test of Date Palm Fruit Extract (*Phoenix dactylifera* L.) in Female Mice (*Mus musculus*) Compared with Propolis. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018; 11(11):433-436
- Dillasamola D, Almahdy, and Ariani D. Effect of Exposure for a Long Time by Mobile Phone Calls Radiation To The Fetal Mice. *RJPBCS*. 2016;7(1)
- Dillasamola D, Almahdy, Elfianita F, Diliarosta S, Oktomaliao PB, Noverial. The Effect of Extract of Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera* L.) on Fertility in Male Mice (*Mus musculus* L.). *Asian J Pharm Clin Res*. 2019;12(1):418-421
- Dillasamola D, Almahdy, Sari NP, Oktomaliao PB, Noverial, Diliarosta S. Evaluation of Propolis and Milk Administration on Caffein-Induced *Mus musculus* Fetus Skeletal. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018;5(1):40-48
- Dillasamola D, Almahdy, Desri A, Diliarosta S. Uji Efek Teratogenik dari Yoghurt terhadap Fetus Mencit Putih (*Mus musculus*). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2018;5(1)
- Dillasamola D, Aldi Y, Supriwardi I, Diliarosta S, Oktomaliao PB. Pengaruh Pemberian Teh Hijau dan Propolis terhadap Jumlah dan Motilitas Spermatozoa serta Berat Testis Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L ) yang Diinduksi Etanol. *SCIENTIA*. 2018;8(1)
- Almahdy, Dillasamola D, Irene O, Oktomaliao PB. The Effect of Radiation Exposure from Smartphone to Fetus Mice. *RJPBCS*. 2016;7(4)



## Tentang Penulis



**apt. Dwisari Dillasamola, M. Farm**

Currently as a lecturer functional positions at the Faculty of Pharmacy, Andalas University. Graduated from Faculty of Pharmacy Andalas University in 2004, then Master Program at Faculty of Pharmacy Andalas University in 2011. The research and expertise are in Farmaco Immunology. Currently working as lecturer of Farmaco-Immunology and Clinical-pharmacy of Faculty of Pharmacy, Andalas University.