

Efek Protektif Ekstrak Etanol Daun Kesum (*Polygonum minus*) Terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit yang Dipapar Kadmium Klorida

*Protective Effect of Ethanol Extract of Kesum Leaves (*Polygonum minus*) on the Number of Leydig Cells in Mice Exposed to Cadmium Chloride*

Chici Ayu Paramita^{1*}, Hani Plumeriastuti², Sri Pantja Madyawati³,
Arimbi², Sri Mulyati³, Rochmah Kurnijasanti⁴

¹Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, ²Divisi Patologi Veteriner, ³Divisi Reproduksi Veteriner, ⁴Divisi Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Jl. Mulyorejo, Kampus C, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia.

*Corresponding author: chiciayup@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif ekstrak etanol daun kesum (*Polygonum minus*) terhadap jumlah sel Leydig pada mencit yang dipapar kadmium klorida (CdCl_2). Sebanyak 20 ekor mencit jantan dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari empat replikasi kemudian diberikan perlakuan yang berbeda secara peroral selama 21 hari. Kelompok perlakuan meliputi (K-) suspensi CMC Na 0,5% + aquadest, (K+) suspensi CMC Na 0,5% + 12 mg/kgBB/hari kadmium klorida, (P1, P2, dan P3) ekstrak etanol daun kesum masing-masing 200, 400, dan 800 mg/kgBB/hari + 12 mg/kgBB/hari kadmium klorida. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sel Leydig. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok P1, P2, P3 dengan K+. Dilain sisi kelompok P2 menunjukkan hasil yang similar dengan K-. Kesimpulannya, ekstrak etanol daun kesum dapat melindungi dan mempertahankan jumlah sel Leydig testis mencit dari paparan kadmium klorida dengan dosis optimum adalah 400 mg/kgBB/hari.

Kata kunci: daun kesum, *Polygonum minus*, kadmium klorida, sel Leydig

Abstract

This study aimed to determine the protective effect of ethanol extract of kesum leaves (*Polygonum minus*) on the number of Leydig cells in mice exposed to cadmium chloride (CdCl_2). A total of 20 male mice were divided into five groups, each group consisting of four replications and then given different treatments orally for 21 days. The treatment groups included (K-) 0,5% CMC Na suspension + distilled water, (K+) 0,5% CMC Na suspension + 12 mg/kgBW/day cadmium chloride, (P1, P2, and P3) ethanol extract of kesum leaves, respectively. -respectively 200, 400, and 800 mg/kgBW/day + 12 mg/kgBW/day cadmium chloride. Observations were made by counting the number of Leydig cells. Data were analyzed by ANOVA and Duncan's test. The results showed significant differences ($p < 0,05$) between groups P1, P2, P3 and K+. On the other hand, the P2 group showed similar results to K-. In conclusion, the ethanol extract of kesum leaves can protect and maintain the number of Leydig cells in the testes of mice from exposure to cadmium chloride, and the optimal dose was 400 mg/kgBW/day.

Keywords: kesum leaves, *Polygonum minus*, cadmium chloride, Leydig cells

Received: 5 October 2021

Revised: 30 November 2022

Accepted: 3 January 2023

PENDAHULUAN

Kadmium adalah logam berwarna putih perak, lunak, mengkilap, tidak larut dalam basa, mudah bereaksi, serta menghasilkan kadmium oksida (CdO) bila dipanaskan. Kadmium (Cd)

umumnya terdapat dalam kombinasi dengan klor (CdCl_2) maupun sulfat (CdSO_4). Kadmium membentuk Cd^{2+} yang bersifat tidak stabil (Widowati *et al.*, 2008). Kontaminasi kadmium berasal dari pembuangan limbah industri, penambangan, pupuk kimia, pestisida, dan



pembuangan limbah rumah tangga ke sungai (Sutrisno dan Kuntastyuti, 2015). Toksisitas kadmium kronis terjadi pada pekerja industri yang terpapar kadmium atau penduduk yang tinggal di daerah terkontaminasi (Sharma *et al.*, 2015). Kadmium (Cd) dapat masuk ke dalam tubuh manusia dan hewan melalui makanan, minuman dan kulit. Selanjutnya kadmium terakumulasi dalam sel menyebabkan gangguan kesehatan organ reproduksi testis (Nemoto *et al.*, 2009).

Kadmium dengan sifat tidak stabil dapat meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) yang merupakan representasi derivat oksigen radikal dan nonradikal. Derivat oksigen radikal meliputi ion OH, superoksida, nitrit oksida, dan peroksil, sedangkan derivat oksigen yang nonradikal meliputi ozon, singlet oksigen, lipid peroksida, dan hidrogen peroksida. Derivat oksigen nonradikal selanjutnya akan mengambil bagian dalam kaskade reaksi yang menghasilkan radikal bebas (Varh *et al.*, 2010).

Target utama aktivitas ROS adalah *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) atau asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat dalam membran sel. Reaksi ROS diperkuat dengan interaksi hidrogen peroksida dan superoksida sehingga meningkatkan peroksidasi lipid yang mengakibatkan stres oksidatif. Hasil peroksidasi lipid berdampak negatif pada fosforilasi oksidatif dalam mitokondria, peroksidasi lipid pada membran plasma dan membran intraseluler mengakibatkan enzim protease rusak dan mengganggu pengeluaran Ca^{2+} ke sitosol yang selanjutnya dapat menyebabkan nekrosis (Vanlangenakker *et al.*, 2008).

Stres oksidatif oleh toksisitas kadmium dapat menyebabkan cedera jaringan testis, penurunan bobot testis, gangguan fungsi testis dan penurunan sekresi androgen (Yari *et al.*, 2010). Hormon androgen terutama testosteron dihasilkan oleh sel Leydig di interstitial jaringan testis yang berfungsi dalam regulasi spermatogenesis (Wang *et al.*, 2009; Ivell *et al.*, 2013). Testosteron merupakan hormon seks pria yang sangat penting dalam perkembangan dan menjaga sistem reproduksi pria (Matsumoto *et al.*, 2013). Rendahnya kadar testosteron pada pria

karena berkurangnya jumlah sel Leydig mengakibatkan hilangnya libido dan disfungsi ereksi (Heinemann, 1999).

Pengaruh toksisitas kadmium pada testis sangat berbahaya. Senyawa yang dapat mempertahankan tubuh dari radikal bebas adalah antioksidan. Tanaman asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan bahan aktif antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, α -tocopherol, flavonoid, thymoquinone, statin, niasin, phycocyanin (Werdhasari, 2014).

Penggunaan antioksidan alami dari ekstrak tumbuhan dipilih sebagai alternatif pengobatan karena manfaatnya bagi kesehatan manusia dan timbulnya kekhawatiran konsumen tentang keamanan antioksidan sintesis dalam makanan (Sun dan Ho, 2005; Suhaj, 2006).

Daun kesum (*Polygonum minus*) termasuk antioksidan alami berasal dari keluarga Polygonaceae. Daun kesum merupakan tanaman endemik yang tersebar di penjuru Kalimantan Barat. Berdasarkan hasil penelitian skrining fitokimia ekstrak etanol daun kesum terdapat kandungan senyawa golongan fenolik, terpenoid-steroid, flavonoid dan alkaloid (Wibowo *et al.*, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif ekstrak etanol daun kesum terhadap jumlah sel Leydig pada mencit yang dipapar kadmium klorida.

METODE PENELITIAN

Sampel

Penelitian telah mendapatkan izin etik penelitian No.43/KE/2019 dari Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 mencit jantan strain BALB/C dengan berat 25-50 gram dan berumur 10 minggu berasal dari Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kadmium klorida, akuades, daun kesum, etanol 96%, pakan ayam broiler, CMC Na 0,5%, dan Buffered Formalin 10%. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi adalah alkohol 70%, 80%, 90% dan 100 %, xylol, parafin, Hematoksilin, Eosin dan entelan.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat bedah minor, bak, mikrotom, kasa, object glass, cover glass, canadia balsam, kertas saring, timbangan digital, labu penampung, kondensor, penangas, ekstraktor soxhlet, *shaker water bath*, penyaring buchner, rotary vakum evaporator.

Perlakuan dan Pengambilan Data

Mencit diberikan ekstrak etanol daun kesum dan kadmium klorida secara peroral selama 21 hari. Kelompok perlakuan pada penelitian ini terdiri atas lima kelompok, yaitu (K-) suspensi CMC Na 0,5% + akuades PO, (K+) suspensi CMC Na 0,5% + kadmium klorida dosis 12 mg/kgBB/hari PO, (P1) ekstrak etanol kesum 200 mg/kgBB/hari + kadmium klorida dosis 12 mg/kgBB/hari PO, (P2) ekstrak etanol kesum 400 mg/kgBB/hari + kadmium klorida dosis 12 mg/kgBB/hari PO, (P3) ekstrak etanol kesum 800 mg/kgBB/hari + kadmium klorida dosis 12 mg/kgBB/hari PO.

Euthanasi dilakukan dengan cara dislokasi servikalis kemudian dilakukan pembedahan dengan membuka rongga abdomen untuk melakukan koleksi sampel testis.

Perhitungan jumlah sel Leydig di jaringan interstitial tubulus seminiferus sebanyak lima lapang pandang pada masing-masing perlakuan dengan perbesaran 400x menggunakan mikroskop Olympus® CX- 21. Lapang pandang diambil dari preparat testis kanan bagian kanan atas, kanan bawah, kiri atas, kiri bawah, dan tengah.

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh ditabulasi dengan Microsoft excel. Setelah data didapatkan kemudian dianalisis statistik dengan menggunakan Analysis of Variance (ANOVA). Jika hasil menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan uji Duncan. Analisis statistik dengan program SPSS v21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun kesum dosis 400 mg/kgBB/hari dan

12 mg/kgBB/hari kadmium klorida menunjukkan hasil paling tinggi dibanding kelompok perlakuan yang lain. Hasil kelompok perlakuan ini mendekati hasil kelompok K- yang hanya diberikan larutan CMC Na 0,5% dan akuades tanpa paparan kadmium klorida. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kesum dosis 400 mg/kgBB/hari merupakan dosis optimum dalam mempertahankan jumlah sel Leydig akibat paparan kadmium klorida (Tabel 1 dan Gambar 1).

Kadmium merupakan limbah kimia berbahaya bagi lingkungan. Manusia dan hewan terpapar kadmium melalui udara, air minum dan makanan yang tercemar kemudian terakumulasi perlahan di dalam tubuh (Järup dan Akesson, 2009). Tanaman pangan terpapar logam berat melalui tanah yang terkontaminasi dan manusia dapat terpapar logam berat melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi (Machiwa, 2010). Kadmium akan terakumulasi dan mengalami biomagnifikasi dalam rantai makanan (EPA, 2000).

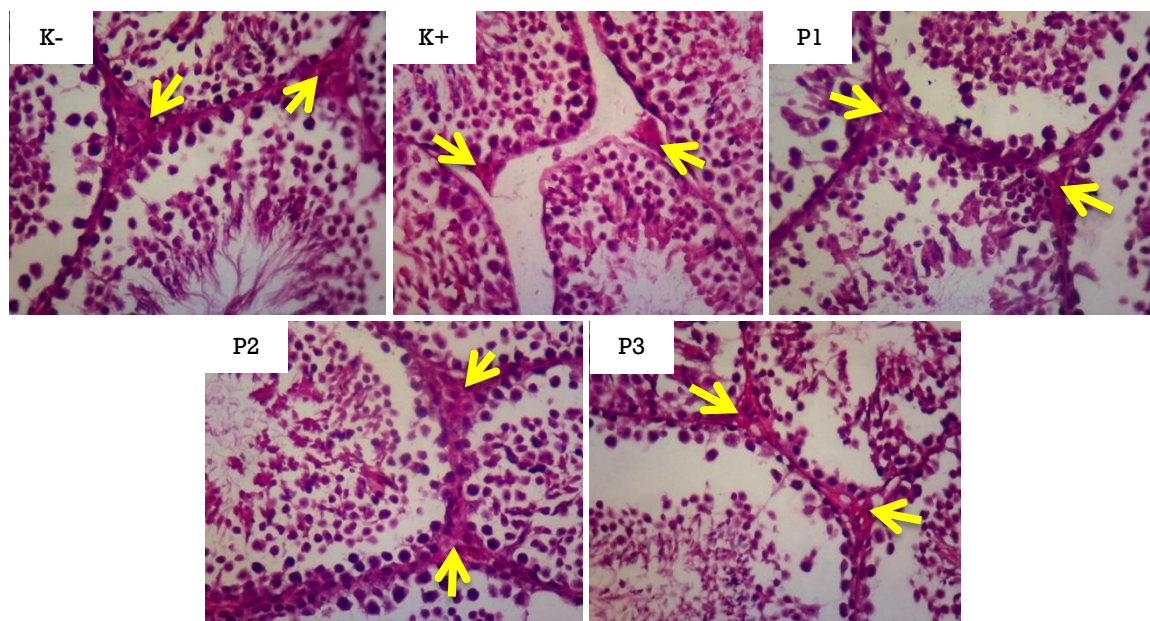
Kadmium yang terakumulasi di dalam tubuh memiliki kapasitas distribusi yang tinggi sehingga dapat didistribusikan ke jaringan dengan cepat. Kadmium memiliki paruh biologis yang lama (~20 tahun pada manusia) dan terakumulasi dalam tubuh selama periode waktu yang lama (Sarkar *et al.*, 2013). Kadmium klorida yang masuk ke dalam tubuh akan diserap dan diangkut oleh darah kemudian disimpan pada organ yang kaya akan metalotionin (Klaassen *et al.*, 2009). Paparan kadmium klorida pada tikus Swiss dengan dosis 1 mg/kgBB selama 5-8 minggu dapat meningkatkan peroksidasi lipid penyebab stres oksidatif pada organ testis sehingga merusak pertahanan intraseluler yang menyebabkan perubahan spermatogenesis (Acharya *et al.*, 2008)

Kelompok K+ yang diberikan 12 mg/kgBB/hari kadmium klorida menunjukkan hasil paling sedikit dibanding dengan kelompok perlakuan yang lain (Tabel 1), hal ini dikarenakan paparan kadmium klorida secara langsung dapat meningkatkan ROS yang menyebabkan peroksidasi lipid dalam testis sehingga mengakibatkan perubahan permeabilitas membran plasma, kerusakan membran nuklear

Tabel 1. Jumlah sel Leydig mencit yang diberikan ekstrak etanol daun kesum berbagai dosis dengan paparan kadmium klorida

Perlakuan	Jumlah Sel Leydig (Mean±SD)
K-	11,75 ^a ±1,50
K+	5,75 ^d ±0,66
P1	9,00 ^b ±0,36
P2	11,35 ^a ±1,45
P3	7,45 ^c ±0,34

^{a,b,c,d} Superskrip berbeda pada kolom yang sama dan menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 1. Panah kuning → menunjukkan sel Leydig.

dan mitokondria, peningkatan kondensasi kromatin karena penggabungan kadmium ke dalam kromatin, dan pemisahan rantai helix DNA (Thompson dan Bannigan, 2008). Gangguan sintesis protein akibat paparan kadmium dapat meningkatkan apoptosis dan kematian sel (Herranz *et al.*, 2010).

Stres oksidatif akibat peroksidasi lipid secara langsung menonaktifkan enzim yang mengandung kelompok sulfidril seperti glutathion (GSH), superoksida dismutase (SOD), kloramfenikol asetiltransferase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), glutathion S-transferase (GST) dan glutathion reduktase (GR), selain itu menyebabkan fosforilasi oksidatif dalam mitokondria. Ikatan diavalen yang tinggi dari ion kadmium terhadap kelompok tiol atau sulfhidril protein akan mengubah fungsi protein. Menipisnya tiol intraselular dapat mengurangi GSH, GPx, GST, dan GR (Vestena *et al.*, 2011). Kegagalan sistem pertahanan antioksidan dapat

meningkatkan stres oksidatif karena ketidakseimbangan produksi ROS selama metabolisme sel (Kumar *et al.*, 2014).

Stres oksidatif secara tidak langsung juga mempengaruhi kadar hormon testosteron. Testosteron merupakan androgen yang berikatan dengan reseptor androgen. Reseptor androgen memiliki reseptor inti yang bertindak sebagai *ligand-responsive transcription factor*. Pada testis reseptor androgen terdapat pada sel Leydig, sel peritubular, dan sel Sertoli. Androgen secara bebas berdifusi melalui membran plasma kemudian mengikat reseptor androgen membentuk kompleks yang selanjutnya berinteraksi dengan *androgen reseptor element* (ARE) pada bagian promotor gen target (Amalia, 2007).

Stres oksidatif oleh ROS di dalam tubuh dapat meningkatkan ekspresi sitokrom p450 (Doi *et al.*, 2003). Meningkatnya ekspresi p450 menyebabkan reseptor androgen menjadi tidak

aktif karena akan berikatan dengan p450 bukan dengan androgen. Gangguan pengikatan androgen ini akan menyebabkan terganggunya proses steroidogenesis. Peningkatan p450 oleh ROS pada organ menyebabkan kematian sel Leydig berupa apoptosis dan nekrosis (Wati, 2014).

Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun kesum dosis 200 mg/kgBB/hari dan 12 mg/kgBB/hari kadmium klorida menunjukkan hasil lebih tinggi dibanding dengan kelompok K+ yang hanya diberikan 12 mg/kgBB/hari kadmium klorida dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun kesum dosis 800 mg/kgBB/hari (Tabel 1). Hal ini menunjukkan terdapat efek protektif ekstrak etanol daun kesum dalam mempertahankan jumlah sel Leydig. Hasil kelompok tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Maizura *et al.* (2011) aktivitas antioksidan kesum dapat menangkal radikal bebas. Kesum memiliki kandungan fenolik yang tinggi, oleh karena itu kesum dianggap sebagai antioksidan alami yang potensial. Antioksidan ekstrak tumbuhan yang mengandung polifenol akan mendonorkan atom hidrogen atau elektron sehingga kondisi sel akan stabil (Maizura *et al.*, 2011).

Polifenol dilaporkan menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap peroksidasi lipid dan menghambat produksi ROS intraseluler. Polifenol juga dapat menekan nekrosis dan apoptosis (Shirai *et al.*, 2015). Polifenol yang terkandung dalam daun kesum adalah flavonoid terdiri dari quercetin, myricetin, asam galat, asam kumarin, flavon dan metil flavonol (Imelda *et al.*, 2014; Qader *et al.*, 2012). Pemberian quercetin terhadap paparan kadmium secara signifikan menurunkan ROS dan peroksidasi lipid serta meningkatkan GSH dan aktivitas antioksidan enzimatis (SOD dan GSH-Px) (Bu *et al.*, 2011).

Hasil skrining ekstrak etanol daun kesum mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin (Atika, 2016). Saponin yang terkandung dalam ekstrak yang diberikan pada mencit akan masuk ke dalam tubuh mencit melalui saluran digesti. Senyawa saponin akan dipecah secara kimiawi di lambung dalam suasana asam sehingga mengalami

pemutusan gugus gula dari gugus sterol. Pemutusan gugus ini akan meningkatkan kandungan sterol bebas (Robinson, 1995). Kolesterol merupakan bahan pembentuk hormon steroid. Pada kelenjar adrenal kolesterol mengalami esterifikasi dan disimpan dalam butiran lemak di sitoplasma. Rangsangan dari adrenokortikotropin hormon (ACTH) yang di sekresi oleh hipofisa anterior ke kelear adrenal menyebabkan hidrolisis kolesterol ester menjadi kolesterol bebas dan menyebabkan perpindahan kolesterol menuju mitokondria. Enzim pemutus rantai samping sitokrom p450 (P450_{sc}) menyebabkan perubahan kolesterol menjadi pregnenolon (Robert *et al.*, 2009). Pregnenolon merupakan prekursor kolesterol yang mensintesis hormon testosteron (Litwak, 1992). Testosteron membantu mengaktifkan enzim-enzim steroidogenesis seperti p450_{c17} dan 17 β -hidroksisteroid dehidrogenase (17 β -HSD) yang menunjang aktivitas diferensiasi sel Leydig sehingga dapat meningkatkan jumlah sel Leydig (Permatasari dan Widhiantara, 2017).

Kandungan flavonoid dan saponin ekstrak etanol daun kesum dapat mempertahankan jumlah sel Leydig. Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun kesum dosis 800 mg/kgBB/hari dan 12 mg/kgBB/hari kadmium klorida menunjukkan hasil lebih rendah dibanding kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun kesum dosis 200 dan 400 mg/kgBB/hari (Tabel 1). Hal tersebut berkorelasi dengan penelitian Skibola dan Smith, (2000) bahwa flavonoid dalam dosis tinggi dapat menjadi toksik. Flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan atau pro-oksidan tergantung pada tingkat yang dikonsumsi. Flavonoid dalam dosis tinggi pada tubuh dapat membentuk ROS yang pada akhirnya dapat mengakibatkan kerusakan DNA.

Kelompok perlakuan ini juga menunjukkan hasil lebih tinggi dibanding kelompok kontrol positif, hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kesum dosis 800 mg/kgBB/hari masih berpotensi melindungi testis dari paparan kadmium klorida tetapi efeknya berkurang. Pemberian ekstrak etanol daun kesum menyebabkan kandungan flavonoid dapat

bertindak sebagai pro-oksidan dimana semakin tinggi kandungan flavonoid semakin berkurang efektivitasnya (Skibola dan Smith, 2000). Ming *et al.*, (2013) melaporkan bahwa tidak ada efek samping yang diamati atau *no observed adverse effect level* (NOAEL) dari ekstrak etanol kesum dosis lebih dari 1000 mg/kg pada tikus wistar. Kemungkinan peningkatan dosis ekstrak etanol daun kesum berkorelasi dengan peningkatan toksisitas kesum itu sendiri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kesum dapat mempertahankan jumlah sel Leydig menciit yang dipaparan kadmium klorida. Dosis optimum ekstrak etanol daun kesum adalah 400 mg/kgBB/hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Airlangga dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kepala Prodi Magister Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner dan instansi yang terkait dalam penelitian dan penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, U. R., Mishra, M., Patro, J., & Panda, M. K. (2008). Effect of Vitamins C & E on Spermatogenesis in Mice Exposed to Cadmium. *Reproductive Toxicology*, 25, 84-88.
- Amalia, R. (2007). Faktor-Faktor Resiko Terjadinya Pembesaran Prostat Jinak. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
- Atika, Muhammad, I. K., & Effiana. (2016). Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kesum (*Polygonum minus*) sebagai Larvasida Aedes aegypti. *Jurnal Cerebelum Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*, 2(4).
- Bu, T., Mi, Y., Zeng, W., & Zhang, C. (2011). Protective Effect of Quercetin on Cadmium-Induced Oxidative Toxicity on Germ Cells in Male Mice. *The Anatomical Record*, 294, 520-526.
- Doi, H., Baba, T., Tohyama, C., & Nohara, K. (2003). Functional Activation of Arylhydrocarbon Receptor (Ahr) in Primary T Cell By 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Chemosphere*, (52), 655-662.
- Heinemann, L. A. J., Zimmermann, T., Vermeulen, A., Thiel, C., & Hummel, W. (1992). A New "Aging Males' Symptoms" Rating Scale. *Aging Male*, 2, 105-14.
- Herranz, L. M., Teba, F., Martín, R., Ingelmo, I., Gómez, V., Codesal, J., Pozuelo, J. M., Oltra, B., Serna, E., & Santamaría, L. (2010). Quantitative changes in rat seminiferous epithelium after chronic administration of low doses of cadmium and zinc: a stereological study. *The Open Andrology Journal*, 2, 27-36.
- Imelda, F., Faridah, D. N., & Kusumaningrum, H. D. (2014). Bacterial Inhibition and Cell Leakage by Extract of *Polygonum minus* Huds. Leaves. *International Food Research*, 21, 553-560.
- Ivell, R., Wade, J. D., & Anand-Ivell, R. (2013). INSL3 as a Biomarker of Leydig Cell Functionality. *Biology Reproduction*, 88, 1-8.
- Järup, L., & Akesson, A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238, 201-208.
- Klaassen, C. D., Liu, J., & Diwan, B. A. (2009). Metallothionein Protection of Cadmium

- Toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), 215–220.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2014). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diseases Ninth Edition. Saunders Elsevier Inc.
- Litwack, G. (1992). Biochemistry of Hormones II: Steroids Hormones. In: Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 3rd.ed. Willey Liss.Inc. New York, USA.
- Machiwa, J. F. (2010). Heavy metal levels in paddy soils and rice (*Oryza sativa* (L)) from wetlands of Lake Victoria Basin, Tanzania. *Tanz. Journal of Scientific*, 36, 59–72.
- Maizura, M., Aminah, A., & Aida, M. W. (2011). Total Phenolic Content and Antioxidan Activity of Kesum (*Polygonum minus*), Ginger (*Zingiber officinale*) and Turmeric (*Curcuma longa*) extract. *International Food Research Journal*, 18, 529-534.
- Matsumoto, T., Sakari, M., Okada, M., Yokoyama, A., Takahashi, S., Kouzmenko, A., & Kato, S. (2013). The Androgen Receptor in Health and Disease. *Annual Review of Physiology*, 75, 201-224.
- Ming, Y. K., Zulkawi, N. B. T., Kotak, V., & Choudhary, Y. K. (2013). Acute and Sub-Acute Oral Toxicity of *Polygonum minus* Aqueous Extract (biotropics®pm101) in Wistar rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 120-124.
- Nemoto, K., Miyajima, S., Hara, S., Saigusa, R., Yamada, M., Shikama, H., Yotsuya, S., Sekimoto, M., & Degawa, M. (2009). Decreased Gene Expression of Testicular Cell-Specific Proteins in Cadmium-Induced Acute Testicular Toxicity. *Journal of Health Science*, 55(6), 952-956.
- Permatasari, A. A. A. P., & Widhiantara, I. G. (2017). Terapi Testosteron Meningkatkan Jumlah Sel Leydig dan Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*) yang Mengalami Hiperlipidemia. *Jurnal Media Sains*, 1(2), 77-83.
- Qader, S. W., Abdulla, M. A., Lee S. C., & Hamdan, S. (2012). Potential Bioactive Property of *Polygonum minus* Huds (kesum) Review. *Scientific Research and Essays*, 7(2), 90-93.
- Robert, K., Murray, D. K. G., Victor, W., & Rodwell. (2009). Keragaman Sistem Endokrin. Biokimia Harper. Edisi 27. Jakarta: EGC Medical Publisher. Hal: 459.
- Robinson, T. (1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Hal: 363.
- Sarkar, A., Ravindran, G., & Krishnamurthy, V. (2013). A Brief Review on The Effect of Cadmium Toxicity: from Cellular to Organ Level. *International Journal. Biotechnology Research*, 3, 17–36.
- Sharma, H., Rawal, N., & Mathew, B. (2015). The Characteristics, Toxicity and Effects of Cadmium. *International Journal of Nanotechnology and Nanoscience*, 3, 1-9.
- Shirai, A., Onitsuka, M., Maseda, H., & Omasa, T. (2015). Effect of Polyphenols on Reactive Oxygen Species Production and Cell Growth of Human Dermal Fibroblasts after Irradiation with Ultraviolet-A Light. *Biocontrol Science*, 20(1), 27-33.
- Skibola, C. F., & Smith, M. T. (2000). Potential Health Impacts of Excessive Flavonoid Intake. *Free Radical Biology and Medicine*, 29, 375-383.
- Suhaj, M. (2006). Spice Antioxidants Isolation and Their Antiradical Activity: A Review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 531-537.

- Sun, T., & Ho, C. T. 2005. Antioxidant Activities of Buckwheat Extracts. *Food Chemistry*, 90, 743-749.
- Sutrisno, dan Kuntiyastuti, H. (2015). Manajemen Pencemaran Kadmium pada Tanah Pertanian di Indonesia. *Buletin Palawija*, 13(1), 83–91.
- Thompson, J., & Bannigan, J. (2008). Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology*, 25, 304–315.
- US Environmental Protection Agency (EPA). 2000. Cadmium Compounds Hazard Summary Created in April 1992; Revised in January 2000. Diakses 19 Juli 2018. <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/cadmium.html>.
- Vanlangenakker, N., Berghe, V. T., Krishko, D. V., Fetjens N., & Vandernabeele, P. (2008). Molecular Mechanisms and Pathophysiology of Necrotic Cell Death: Current Molecular Medicine. pp: 207-220.
- Varh, V., Liou, G., & Storz, P. (2010). Reactive Oxygen Species in Cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 479–496.
- Vestena, S., Cambraia, J., Ribeiro, C., Oliveira, J. A., & Oliva, M. A. (2011). Cadmium-induced Oxidative Stress and Antioxidative Enzyme Response in Water Hyacinth and Salvinia. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 23(2), 131-139.
- Wang, R. S., Yeh, S., Tzeng, C. R., & Chang, C. (2009). Androgen Receptor Roles in Spermatogenesis and Fertility: Lessons from Testicular Cell-Specific Androgen Receptor Knockout Mice. *Endocrine Review*, 30, 119-132.
- Wati, W. K., Wurlina., & Sarmanu. (2014). Potensi Vitamin E terhadap Jumlah Sel Spermatogenik pada Mencit yang Terpapar 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Veterina Medika*, 14(4), 410-411.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 59-68.
- Wibowo, M. A., Anwari, M. S., Aulani'am, & Rahman, F. (2009). Skrining Fitokimia Fraksi Metanol, Dietil Eter dan n-Heksana Ekstrak Daun Kesum (*Polygonum minus*). *Jurnal Penelitian Universitas Tanjungpura*, 16(4).
- Widowati, W., Astiana, S., & Raymond, J. R. (2008). Efek Toksik Logam. Yogyakarta: Andi.
- Yari, A., Asadi, M. H., Bahadoran, H., Dashtnavard, H., Imani, H., & Naghii, M. R. (2010). Cadmium Toxicity in Spermatogenesis and Protective Effects of L-carnitine in Adult Male Rats. *Biological Trace Element Research*, 137, 216–225.
