

**EFEK EKSTRAK TUMBUHAN SURUHAN (*Peperomia pellucida*)  
TERHADAP HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT YANG  
DIINDUKSI ALOKSAN**

**( Skripsi )**

**Oleh**

**Rohmawati**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

## ABSTRAK

### EFEK EKSTRAK TUMBUHAN SURUHAN (*Peperomia pellucida*) TERHADAP HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Rohmawati

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit akibat adanya peningkatan kadar glukosa (hiperglikemia) dan salah satu penyebab infertilitas pada pria. Pria yang mengalami DM dapat mengganggu fungsi potensial membran mitokondria, yang menyebabkan kerusakan endotelium pembuluh darah sehingga pemberian nutrisi berkurang ke jaringan-jaringan tubulus seminiferus dan mengganggu proses spermatogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) dalam menurunkan kadar glukosa darah dan mencegah terjadinya kerusakan tubulus seminiferus. Penelitian eksperimental yang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima kelompok perlakuan dengan masing-masing lima pengulangan menggunakan mencit jantan. Kelompok K- sebagai kontrol negatif (diinduksi aloksan 150 mg/kgBB), kelompok K+ (diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan Glibenklamid 0,65mg/kgBB), kelompok P1 (suruhan dengan dosis 56 mg/kgBB/hari dan diinduksi aloksan dengan dosis 150mg/kgBB), P2 (suruhan dengan dosis 112 mg/kgBB/hari dan induksi aloksan dengan dosis 150mg/kgBB) dan P3 (suruhan dengan dosis 168 mg/kgBB/hari dan diinduksi aloksan dengan dosis 150mg/kgBB). Aloksan diberi sebanyak 3 kali dalam 6 hari, glibenklamid selama 35 hari dan ekstrak suruhan diberikan setiap hari selama 35 hari. Data yang diperoleh di uji menggunakan *One Way* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian glukosa darah dan tubulus seminiferus yang didapat terlihat signifikan ( $P < 0,005$ ). Namun jika dilihat dari penurunan kadar glukosa darah dan yang mampu meningkatkan sel spermatosit primer, sel spermatid dan diameter tubulus seminiferus muncul tampak dosis efektif dalam meningkatkan dan memperbaiki mencit DM yang diberi aloksan adalah (Ekstrak suruhan dosis 56 mg/kgBB/hari).

**Kata kunci:** *Diabetes mellitus, Peperomia pellucida, Aloksan, dan Tubulus seminiferus*

**EFEK EKSTRAK TUMBUHAN SURUHAN (*Peperomia pellucida*)  
TERHADAP HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT YANG  
DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh  
**Rohmawati**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar  
**SARJANA SAINS**

pada  
**Jurusan Biologi**  
**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS LAMPUNG**  
**BANDAR LAMPUNG**  
**2019**

Judul Skripsi : **EFEK EKSTRAK TUMBUHAN SURUHAN  
(*Peperomia pellucida*) TERHADAP  
HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFIRUS MENCIT  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Nama Mahasiswa : **Rohmawati**

No. Pokok Mahasiswa : 1517021057

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II



**Prof. Dr. Sutjarso, M.Biomed.**  
NIP. 19570424 198703 1 001



**Drs. M. Kanedi, M.Si.**  
NIP.196101121991031002

**2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA**



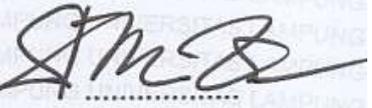
**Drs. M. Kanedi, M.Si.**  
NIP. 196101121991031002

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua**

**: Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed**



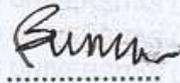
**Sekretaris**

**: Drs. M. Kanedi, M.Si**



**Penguji**

**Bukan Pembimbing : Dr. Hendri Busman, M.Biomed.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Perigetahuan Alam**



**Drs. Suratman, M.Sc.**

**NIP. 196406041990031002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Maret 2019**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rohmawati  
NPM : 1517021057  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

"Efek ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) terhadap histologi tubulus seminiferus mencit yang diinduksi aloksan."

baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 25 Maret 2019

Yang menyatakan,



(Rohmawati)

NPM:1517021057

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Sindang Anom, pada tanggal 23 Oktober 1996, merupakan putri keempat dari lima bersaudara pasangan dari Ayahanda Misdi dan Ibunda Sarkati. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di Sekolah Dasar Negeri (SDN) 01 Sindang Anom pada tahun 2009, pendidikan menengah pertama di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Satu Atap 1 Sekampung Udik pada tahun 2012, dan pendidikan menengah atas di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Jati Agung pada tahun 2015. Pada tahun yang sama penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung (UNILA) dengan Program Studi Biologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Pada tahun 2018, penulis melaksanakan Kerja Praktik (KP) dengan judul “Pengembangan Imunohistokimia Untuk Deteksi *Mannheimia Haemolytica* Pada Kasus *Pneumonia Enzootika* Pedet Di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung”. Di tahun yang sama penulis juga melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Batang Hari Nuban, Desa Sukacari, Lampung Timur selama 40 hari.

*MOTTO*

*Jangan biarkan dunia menukar akhiratmu*

*-Rohmawati*

*Jangan membenci siapapun, tak peduli seberapa banyak kesalahan yang mereka lakukan terhadapmu. Hiduplah dengan rendah hati, tak peduli seberapa banyak kekayaanmu. Berpikirlah positif, tak peduli seberapa keras kehidupan yang kamu jalani. Berikanlah banyak, meskipun menerima sedikit. Tetaplah menjalin hubungan dengan orang-orang yang telah melupakanmu, maafkanlah orang yang berbuat salah padamu, dan jangan berhenti mendoakan yang terbaik untuk orang yang kau sayangi.*

*- Ali bin Abi Thalib*

*Betapa terhormatnya ilmu, karena orang yang tidak memilikinya mengatakan bahwa dia memiliki ilmu. dan betapa tidak terhormatnya kebodohan, karena orang yang memilikinya mengatakan bahwa dia tidak bodoh.*

*- Ali bin Abi Thalib*

*Dengan Ridho ALLAH SWT,*

*Kupersembahkan karya kecilku ini kepada Ayah dan Ibu  
Sebagai motivator dan penyemangat terbesar dalam hidupku*

*Senantiasa selalu mendo'akan dan menyanyangi putri tercintanya*

*dan*

*telah menghantarkan diriku sampai jenjang ini dengan*

*segala pengorbanan dan kesabaran*

*tanpa kenal lelah, semoga lelah kalian menjadi lilah untuk bekal*

*diakhirat kelak. Juga untuk para sahabat-sahabatku yang*

*tersayang terimakasih telah menemaniku selama dikampus ini*

*semoga ukhuwah selalu tetap terjaga dengan baik.*

*Serta Almamater dan Para Pendidikku Yang kusayangi.*

## SANWACANA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah serta cinta dan kemurahan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul ” **Efek Ekstrak Tumbuhan Suruhan** (*Peperomia Pellucida*) **Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Yang Diinduksi Aloksan** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Science Bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

Selama penyusunan skripsi ini, penulis mendapat bantuan dari berbagai pihak yang selalu memberi semangat dan dorongan agar terus maju. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Drs. Suratman Umar, M.Sc., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
2. Bapak Drs. M.Kanedi M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
3. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberi semangat dan dukungan untuk tidak putus asa selama penelitian berlangsung.

Terimakasih atas bimbingan, arahan, saran serta masukannya dalam penyusunan skripsi ini.

4. Bapak Drs. M. Kanedi M.Si. selaku pembimbing 2 sekaligus Pembimbing akademik yang dengan sabar membimbing, memberi perhatian, dan membagi ilmu serta membantu penulis dalam proses akademik maupun menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Hendri Busman, M.Biomed, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang sangat membantu penulis dalam memperbaiki skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu Dosen, serta seluruh staff Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, khususnya di Jurusan Biologi atas ilmu, dukungan, dan pengalaman yang telah banyak diberikan kepada penulis.
7. Kedua orangtuaku tercinta, Bapak Misdi dan Ibu Sarkati sebagai Penyemangat terbaik dalam hidupku selalu memberikan perhatian, kasih sayang, do'a , serta kesabaran. Terima kasih telah membesarkanku menjadi anak yang kuat dan sabar akan fananya dunia ini. Maaf belum bisa menjadi kebanggaan Abah dan Ambu', tapi percayalah tidak pernah lelah jiwa ini untuk selalu membahagiakan dan membanggakan kalian. Semoga Allah memberikan balasan yang terbaik atas apa yang kalian usahakan untukku selama ini.

8. Untuk ketiga kakakku Syarfin, Erna, Hendika dan adikku si bungsu imel. Terimakasih telah memberikan dukungan dan menjadi sahabat terbaik dirumah selama mengerjakan tugas akademik maupun religi dan menghilangkan rasa lelah karena kalian juga penulis terus semangat dalam menuntut ilmu.
9. Teman-temanku Arif, Edo, Ka Arif dan Mufida di Universitas Islam Negeri Lampung telah membantu dalam berbagai hal dan selalu memberikan dukungan untukku agar menjadi orang yang sukses dunia akhirat kelak.
10. Terkhusus untuk sahabat-sahabatku yang penuh dengan cerita dan sekaligus rekan tim penelitian Cahyani Inten Kesuma, Desti Islami, Eti Purwanti, Risky Amelia Mandasari, yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
11. Sahabat-sahabat terbaikku , Ika Widyawati, Puspa Sari Dewi, Siti Nurjannah, Wuri Artika Sari, yang selalu menemaniku selama dikampus dan selalu memberi semangat bagi penulis dalam melakukan penelitian sampai menyelesaikan skripsi.
12. Teman-temanku selama di HIMBIO FMIPA Unila ,Ana, Cahya, Edi, Ika, Nosep, Olla, Salih, Tommi, yang selalu memberi dukungan dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

13. Teman-temanku selama di BEM FMIPA Aji, Anggun, Anita, Asti, Azizah, Desi, Evril, Fadil, Finu, Fitri, Inas, Irsan, Krisnawan, Liza, Mahyal, Novi, Randi, Supi, Wilda ,Yudi serta seluruh Staf terimakasih atas kebersamaan selama ini, dukungan dan bantuannya dalam penyusunan skripsi ini.
14. Teman-teman KKN Sukacari Adi, Andi, Anggi, Candra, Deka, Lelvi .  
Terimakasih untuk kebersamaan yang terjalin sampai saat ini.
15. Almamaterku tercinta Universitas Lampung dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga ALLAH SWT dapat membalas kebaikan kalian semua. Semoga ini akan menjadi hal yang terbaik untuk kita semua. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Semoga kebaikan selalu menyertai kita semua.

Bandar Lampung, 03 Januari 2019

Rohmawati

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>SURAT PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>v</b>
<b>PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vii</b>
<b>SANWACANA .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xvii</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
C. Manfaat Penelitian .....	3
D. Kerangka Pemikiran .....	4
E. Hipotesis .....	4

## II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Infertilitas pada <i>Diabetes mellitus</i> .....	5
B. Spermatogenesis pada Mencit.....	6
C. Tubulus Seminiferus .....	7
D. Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.).....	9
E. Hormon Reproduksi pada Mencit .....	11
F. Tumbuhan Suruhan.....	13
1. Klasifikasi Tumbuhan ( <i>Peperomia pellucida</i> [L.] Kunth).....	13
2. Kandungan Senyawa Tumbuhan Suruhan .....	15
G. Induksi Aloksan .....	16
H. Glibenklamide .....	17

## III. METODE KERJA

A. Waktu dan Tempat.....	18
B. Alat dan Bahan.....	18
1. Alat Penelitian.....	18
2. Bahan Penelitian.....	19
C. Prosedur Penelitian .....	19
1. Persiapan Kandang dan Hewan Uji.....	19
2. Rancangan Percobaan.....	20
3. Pembuatan Ekstrak Suruhan.....	21
D. Perlakuan Terhadap Hewan Uji .....	22

1. Pengukuran Berat Badan Mencit.....	22
2. Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah .....	22
3. Induksi Aloksan.....	23
4. Pemberian Ekstrak Suruhan .....	23
5. Pembuatan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus .....	23
6. Perhitungan Jumlah Sel Spermatisit primer, Sel spermatid dan Diameter Tubulus seminiferus.....	25
a. Perhitungan Jumlah Sel Spermatisit dan Sel spermatid.....	25
b. Pengukuran Diameter Tubulus seminiferus .....	25
E. Analisis Data dan Pengujian Hipotesis .....	25
F. Diagram Alir Penelitian .....	26

#### **IV. HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN**

A. Hasil Penelitian .....	27
1. Pengujian Efek Ekstrak Tumbuhan Suruhan terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Yang Diinduksi Aloksan.....	27
2. Jumlah Sel Spermatisit Primer dan Sel Spermatid.....	28
3. Diameter Tubulus Seminiferus .....	30
4. Gambaran Preparat Histologi Tubulus Seminiferus .....	30
B. Pembahasan.....	33
1. Efek Ekstrak Tumbuhan Suruhan terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Yang Diinduksi Aloksan.....	33
2. Sel spermatisit primer dan sel spermatid.....	36
3. Diameter Tubulus Seminiferus .....	39

**V. KESIMPULAN DAN SARAN**

A. Kesimpulan .....	41
B. Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>

## DATAR TABEL

Gambar	Halaman
1. Rerata Kadar Glukosa Darah Mencit .....	27
2. Rerata Jumlah Sel Spermatisit Primer Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Tumbuhan Suruhan.....	28
3. Rerata Jumlah Sel Spermatid Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Tumbuhan Suruhan .....	29
4. Rerata Diameter Tubulus Seminiferus Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Tumbuhan Suruhan.....	30
5. Analisis Data Secara Statistik Rerata Kadar Glukosa Darah Mencit Menggunakan Uji Varian (ANOVA) Dan Uji BNT Taraf 5 % .....	51
6. Analisis Data Secara Statistik Rerata Jumlah Sel Spermatisit Primer Menggunakan Uji Varian (ANOVA) Dan Uji BNT Taraf 5 % .....	55
7. Analisis Data Secara Statistik Rerata Jumlah Sel Spermatid Menggunakan Uji Varian (ANOVA) Dan Uji BNT Taraf 5 % .....	57
8. Analisis Data Secara Statistik Rerata Diameter Tubulus Seminiferus Menggunakan Uji Varian (ANOVA) Dan Uji BNT Taraf 5 % .....	60

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambaran Tubulus Seminiferus Pada Mamalia.....	7
2. Morfologi Mencit ( <i>Mus musculus</i> L) .....	10
3. Tumbuhan Suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> [L.] Kunth).....	14
4. Struktur Kimia Aloksan .....	16
5. Diagram Alir Penelitian .....	27
6. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Pada Kelompok Kontrol Positif (Glibenklamid 0,65mg).....	31
7. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Setelah Pada Kelompok Kontrol Negatif (Aloksan) .....	31
8. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Pada Kelompok P1 Setelah Pemberian Ekstrak Tumbuhan Suruhan (Suruhan 56/Mg/Kgbb) .....	32
9. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Pada Kelompok P2 Setelah Pemberian Ekstak Tumbuhan Suruhan (Suruhan 112/Mg/Kgbb) ....	32
10. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Pada Kelompok P3 Setelah Pemberian Ekstrak Tumbuhan Suruhan (Suruhan 168/Mg/Kgbb)..	33
11. Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Suruhan.....	63
12. Proses Evaporasi Ekstrak Etanol Suruhan .....	63

13. Proses Ekstrak Etanol Murni Setelah Evaporasi.....	63
14. Proses Penimbangan Berat Badan Mencit .....	64
15. Proses Pengukuran Kadar Glukosa Darah Pada Mencit .....	64
16. Proses Pembiusan Mencit .....	64
17. Proses Pembedahan Mencit.....	65
18. Proses Pengamatan Histologi Tubulus Seminiferus Mencit .....	65

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit akibat adanya peningkatan kadar glukosa (hiperglikemia) dalam darah yang harus diwaspadai oleh masyarakat.

Gangguan metabolisme kronik dengan berkurangnya hormon insulin yang dapat menimbulkan adanya penyakit diabetes mellitus kelainannya antara lain dengan ditandai hiperglikemia dan glukosuria serta berkembangnya pada sistem komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular serta masalah kesehatan reproduksi menimbulkan pengaruh buruk terhadap infertilitas dan potensi seksual pada pria ( Long, 1996).

Pria yang mengalami penyakit DM dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ROS dapat merusak membran mitokondria sehingga menyebabkan hilangnya fungsi potensial membran mitokondria, yang menyebabkan kerusakan endotel pembuluh darah sehingga pemberian nutrisi berkurang ke jaringan-jaringan tubulus seminiferus dan mengganggu proses spermatogenesis (Greenstein dan Wood, 2012).

Kondisi ini menyebabkan terjadinya peningkatan *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS) yang dapat memicu terjadinya cekaman oksidatif di dalam tubuh yang dan menimbulkan beberapa perubahan dan fungsi seksual, adanya perubahan yang disebabkan sifat toksik dari aloksan adalah terbentuknya radikal bebas yang dapat

merusak membran sel melalui peningkatan peroksidasi lipid yang menyebabkan terjadi gangguan transport ion esensial dari dan dalam sel, sehingga menyebabkan apoptosis sel. Peningkatan stres oksidatif pada penderita diabetes mellitus juga berhubungan dengan infertilitas yang memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap disfungsi ereksi. Hasil penelitian Anton (2008) menunjukkan efek negatif penyakit sistemik ini terhadap fertilitas pria, diantaranya adalah adanya peningkatan konsentrasi radikal bebas yang menyebabkan kerusakan spermatozoa dan kerusakan pada DNA serta adanya penurunan jumlah sel-sel spermatosit juga disebabkan oleh kerusakan sel-sel karena adanya radikal bebas yang tinggi. Senyawa diabetogenik aloksan juga mampu menurunkan kadar insulin dan mengganggu homeostasis glukosa darah (Zhang *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2009).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu meredam dampak negatif dari oksidan yang bersifat larut dalam air (*water soluble*) atau larut dalam lemak (*lipid soluble*), ada yang diproduksi sendiri oleh tubuh dan ada pula yang berasal dari luar tubuh (Baynes and Dominiczak, 2014). Flavonoid dapat berperan meredam *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan memberi elektron kepada (ROS) yang terbentuk, sehingga senyawa menjadi non radikal yang tidak berbahaya terhadap membran sel (Mayes, 2003).

Efek penurunan kadar glukosa darah diduga disebabkan oleh senyawa dan ekstrak yang memiliki sifat seperti hormon insulin, salah satunya dapat merubah kelebihan glukosa menjadi lemak, memacu terjadinya proses glikogenesis, serta menghambat glukoneogenesis. Tumbuhan suruhan merupakan tanaman herbal yang sudah lama dikenal oleh masyarakat luas sebagai obat, Secara empiris herba suruhan juga dapat mengobati sakit perut, kepala, beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan

menunjukkan bahwa herba suruhan mempunyai potensi sebagai antiinflamasi (Wijaya dan Monica, 2004), Selain itu herba suruhan mengandung senyawa metabolik sekunder antara lain glikosida, flavonoid, tanin dan steroid/triterpenoid. Menurut Singab *et al* (2005), flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas akibat oksidasi .

Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) terhadap histologi tubulus seminiferus mencit yang diinduksi aloksan.

## **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) yang mampu meningkatkan jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid dan diameter tubulus seminiferus mencit yang diinduksi aloksan.

## **C. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) yang dapat dijadikan sebagai obat kontrasepsi alternatif bagi pria yang aman dan mudah didapat serta untuk pengobatan *diabetes millitus* dari bahan yang alami.

#### **D. Kerangka Pemikiran**

*Diabetes mellitus* yang tidak terkontrol dengan baik dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif ini terjadi karena adanya peningkatan ROS (*Reaction Oxygen Spesies*) hal ini dapat menurunkan antioksidan dan pria penderita *diabetes mellitus* dapat merusak membran mitokondria dan dapat menghilangkan fungsi potensial membran mitokondria serta dapat menginduksi kerusakan DNA yang mempercepat apoptosis sel epitel germinal sehingga menurunkan jumlah spermatozoa dan terjadi perubahan morfologi spermatozoa. Untuk itu perlu dilakukan upaya dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menggunakan bahan tumbuhan yang mempunyai potensi menekan kadar glukosa darah dalam tubuh. tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) merupakan salah satu tanaman herba yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional. Tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder salah satunya flavonoid yang merupakan substansi yang terbanyak dan terpenting dalam kelompok polifenol didalam tanaman dan memiliki aktivitas mirip dengan insulin. Senyawa aktif flavonoid juga dapat menghambat lemak jahat pada penderita diabetes yang terakumulasi dalam pembuluh darah. Menurut Singab *et al.*, (2005), flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas (antioksidan).

#### **E. Hipotesis**

Dalam penelitian ini, hipotesis yang diajukan adalah pemberian ekstrak tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida*) yang mampu meningkatkan jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid dan diameter tubulus seminiferus mencit yang diinduksi aloksan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Infertilitas pada *Diabetes mellitus*

Infertilitas yang disebabkan oleh DM dapat merusak fungsi kelenjar seks asesori dan spermatogenesis. Penyakit ini ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah kronis dapat ditemukan dengan berbagai gejala, seperti *polyurea*, polidipsia (banyak minum), polifagia (banyak makan) dan penurunan berat badan. Gejala lainnya yang bisa terjadi yaitu lemah, gatal, mata kabur dan disfungsi ereksi pada pria (Haida, 2013).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi infertilitas pada pria penderita *diabetes mellitus* terjadi akibat menurunnya kadar testosteron yang disebabkan oleh *Reaction Oxygen Spesies* (ROS) yang dapat merusak integritas DNA pada nukleus spermatozoa sehingga berakibat terjadinya apoptosis sel. Apoptosis sel tersebut mempengaruhi jumlah spermatozoa dan menyebabkan perubahan morfologi spermatozoa terutama pada saat spermatogenesis (Faranita, 2009).

Hasil penelitian Amalina (2010) menyatakan bahwa penurunan kadar testosteron akan disertai penurunan respon LH dan FSH terhadap rangsangan gonadotropin. Kadar testosteron yang rendah ini mempengaruhi fungsi spermatogenesis, sebab testosteron berperan

menginisisasi dan menjaga proses spermatogenesis dan pematangan sperma di dalam testis, melalui aksinya pada sel Leydig dan sel Sertoli. Testosteron dan FSH berperan penting dalam proses spermatogenesis yang saling mempengaruhi sel sertoli.

## **B. Spermatogenesis Pada Mencit**

Spermatogenesis merupakan rangkaian peristiwa sitologi yang tujuannya menghasilkan spermatozoa. Spermatogenesis terdapat dalam tubulus seminiferus testis dan berlangsung secara berkesinambungan sepanjang masa reproduksi (Soeradi dan Nugroho, 2002).

Spermatogenesis diawali dengan adanya pertumbuhan spermatogonium yang menjadi sel yang lebih besar yang disebut spermatosit primer. Sel-sel ini akan membelah secara mitosis menjadi dua spermatosit sekunder yang sama besar. Kemudian mengalami pembelahan meiosis menjadi empat spermatid yang sama besar (Walker dan Barnes, 1988).

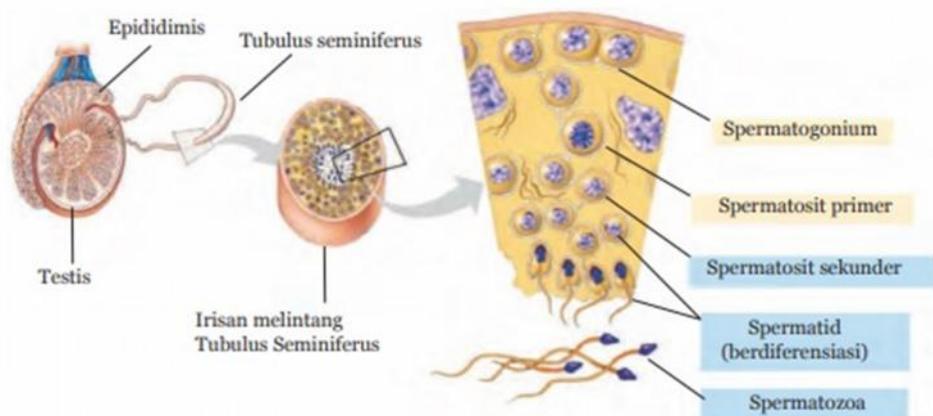
Proses pematangan spermatid menuju pembentukan spermatozoa disebut spermiogenesis. Peristiwa ini terjadi setelah meiosis selesai, dalam suatu rangkaian perubahan teratur yang mentransformasikan spermatid bulat kecil yang menjadi spermatozoa yang memanjang dan mempunyai ekor (Bevelander dan Ramaley, 1988).

Tahap dalam proses spermatogenesis menurut Bevelander dan Ramaley (1988) terdiri atas:

1. Pembentukan aukrosom
2. Perubahan dalam bentuk dan derajat kondensasi dari nukleus
3. Pembentukan flagellum yang kelak akan menjadi motil (dapat bergerak)
4. Pembentukan kembali dari sitoplasma yang ekstensif termasuk pembentukan selubung mitokondrium.

### C. Tubulus seminiferus

Testis mencit terdiri dari tubulus seminiferus dan jaringan stroma (Gambar 1). Sel generatif dan sel Sertoli pada lapisan dalam epitel tubulus seminiferus, sedangkan pembuluh darah, limfa, sel saraf, sel makrofag, dan sel Leydig terdapat pada jaringan stroma (Yatim, 1996).



**Gambar 1. Potongan melintang tubulus seminiferus pada manusia**  
**Sumber: Campbell dkk.,2008.**

Menurut Toelihere (1981) sel generatif yang masih muda disebut spermatogonia yang selanjutnya akan mengalami spermatogenesis menjadi spermatozoa. Setiap tubulus mempunyai selaput dasar (*membran basalis*) terdiri dari jaringan ikat dengan bagian luarnya yang kaya akan pembuluh pembuluh darah. Pembuluh darah ini tidak menembus membran basalis dan makanan bagi sel-sel spermatogenik yang ada di dalam tubulus diperoleh dengan jalan difusi. Potongan melintang tubulus seminiferus memperlihatkan sel-sel turunan spermatogenik (spermatogonium, spermatosit perimer, spermatosit sekunder, spermatid) tersebar dalam 4 sampai 8 lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus (Junquiera dan Cameriro 1988). Sel-sel ini membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa.

Yatim (1996) menyatakan bahwa sel Sertoli yang terdapat pada epitel tubulus seminiferus memiliki ukuran besar dan terletak di antara deretan sel spermatogenik. Inti sel Sertoli berbentuk lonjong dengan nukleolus besar dan kromatin kurang jelas, memiliki banyak retikulum endoplasma (RE) halus dan sedikit RE kasar, badan golgi yang berukuran besar, banyak mitokondria dan lisosom.

Guyton (1994) menambahkan, sel-sel ini berhubungan dengan proses spermatogenesis. Sel-sel Sertoli mensekresi cairan yang membasahi sel-sel germinal dan cairan tambahan ke dalam lumen tubulus seminiferus, sebagai nutrisi bagi sperma yang berkembang dan baru dibentuk. Sel-sel

Sertoli juga mensekresi hormon *Factor inhibisi muller*, ABP, estradiol, dan inhibin.

#### **D. Mencit (*Mus musculus* )**

Kedudukan taksonomi mencit dalam ITIS (2018) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Deuterostomia
Phyllum	: Chordata
Subphyllum	: Vertebrata
Infraphyllum	: Gnathostomata
Superclass	: Tetrapoda
Class	: Mamalia
Subclass	: Theria
Infraclass	: Eutheria
Order	: Rodentia
Suborder	: Myomorpha
Superfamily	: Muroidea
Family	: Muridae
Subfamily	: Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus</i>



**Gambar 2. Morfologi mencit (*Mus musculus*)**  
**Sumber: Dokumentasi pribadi**

Mencit merupakan salah satu mamalia pengerat yang sering digunakan sebagai hewan percobaan. Selain itu, mencit yang dipelajari secara efektif, juga dapat memberikan keterangan dasar untuk kepentingan manusia (Effendi dan Manafis, 2002).

Secara biologis mencit memiliki ciri umum, yaitu berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Mencit merupakan salah satu hewan nokturnal yang sering melakukan aktivitasnya pada malam hari. Perilaku mencit dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain faktor internal seperti perbedaan umur, seks, hormon, kehamilan, dan penyakit; faktor eksternal seperti minuman, makanan, dan lingkungan disekitarnya. Mencit dapat bertahan hidup selama 1-2 tahun dan dapat juga mencapai umur 3 tahun. Lama bunting selama 19-21 hari sedangkan umur untuk siap dikawinkan mencapai 8 minggu. Perkawinan mencit terjadi pada saat mencit betina mengalami estrus. Kemampuan satu

induk dapat menghasilkan 6-15 ekor anak (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

Mencit termasuk hewan poliestrus, siklusnya dapat berlangsung setiap 4-5 hari sekali, lamanya birahi berlangsung antara 9-20 jam, estrus terjadi 20-40 jam setelah partus. Penyapihan dapat menginduksi estrus dalam 2-4 hari. Cara perkawinan mencit berdasarkan rasio jantan dan betina dibedakan atas monogamus, triogamus, dan harem sistem. Monogamus terdiri dari satu jantan dan satu betina, triogamus terdiri dari satu jantan dan dua betina, sementara harem terdiri dari satu jantan dan lebih dari tiga betina dalam satu kandang (Yuwono *et al.*, 2006).

#### **E. Hormon Reproduksi pada Mencit**

Menurut Syaifuddin (2011), hormon adalah substansi yang dihasilkan oleh sel atau kelompok sel yang bergerak dalam aliran darah yang mengantarnya ke organ target atau jaringan dalam tubuh yang memberikan suatu reaksi yang dapat menolong mengkoordinasi fungsi-fungsi dalam tubuh. Hormon dapat memberikan efeknya pada struktur-struktur target dengan cara :

1. Memengaruhi jalur-jalur metabolik secara langsung
2. Mengontrol perkembangan organ-organ spesifik atau produk-produk sekretorisnya
3. Mengubah fungsi gen

##### **a. Klasifikasi Hormon Reproduksi Berdasarkan Unsur Pembentuknya**

Semua hormon berpartisipasi dalam semua aspek reproduksi. Partisipasi

ini mungkin melalui kerja langsung terhadap fungsi fisiologik lingkungan internal yang menjamin keberhasilan reproduksi atau pengaruh tidak langsung. Hormon-hormon reproduksi dibagi dalam tiga kategori menurut unsur pembentuknya, yakni golongan protein (peptida), golongan steroid, dan golongan asam lemak. Berikut penjelasan dari ketiga golongan hormon diatas, sebagai berikut.

1. Hormon protein atau polipeptida bermolekul besar dengan berat molekul 300-70.000 dalton dengan sifat-sifat mudah dipisahkan oleh enzim sehingga tidak dapat diberikan melalui oral tetapi harus diberikan melalui suntikan (Contohnya : Gn-RH).
2. Hormon steroid mempunyai berat molekul 300-400 dalton. Hormon steroid alami tidak efektif apabila diberikan melalui oral, tetapi steroid sintesis dan yang berasal dari tumbuhan dapat diberikan melalui oral maupun suntikan (Contohnya : estrogen, progesteron, dan androgen).
3. Hormon asam lemak mempunyai berat molekul 400 dalton dan hanya dapat diberikan melalui suntikan (Contohnya: prostaglandin) (Luqman, 1999).

#### b. Hormon-hormon Reproduksi Primer

##### 1. Kelenjar Hipofisis

Kelenjar hipofisis terletak di dalam legokan pada dasar ruang otak yang dikenal sebagai *sella turcica*. Kelenjar ini mensekresikan sejumlah hormon-hormon, seperti *Melanophore Stimulating Hormone* (MSH) dan *Vasopressin* juga disekresikan oleh kelenjar hipofisis. MSH mengatur sintesis dan penyebaran melanin sedangkan

*Vasopressin* mempengaruhi tekanan darah dan keseimbangan air dalam tubuh.

## 2. Hormon-hormon gonadotropin

Kelenjar adenohipofisis mensekresikan tiga hormon gonadotropin yaitu, FSH, LH, dan LTH. Hormon-hormon ini sangat penting dalam pengaturan ovarium dan testis untuk produksi ovum dan spermatozoa dan pelepasan hormon-hormon gonadal yaitu testosteron, estradiol, dan progesterone (Anonim, 2016).

3. Hormon Gonadal Gonad, yaitu testis pada hewan jantan dan ovarium pada hewan betina sebagai organ-organ kelamin merupakan tempat pembentukan hormon-hormon kelamin jantan dan betina selain fungsinya sebagai penghasil gamet atau sel-sel kelamin. Pada umumnya, hormon-hormon gonadal berfungsi mempertahankan organ-organ kelamin pelengkap dan sifat-sifat kelamin sekunder (Linda dan Danny, 2008). diproduksi di dalam testis dan sedikit oleh korteks adrenal.

## F. Tumbuhan Suruhan

1. Klasifikasi Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) menurut (Backer. C., 1968 : 85-594, Sutrisno.B, 1998 : 9-234).

Kerajaan : plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Kelas : Dicotyledoneae  
 Bangsa : Piperales  
 Suku : Piperaceae

Marga : *Peperomia*

Jenis : *Peperomia pellucida* L. Kunth



**Gambar 3. Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida*)  
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)**

Tumbuhan merupakan salah satu tanaman herba yang biasa ditemukan tumbuh liar di tempat-tempat yang lembab atau sedikit terlindung pada daerah yang kurang subur, seperti pinggiran selokan, sela-sela bebatuan, celah dinding yang retak, dinding yang curam, ladang, dan pekarangan. Tumbuhan yang berasal dari Amerika tropis ini bisa ditemukan dari dataran rendah sampai 1000 m di permukaan laut. Pada daerah yang tidak begitu kering. Tanaman semusim ini tumbuh tegak dengan tinggi 40 cm. Memiliki daun yang berbentuk seperti hati, batang bulat silindris, herba. Tumbuhan suruhan ini memiliki bunga pada bagian tangkai dan ketiak daun, batang berwarna sedikit keunguan dan ada yang berwarna kehijauan yang banyak mengandung air. Buah tanaman berbentuk bulat, (Backer, 1965).

## 2. Kandungan Senyawa Tumbuhan Suruhan

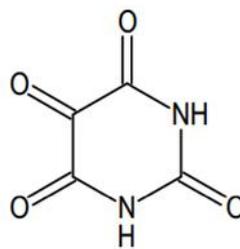
Tumbuhan suruhan salah satu spesies yang memiliki khasiat sebagai obat antidiabetes (antihiperqlikemik). Hasil penelitian Kusumawarni *et al.*, (2012) mnyatakan bahwa fraksi etil asetat dari tumbuhan suruhan memiliki aktivitas antidiabetes terhadap tikus yang hiperqlikemik akibat diinduksi dengan aloksan. Persentase penurunan kadar glukosa darah pada penelitian tersebut sebesar 53.44% dan tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (obat antidiabetes).

Beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tumbuhan suruhan mempunyai potensi sebagai antiinflamasi (Wijaya dan Monica, 2004), memiliki efek antipiretik (Khan, *et al.*, 2007), antimikroba dan anti kanker (Wei, *et al.*, 2011), Penelitian Lestari (2010), diketahui bahwa herba suruhan mengandung senyawa kimia golongan glikosida, falavonoid, tanin dan steroid/triterpenoid, alkaloid, tanin, kalsium oksalat, lemak, dan minyak atsiri (Khare, 2007).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat menjaga testis dari stres oksidatif dan kerusakan DNA. Menurut Chauhanan Dixit, antioksidan dapat mengubah level androgen seperti hormon testosteron yang bertanggungjawab pada proses spermatogenesis.

## G. Induksi Aloksan

Aloksan merupakan salah satu senyawa kimia diabetogenik yang sering digunakan pada hewan percobaan. Aloksan sebagai suatu substrat yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana yang mempunyai kemampuan untuk merusak sel  $\beta$  pankreas sehingga menurunkan produksi insulin. Aloksan mampu menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostatis yang berawal dari matinya sel (Rohilla dan Shahjad, 2012). Sebagai zat diabetogenik yang digunakan aloksan mampu menimbulkan keadaan hiperglikemia dalam waktu 2 – 3 hari dengan aksi toksiknya di pengaruhi oleh radikal bebas (Sunaryo, 2012). Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Szkudelski, 2001).



**Gambar 4. Struktur Kimia Aloksan Monohidrat (Sumber: Yuriska, 2009).**

Mekanisme kerja aloksan dalam merusak sel pankreas menunjukkan bahwa aloksan merupakan agen oksidator kuat yang dapat menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar sehingga menimbulkan keadaan stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan suatu keadaan terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan. Sehingga keadaan ini dapat mengakibatkan rusaknya sel pankreas yang memicu peningkatan kadar glukosa darah (Hasbi, 2013)

## H. Glibenklamide

Glibenklamid merupakan obat antidiabetes oral yang paling sering digunakan untuk pengobatan Diabetes Mellitus (DM). Glibenclamide bekerja dengan cara menstimulasi pengeluaran insulin dengan cara menghambat penempelan reseptor sulfonil urea di sel pulau langhears dan mampu menyebabkan adanya tegangan pembukaan *calcium chanel* yang akhirnya terjadi peningkatan kalsium intra sel (Akash, *et al.*,2013). Glibenklamid atau sering juga disebut *gliburide* merupakan obat diabetik oral yang biasanya dibuat dalam bentuk sediaan tablet dengan bahan tunggal maupun bahan campuran. Tablet yang dibuat dapat berisi glibenklamid tunggal maupun dengan campuran dari beberapa obat antidiabetes lain seperti campuran antara metformin dan glibenklamid. Dalam penelitian ini di gunakan aloksan untuk meningkatkan kadar glukosa darah mencit dan penggunaan glibenklamid sebagai obat pembanding karena dapat meningkatkan sekresi insulin (Guyton and Hall, 1997).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung untuk tempat pemeliharaan mencit, pembuatan ekstrak etanol suruhan, pemberian perlakuan, penimbangan berat basah organ testis, dan pengamatan histologi. Pembuatan preparat histologi akan dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung. Penelitian ini akan dilaksanakan selama bulan September-Oktober 2018.

#### **B. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit yang terbuat dari plastik berukuran 50x30cm sebanyak 30 unit yang akan dibagi menjadi 6 kelompok, tempat makan dan minum mencit, seperangkat alat, sonde lambung digunakan untuk mencekakan ekstrak suruhan ke hewan uji bedah (pisau bedah, jarum, pinset, dan papan bedah), alumunium foil, neraca untuk menimbang berat badan mencit, kapas dan kertas label. Alat gelas yang digunakan antara lain gelas Beaker, Erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, dan tabung reaksi, corong, batang pengaduk

,mesin penggiling, rotary evaporator digunakan untuk menguapkan pelarut etanol, botol film digunakan untuk menyimpan organ sebelum dibuat preparat histologi, Alat lain yang digunakan seperti mikroskop, slide preparat, mikrometer.

## **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 30-40 gram yang diperoleh dari Balai Veteriner Lampung, pakan mencit berupa pellet, air, etanol 96% digunakan sebagai pelarut pada proses maserasi, dan aquadest. Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak suruhan, yaitu bahan ekstrak yang diujikan pada mencit diabetes, aloksan digunakan sebagai induktor untuk membuat mencit menjadi diabetes. Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi terdiri dari paraffin, Hematoxylin, eosin, xylol, alkohol (70%, 80%, 90%, dan 100%), kanada balsam, dan larutan buffer formalin 10%.

## **C. Prosedur Penelitian**

### **1. Persiapan Kandang dan Hewan Uji**

Sebelum dilaksanakannya penelitian, disiapkan kandang untuk hewan uji berukuran 50 x 30 cm dan hewan uji berupa mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan sekitar 30-40 gram. Mencit jantan sebanyak 30 ekor dikelompokkan 5 kelompok perlakuan dan masing-masing

kelompok perlakuan terdiri dari 6 pengulangan,. Mencit diberi makan berupa pelet dan minum setiap hari.

## **2. Rancangan Percobaan**

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). yang dilakukan selama 35 hari, . Sedangkan untuk induksi aloksan dilakukan pada hewan uji 3 kali selama 6 hari. Hewan uji yang digunakan yaitu mencit jantan yang berjumlah 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan masing-masing dengan 5 kelompok pengulangan (K-, K+, P1, P2, P3) . Setiap kelompok diperlakukan secara berbeda, yaitu sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol,normal (K-) hanya diberi diinduksi aloksan untuk dengan dosis 150 mg/kgBB sebanyak 3 kali selama 6 hari.
- b. Kelompok kontrol positif (K+) diinduksi aloksan untuk membuat mencit diabetes dengan dosis 150 mg/kgBB sebanyak 3 kali selama 6 hari dan glibenklamide 0,65mg/kgBB) selama 35 hari.
- c. Kelompok perlakuan 1 (P1), ekstrak suruhan 56 mg/kgBB/hari selama 35 hari dan diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB sebanyak 3 kali selama 6 hari.
- d. Kelompok perlakuan 2 (P2), ekstrak suruhan 112 mg/kgBB/hari selama 35 hari dan diinduksi dengan aloksan dosis 150 mg/kgBB sebanyak 3 kali selama 6 hari.

- e. Kelompok perlakuan 3 (P3), ekstrak suruhan 168 mg/kgBB/hari selama 35 hari dan diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB sebanyak 3 kali selama 6 hari.

### 3. Pembuatan Ekstrak Suruhan

Ekstrak etanol suruhan dibuat di Laboratorium Zoologi FMIPA Universitas Lampung. Dalam penelitian ini pembuatan ekstrak menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Tumbuhan suruhan semua diambil dari akar sampai bagian batang dan daunnya dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan kotoran dan mikroba yang menempel pada tumbuhan kemudian dibilas dengan aquadest. Setelah itu tumbuhan suruhan dikering anginkan pada suhu ruang sampai air pada permukaan tumbuhan suruhan mengering. Selanjutnya, tumbuhan suruhan dihancurkan dan dipotong-potong hingga mudah untuk dihaluskan dengan *blender*. Kemudian suruhan yang sudah dihaluskan ditambahkan etanol 96% untuk melakukan ekstraksi dan dimaserasi selama 24 jam. Proses ekstraksi dilakukan berulang-ulang hingga ekstrak yang didapat tidak berwarna lagi. Hasil maserasi ini selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring dan diambil filtratnya. Filtrat yang telah didapatkan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50° C di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Lampung sehingga diperoleh ekstrak kental.

## **D. Perlakuan Terhadap Hewan Uji**

### **1. Pengukuran Berat Badan Mencit**

Selama 35 hari percobaan, kemudian berat badan mencit ditimbang pada seluruh mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil pengukuran dibandingkan untuk setiap kelompok perlakuan.

### **2. Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah**

Dalam pemeriksaan kadar glukosa darah pada mencit ini dilakukan sebanyak 3 kali. Tahap pertama dilakukan sebelum mencit diinduksi aloksan, hal ini bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa awal mencit. Tahap kedua dilakukan setelah mencit selesai diinduksi aloksan, hal ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya peningkatan kadar glukosa darah mencit. Tahap ketiga dilakukan setelah mencit diberi perlakuan dengan ekstrak suruhan, hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan kadar glukosa darah mencit sebelum dan sesudah perlakuan yang diberikan. Selanjutnya untuk pemeriksaan kadar glukosa darah ini dilakukan menggunakan glucometer strips. Mencit harus dipuasakan selama 8 jam untuk dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darahnya. Ujung ekor mencit disterilkan menggunakan alkohol 70% tujuannya agar tidak terjadi iritasi kemudian dipotong sedikit. Darah yang keluar dari bagian ekor mencit tersebut kemudian diteteskan pada kotak sensor pada strip glucometer yang sebelumnya telah dimasukan ke glucometer. Setelah beberapa saat akan muncul angka pada layar glucometer. Sejumlah tertentu darah akan terserap sesuai dengan kapasitas serap test strip sampai terdengar bunyi bip, setelah itu pendarahan mencit

dihentikan dengan . Hasil akan terlihat pada layar setelah 150 detik untuk uji kolesterol

### **3. Induksi Aloksan**

Dalam induksia aloksan ini masing-masing mencit ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan jumlah dosis aloksan yang akan diinduksi. Dosis aloksan yang digunakan adalah 150mg/BB. Dua jam setelah pemeriksaan gula darah, aloksan selanjutnya diinduksikan pada mencit dengan disuntikan secara subkutan setiap 3 kali selama 6 hari (Szkudelski, 2001).

### **4. Pemberian Ekstrak Suruhan**

Pemberian ekstrak suruhan ada penelitian ini dilakukan secara peroral menggunakan sonde lambung setelah proses induksi aloksan selesai dilakukan yaitu pada hari ke 6. Pemberian ekstrak dilakukan selama satu siklus spermatogenesis mencit yaitu 35 hari. Setiap kelompok perlakuan diberi ekstrak suruhan dengan dosis yang berbeda sesuai dengan rancangan penelitian. Ekstrak dalam volume maksimum dengan pemberian ekstrak pada mencit secara peroral yaitu 1% berat badan.

### **5. Pembuatan Preparat Histologi Tubulus Seminiferus**

Setelah dilakukan pembedahan langkah selanjutnya pembuatan preparat histologi testis menggunakan metode paraffin dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE). Langkah awal organ testis yang telah dipilih difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10%. Kemudian

dicuci dengan air mengalir 3-5 kali. Langkah kedua *embedding* yaitu proses peletakan organ di suatu kotak tanam dengan tujuan mengisi jaringan dengan parafin sebagai pengikat jaringan. Organ testis dipotong kecil-kecil hingga ukuran  $\pm 3$  mm, kemudian dimasukkan ke dalam *embedding cassette*. Langkah ketiga *Dehidration* yaitu proses untuk menghilangkan kadar air dengan cara meletakkan *embedding cassette* pada kertas tisu. Kemudian organ testis direndam berturut-turut dalam alkohol bertingkat 70%, 96%, 96%, dan 96% masing-masing selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan perendaman alkohol absolut I, II, III selama 1 jam. Tahap keempat *embedding* yaitu proses peletakan organ di suatu kotak tanam dengan tujuan mengisi jaringan dengan parafin sebagai pengikat jaringan. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan dan dipindahkan satu persatu dari *embedding cassette*, kemudian paraffin yang berisi potongan testis dilepaskan dari pan dengan memasukkan ke dalam suhu 4-6°C beberapa saat. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan scalpel hangat dan diletakkan pada balok kayu. Tahap kelima *cutting* yaitu proses pemotongan jaringan. Kemudian lembaran jaringan dalam paraffin dipotong dengan ketebalan 4-5 mikron secara *obliq* dan dilekatkan pada gelas obyek. Slide dipanaskan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk merekatkan jaringan dan mencairkan sisa paraffin sebelum pewarnaan. Selanjutnya preparat dikeringkan selama satu malam dalam inkubator (40°C). Preparat kemudian di deparafinisasi dalam xylol, direhidrasi dalam alkohol dan diwarnai dengan Haematoxylin-Eosin (HE). Setelah

pewarnaan selesai slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat yang datar, lalu ditetesi dengan bahan *mounting* berupa kanada balsam dan ditutup dengan *cover glass*. Kemudian preparat dapat langsung diamati dibawah mikroskop.

## **6. Perhitungan Jumlah Sel Spermatisit primer, Sel spermatid dan Diameter Tubulus seminiferus**

### **a. Perhitungan Jumlah Sel Spermatisit dan Sel spermatid**

Perhitungan dilakukan dengan mengamati preparat histologi dari irisan tubulus seminiferus. Pemilihan tubulus seminiferus yang baik dan bulat dengan menggunakan mikroskop kemudian preparat diambil 3 tubulus seminiferus yang sesuai untuk dihitung sel spermatisit primer dan sel spermatid didalamnya. Setelah mendapatkan pengamatan tubulus seminiferus yang sesuai dilakukan perhitungan dibawah perbesaran 40 x 10.

### **b. Pengukuran Diameter Tubulus seminiferus**

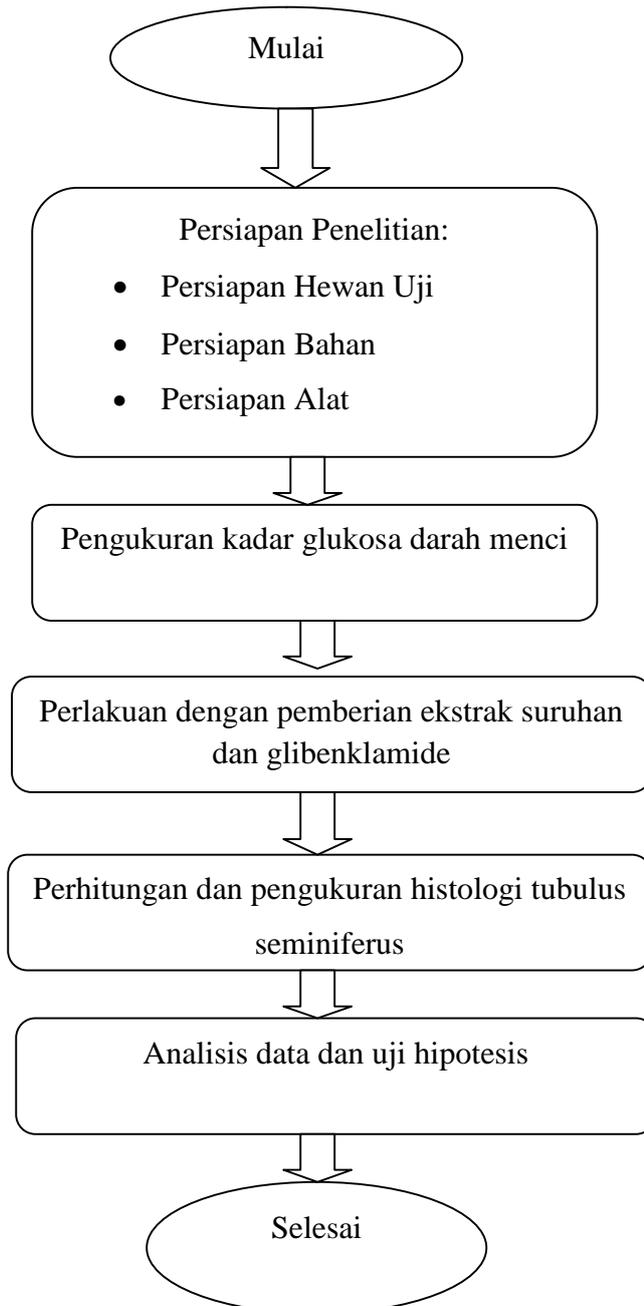
Pengukuran diameter tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikrometer pada lensa okuler. Diameter diambil antar titik pada membrane basal melalui sel spermatogenik. Pengukuran menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10.

## **E. Analisis Data dan Pengujian Hipotesis**

Pada tiap kelompok jumlah sel spermatisit primer, sel spermatid dan pengukuran diameter tubulus seminiferus yang terkumpul dianalisis menggunakan program SPSS dengan menggunakan *Analisis of Varian*

(ANOVA) pada taraf nyata 95% dan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menguji perbedaan rerata antar kelompok perlakuan.

#### F. Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. Diagram Alir Metode Penelitian

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa pemberian ekstrak tumbuhan suruhan dengan dosis 56/mg/kgBB dan 112/mg/kgBB mampu meningkatkan jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid dan diameter tubulus seminiferus mencit yang diinduksi aloksan.

### **B. Saran**

Disarankan pada peneliti lain untuk dapat meneliti secara terperinci pada parameter lainnya dan pembuatan histologi tubulus seminiferus menggunakan teknik imunohistokimia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akash MSH, Rehman K, Chen S. 2013 *Role of inflammatory Mechanisms Inpathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus*. J Cell Biochem. 114: 525-531.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. UIN Jakarta : Adabia Press.
- Amalina. 2010. *Pengaruh pemberian Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica L.) Terhadap Spermatogenesis Mencit. (Skripsi)*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Anonim. 2016. Hormon Reproduksi.  
<https://veterinariangirl.wordpress.com/2016/02/06/hormon-reproduksi/>  
diakses pada tanggal 18 Juli 2018 pukul 00.01 WIB.
- Backer. C.A V brink R.C.B, *flora Of Java*, Netherlands : 1968. Harbone, J.B.  
*Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB, 1987.
- Ben Greenstein & Diana Wood. *At A Glance Sistem Endokrin*. Jakarta, Erlangga, 2012, ed.2, hal. 66.

- Bevelander, G dan Ramaley. 1988. *Dasar-dasar Histologi*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Campbell, N.A., Reece. J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., & Jackson, R.B. 2008. *Biology* 8th edition. USA : Pearson Education, Inc.
- Chauhan, N.S and Dixit V.K. 2008. Original Article Spermatogenic Activity of Rhizomes of *Curculigo orchioides* Gaertn in Male Rat. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. Vol. 1(2): 26-31.
- Chen, G.L., Wei, W., Xu, S.Y, 2006 *Effect and mechanism of total saponin of Dioscorea on animal experimental hyperuricemia*, *Journal China Medicine*, 34 (1), 77-85
- Effendi, E.M.dan S. Manafis. 2002. Respon Komposisi Dosis HormonPMSG Dan HCG Terhadap Hasil Superovulasi dan Perkembangan *In Vitro* Embrio Mencit umur 2 hari. *Ekologia*. Vol.2. No. 1.Hlm.19-24.
- Faranita, O. V. 2009. Kualitas Spermatozoa Pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Mellitus. *Skripsi, Universitas Diponegoro*.
- Guyton, A.C.1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian III*. ECG Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.

- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2004. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. In: Setiawan, I., editor. Edisi ke-10. EGC, Jakarta.
- Haida. 2013. *Hubungan Empat Pilar Pengendalian DM Tipe 2 Dengan Rerata Kadar Gula Darah*. (Skripsi) Departemen Epidemiologi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya, Jawa Timur
- Heckert, L. L., D. Michael, dan Grisworld. 2002. *The Expression of the Follicle stimulating Hormone Receptor in Spermatogenesis*. Article the *Endocrine Society al rights of reproduction in any form reserved*. Pages 129-148.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2018. Taxonomic Hierarchy of *Carica papaya* L. <http://itis.gov/servlet/singlerpt?> Diakses pada Tanggal 23 Oktober 2018 pukul 21.58 WIB.
- Junquiera, L. C. dan Cameriro. 1988. *Basic Hitology. 3rd Edition*. Terjemahan: H. Dharma. ECG Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Kawatu, C., W. Bodhi dan J. Mongi. 2013. *Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kucing-Kucingan (Acalypha Indica L.) terhadap Kadar glukosa darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus novergicus)*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2: 81-85.
- Khare. C.P. *Indian Medical Plants*. India. New Delhi : Springer 2007.

- Kondoy, S., A.Wullur., dan W. Bodhi. 2013. *Potensi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (Cinnamomum burmanii) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darahdari Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) yang Diinduksi Sukrosa*. *Pharmacon*.2: 96-99.
- Kusumawarni , P., Supriyatna, dan Y. Susilawati. 2012. *Aktivitas Antidiabetes Fraksi Etil Asetat dari Herba Sasaladaan (Peperomia pellucida (L.) Kunth.) dengan Metode Induksi Aloksan*. eJournal Mahasiswa Universitas Padjadjaran. Vol. (1).
- Lestari U, 2001. Suatu kajian: Isolat Tumbuhan Sebagai bahan Antifertilitas. *MIPA jurnal Mat, IPA dan Pengajarannya*. 30:30.
- Linda J. H.,and J. S. Danny. 2008. *At a Glance: Sistem Reproduksi*. EGC. Jakarta.
- Long BC. 1996. *Perawatan Medikal Bedah (Suatu Pendekatan Proses Keperawatan)*. :Alih Bahasa Yayasan Ikatan Alumni Keperawatan : Bandung p 4, 6, 14-7.
- Luqman, M., 1999.*Fisiologi Reproduksi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mayes PA. 2003. Metabolisme asam lemak tak jenuh dan eikosanoid dalam Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. (Eds). *Biokimia Harper*. Alih bahasa oleh Andry Hartono, Editor edisi bahasa Indonesia oleh Bani AP, Sikumbang TMN. Edisi 25. EGC. Jakarta. pp 242-259.

- Nugroho, A. E. 2006. *Animal Models Of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism Of Some Diabetogenics*. *Laboratorium Farmakologi dan Toksikology*, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. *Review*. Vol (7) : 378 – 382.
- Pasaribu, F., P. Sitorus., dan S. Bahri. 2012. Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 1:1-8.
- Perkeni. 2002. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia 2002*. Semarang. Hal 6 – 7.
- Rachmadi, A. 2008. *Kadar Gula Darah dan Kadar Hormon Testosteron Pada Pria Penderita Diabetes Mellitus*.(Tesis) Universitas Diponegoro Semarang.
- Rahmi, Annisa. 2011. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa L) terhadap Gambaran Histopatologi Organ Testis Mencit (Mus musculus)*. Bogor, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB
- Rizalhafiz. 2008. *Pengaruh Pemberian Minyak Jinten Hitam (Nigella sativa) Terhadap Morfologi Spermatozoa Mencit Diabetes Mellitus yang Diinduksi Aloksan*. Artikel Karya Tulis Ilmiah Fakultas kedokteran Universitas Dipenegoro Semarang.
- Rohilla, A. A. Shahjad. 2012. *Alloxan Induced Diabetic: Mekanisme and Effect*.

*Internasional Journal Of Reaserch in Pharmaceutical and Biomedical Science*. Vol. 3: 819 – 823.

Saleh, C., S. Sitorus., dan R. Nursanti.2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi *Anredera cordifolia* [Ten.]Steenis. *Mulawarman Scientifie*. 11: 95-99.

Satriyasa, B.K. 2005. Fraksi Heksan Ekstrak Biji Pepaya Muda Dapat Menghambat proses Spermatogenesis mencit jantan Lebih Besar Daripada Fraksi Metanol Ekstrak Biji Pepaya Muda. *Jurnal Penelitian Juli 2005*. Bagian Fharmakologi Ilmu Kedokteran Universitas Udayana Denpasar. Bali.

Singab ANB, El – Eshbishy, Y. Makiko and N. Taro. 2005. Hypoglicemic effect of Egyptian Morus Alba Root Bark Exratct Effect on Diabetes and Lipud Peroxidation of Streptozocin Induced Diabetic Rat. *Journal of Ethnopharmacology*.Vol 100 : 333 -338.

Shumei, L., J. Yang, G. Wu, M. Liu, X. Luan, L. Qiufeng, H. Zhao, Jianmin. 2010. *Preventive Effect of aurin on experimental type II diabetic nephropathy*. *Journal of Biomedical Science*. Vol. 17 (1) 546.

Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus)*: 37- 57. Penerbit Universitas Indonesia.

Soeradi, O. dan Y. A. Nugroho. 2002. Toksisitas Akut dan Efek Pemberian

Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) terhadap Struktur Anatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 1(1):35-37.

Syaifuddin. 2011. *Fisiologi Tubuh Manusia*. Salemba Medica. Jakarta.

Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas [Internet]. :[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314) diakses pada tanggal 12 September 2018

Tiwani, A.K, J.M. Rao. 2011. *Diabetes Melitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals*: Present status dan future prospect. *current science*; vol. 83, 1 (30-38).

Trisnawati, Shara.Kurnia dan Sutiyorogo, Soedijono. 2012. *Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe II Di Puskesmas Kecamatan Cengkareng Jakarta Barat* . *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2015: 5(1).

Toelihere, M. R. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.

Wei, L.S., W. Wee, J.Y.F Siong & D.F. Syamsumir, 2011, *Characterization of anticancer, antimicrobial, antioxidant properties and chemical compositions of (Peperomia pellucid extract*. *Acta medica Iranica* 49(10); 670-674

Walker, V. dan Barnes, diterjemahkan oleh Soegiri, N. 1988. *Zoologi Umum*. Erlangga. Jakarta.

- Wijaya, S., dan S.W. Monica.2004. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) pada Tikus Putih Jantan.*Berk.Penel.Hayati*.  
9:115-118.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Kanisius: Yogyakarta  
Hlm 1-6
- Yatim, W. 1996.*Histologi*.Tarsito. Bandung.
- Yuriska, 2009. *Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar*.  
(Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Yuwono S.S., E. Sulaksono, dan R. P. Yekti. 2006. Keadaan Nilai Normal Baku Mencit *Strain CBR Swiss Derived* di Pusat Penelitian Penyakit Menular.  
<http://www.kalbefarma.com/filesedk/15keadaannilainormal92.pdf/15-0keadanilainormal/92.html>.