

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*
(Park.) Fosberg) TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOGENIK,
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK DAN DIAMETER
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* L.)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

(Skripsi)

Oleh

DEWI LARASATI



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

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*
(Park.) Fosberg) TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOGENIK,
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK DAN DIAMETER
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* L.)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**Oleh
Dewi Larasati**

ABSTRAK

Hiperglikemia atau tingginya tingkat glukosa darah merupakan penyebab utama penyakit *Diabetes Mellitus* yang diketahui dapat menyebabkan gangguan ejakulasi dan mengganggu spermatogenesis. Dengan adanya gangguan spermatogenesis maka akan menyebabkan penurunan pada populasi sel spermatogenik di dalam tubulus seminiferus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) dalam memperbaiki kerusakan tubulus seminiferus yang disebabkan oleh tingginya radikal bebas pada mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima kelompok perlakuan dengan masing-masing lima ulangan menggunakan mencit jantan. Kelompok K- sebagai kontrol negatif (diberi 0,4 ml aquabides dan pakan standar), kelompok K+ sebagai kontrol positif (diinduksi aloksan 150 mg/kg BB), kelompok P1 (diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun sukun dengan dosis 5,6 mg/40 gr BB), P2 (diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun sukun dengan dosis 11,2 mg/40 gr BB), dan P3 (diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun sukun dengan dosis 22,4 mg/40 gr BB). Data yang diperoleh diuji menggunakan *One Way* ANOVA dan dilanjutkan dengan BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sukun terhadap tubulus seminiferus mencit yang diinduksi aloksan dapat meningkatkan rata-rata jumlah sel spermatosit primer dan diameter tubulus seminiferus mencit secara signifikan, namun tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan jumlah sel spermatogonia, sel spermatid, dan ketebalan sel-sel spermatogenik tubulus seminiferus.

Kata kunci : *Hiperglikemia, Artocarpus altilis, Tubulus Seminiferus*

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*
(Park.) Fosberg) TERHADAP JUMLAH SEL-SEL SPERMATOGENIK,
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK DAN DIAMETER
TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* L.)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

DEWI LARASATI

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS (S.Si.)

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Judul Skripsi

**: PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) TERHADAP
JUMLAH SEL-SEL SPERMATOGENIK,
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK DAN
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT
(*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Nama Mahasiswa

: Dewi Larasati

No. Pokok Mahasiswa : 1517021108

Jurusan / Program Studi : Biologi / S1 Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 19660305 199103 2 001

Pembimbing II

Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.
NIP.19570424 198703 1 001

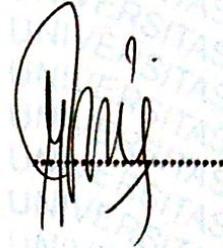
2. Ketua Jurusan Biologi
FMIPA Unila

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 19610112 199103 1 002

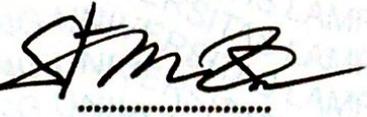
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

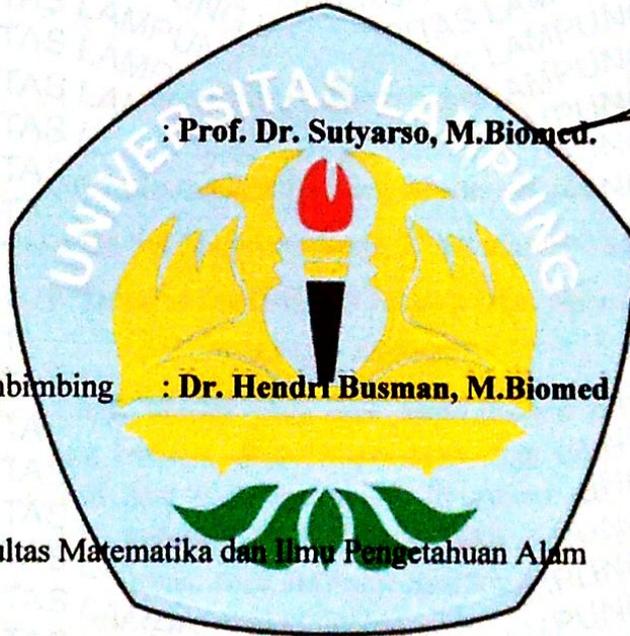
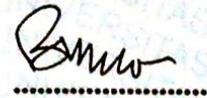
Ketua : Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.



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



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



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Drs. Suratman, M.Sc.
NIP. 19640604199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 2 Agustus 2019

Judul Skripsi : **PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN
(*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) TERHADAP
JUMLAH SEL-SEL SPERMATOGENIK,
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK DAN
DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT
(*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Nama Mahasiswa : *Dewi Larasati*

No. Pokok Mahasiswa : 1517021108

Jurusan / Program Studi : Biologi / S1 Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 19660305 199103 2 001

Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.
NIP.19570424 198703 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**

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

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

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Drs. Suratman, M.Sc.
NIP. 19640604199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **2 Agustus 2019**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dewi Larasati

NPM : 1517021108

menyatakan dengan sebenar-benarnya dansesungguh-sungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) Terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatogenik, Ketebalan Sel-Sel Spermatogenik Dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Aloksan”

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan / atau program studi untuk kepentingan publikasi. Jika dikemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum

Bandar Lampung, 8 Agustus 2019

Yang menyatakan,



Dewi Larasati

NPM. 1517021108

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pringsewu, pada tanggal 19 November 1998, sebagai putri kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak H. Arjo Suwito, dan Ibu Pains. Mempunyai satu orang kakak yaitu Alfi Rohmatin, dan satu orang adik yaitu Syayid Abdul Ghofar.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-kanak di Taman Kanak-kanak (TK) Aisyah Wargomulyo pada tahun 2003. Pendidikan Sekolah Dasar di Sekolah Dasar Negeri 3 Sidodadi pada tahun 2009. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di Madrasah Tsanawiyah (MTs) Negeri Pringsewu pada tahun 2012, dan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 2 Pringsewu pada tahun 2015. Pada tahun yang sama penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung (UNILA) pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Mandiri Universitas Lampung (SIMANILA) angkatan 2015.

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Struktur Perkembangan Hewan dan Embriologi Hewan. Selain itu selama kuliah penulis juga turut aktif dalam organisasi Himpunan

Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Kaderisasi pada periode 2016 – 2017. Pada tahun 2016 penulis melakukan Karya Wisata Ilmiah di Desa Air Naningan, Tanggamus selama 7 hari. Pada tahun 2018 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tegal Ombo, Kecamatan Way Bungur, Kabupaten Lampung Timur selama 40 hari dari bulan Juli – Agustus 2018.

Pada Tahun 2018 Penulis melaksanakan Kerja Praktik (KP) dengan judul **“Teknik Pengamatan Karakteristik Kotoran Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatera – Taman Nasional Way Kambas”** di Taman Nasional Way Kambas, Lampung Timur, Lampung.

Kini dengan penuh perjuangan, kerja keras, dan proses pembelajaran yang tiada henti, akhirnya penulis dapat menyelesaikan pendidikan Strata 1 (satu) di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah Dengan mengucap rasa syukur Kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas takdirMu Engkau jadikan hamba manusia yang senantiasa berfikir, berilmu, beriman, dan sabar dalam menjalani kehidupan ini

Dengan segala kerendahan hati kupersembahkan karya kecilku ini untuk kedua orang tuaku bapak Arjo Suwito dan ibu Painsi, terimakasih atas segala sesuatu yang telah dilakukan untukku dengan ikhlas , mulai dari membesarkanku, mendidikku serta bekerja banting tulang yang tiada ternilai harganya. Terimakasih atas semua pengorbanan cinta dan kasih sayang tanpa batas yang terpancar dalam setiap lantunan do'a yang selalu diutarakan untukku dan restumu yang selalu mengiringi langkah anakmu selama ini

Kakakku Alfi Rohmatin, Adikku Syayid Abdul Ghofar, dan seluruh keluarga besarku yang selalu memberi semangat dan dukungan disetiap langkahku untuk menyelesaikan studiku.

Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmu dengan tulus Ikhlas serta sahabat-sahabatku yang selalu mendukung dan menemaniku saat senang maupun sedih

Almamaterku tercinta

Universitas Lampung

MOTTO

*"Jadikanlah hidup ini dengan memberi yang sebanyak-banyaknya ke sesama,
jangan jadikan hidup ini dengan menerima yang sebanyak-banyaknya"*

(Laskar Pelangi)

"Raihlah ilmu, dan untuk meraih ilmu belajarlah untuk tenang dan sabar.

(Khalifah Umar)

*"Jangan pernah berpikir bahwa mimpimu tidak akan mungkin tercapai hanya
karena mereka tidak terwujud dalam waktu dekat"*

(Jack Ma)

*"Lakukanlah sesuatu dengan niat ikhlas hanya karena Allah SWT., niscaya
semuanya akan terasa mudah dan lancar, serta menjadi berkah hingga di
akhirat"*

(Penulis)

*"Menjadi seorang yang berguna itu jauh lebih penting daripada hanya ingin
dianggap penting"*

(Penulis)

SANWACANA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT., yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah serta cinta dan kemurahanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) Terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatogenik, Ketebalan Sel-Sel Spermatogenik Dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Aloksan”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

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

1. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Pembimbing 1 yang telah dengan sabar memberi masukan, saran serta membimbing selama proses pembuatan skripsi ini;

2. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed., selaku Pembimbing 2 yang dengan sabar membimbing, memberi perhatian, dan membagi ilmu serta membantu penulis menyelesaikan skripsi ini;
3. Bapak Dr. Hendri Busman, M.Biomed., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang sangat membantu penulis dalam memperbaiki skripsi ini;
4. Ibu Dra. Yulianty, M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi FMIPA Universitas Lampung;
5. Bapak Drs. M. Kanedi M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
6. Bapak Drs. Suratman, M.Sc., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung serta pembimbing akademik atas segala bimbingan selama kuliah di Universitas Lampung;
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
8. 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;
9. Ibu Oni Mastuti, S.Si., selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan semangat dan dukungan;

10. Terkhusus untuk rekan-rekan tim penelitian Bima Bagus Putranto, Garinda Linggar N., Filia Sarasati, dan Febriansyah Putra Djaya I., yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan skripsi ini;
11. Sahabat tercintaku Nada Risa Zain yang sudah dengan sabar mendengarkan keluh kesahku, menemaniku dan memberi semangat hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
12. Kepada para personil “Caluls Inc.” Siti Mardiana, Winda Yulia N., Tia Annisa, Yunita, Sundari Ayu Oktalia., Inas Fadhillah, Sri Rahmaning Tiyas, dan Noufallia Fikri Arra yang selalu memberi dukungan, semangat serta ilmu dalam menyelesaikan skripsi ini;
13. Sahabat *online* serta tetangga jurusanku Mahardika Setiawan yang selalu dengan sabar mendengarkan keluh kesahku, memberikan semangat dan dukungan. Tetap semangat dalam menyelesaikan skripsimu;
14. Kepada teman-teman Neofelis (*Nest of Excellent Biologist*) 2015, Khodijah, Hanifah, Septika, Rina, Novita, Dian P.S., Vina Sri, Mba Elsa, Mba Darlina, Novia K.S., Bang Bon Tria, serta semuanya atas waktu, canda, dukungan dan doanya dalam penyusunan skripsi ini;
15. Adik-adik dan Kakak-kakak Biologi FMIPA Universitas Lampung atas dukungan dan keberamanya selama aku mengenyam pendidikan di kampus;
16. Teman-teman KKN Anin, Acil, Umik Hervi, Kia, Kordes Opin, dan Nabil, Terimakasih untuk kebersamaan yang terjalin sampai saat ini;
17. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu dan telah banyak membantu dalam penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini;

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, masukan, kritik, dan saran yang membangun sangat diperlukan dalam penulisan di kemudian hari. Namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi siapapun yang membacanya.

Bandar Lampung, 8 Agustus 2019

Dewi Larasati

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Uraian Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Kerangka Pikir	5
F. Hipotesis	6

II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Sukun (<i>Artocarpus altilis</i> (Park.) Fosberg).....	8
B. Mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	12
C. Aloksan	14
D. Tubulus Seminiferus	15
III. METODE KERJA	
A. Waktu dan Tempat	18
B. Alat dan Bahan	
1. Alat.....	18
2. Bahan	19
C. Pelaksanaan Penelitian	
1. Persiapan Hewan Uji	20
2. Persiapan Dosis Aloksan	20
3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sukun	21
4. Pemberian Perlakuan	21
5. Pembedahan Mencit.....	22
D. Pengamatan	
1. Teknik Pembuatan Slide	23
2. Parameter yang Diamati.....	25
E. Jenis dan Rancangan Penelitian	26
F. Analisis Data.....	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil dan Analisi Data	
1. Sel Spermatogenik Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	29
2. Ketebalan Sel-sel Spermatogenik Mencit	
3. (<i>Mus musculus</i> L.).....	33
4. Diameter Tubulus Seminiferus Mencit	
(<i>Mus musculus</i> L.)	35
B. Pembahasan	
1. Sel Spermatogenik	36
a. Sel Spermatogonia	36
b. Sel Spermatisit Primer	38
c. Sel Spermatid.....	40
2. Ketebalan Sel-sel Spermatogenik	41
3. Diameter Tubulus Seminiferus	42

V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	48
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat Biologis Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	13
2. Rata-rata jumlah sel spermatogonia	29
3. Rata-rata jumlah sel spermatosit primer.....	31
4. Rata-rata jumlah sel spermatid	32
5. Rata-rata Ketebalan Sel-sel Spermatogenik	34
6. Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun sukun (<i>Artocarpus altilis</i> (Park.) Fosberg).....	10
2. Struktur histologi testis, tubulus seminiferus.....	16
3. Skema Rancangan Penelitian.....	28
4. Penampang melintang tubulus seminiferus mencit pada kelompok kontrol negatif (K(-)).....	45
5. Penampang melintang tubulus seminiferus mencit pada kelompok perlakuan aloksan 150 mg/kgBB (K(+)).....	45
6. Penampang melintang tubulus seminiferus mencit pada kelompok perlakuan dengan dosis 5,6 mg/grBB (P1).....	46
7. Penampang melintang tubulus seminiferus mencit pada kelompok perlakuan dengan dosis 11,2 mg/grBB (P2).....	46
8. Penampang melintang tubulus seminiferus mencit pada kelompok perlakuan dengan dosis 22,4 mg/grBB (P3).....	47

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit yang menjadi permasalahan di dunia hingga menyebabkan kematian bagi penderitanya. DM diketahui dapat menyebabkan impotensi, gangguan ejakulasi, merusak fungsi kelenjar seks aksesori, dan mengganggu spermatogenesis (WHO,2000). Tingginya kadar glukosa darah pada seseorang menjadi penyebab utama penyakit *Diabetes Mellitus* atau yang biasa dikenal dengan penyakit kencing manis. Peningkatan glukosa darah yang cukup tinggi disertai dengan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh dapat memicu berbagai komplikasi. Adanya peningkatan glukosa darah berkaitan dengan resistensi insulin. Gangguan glukosa darah merupakan resiko terjadinya aterosklerosis dan sering berkaitan dengan penyakit kardiovaskular, hipertensi, serta dislipimedia (Abbas dan Maitra, 2015).

Pada penelitian eksperimental, peningkatan glukosa darah dilakukan menggunakan bahan aloksan yang diinduksikan kepada hewan percobaan yaitu mencit ataupun tikus. Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana (Nugroho dan Purwaningsih, 2006). Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer.

Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat (Watkuns; dkk., 2008). Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan 120 – 150 mg/kgBB (Nugroho ; Purwaningsih, 2004). Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan pada binatang percobaan (Szkudelski, 2008).

Di dalam testis terdapat struktur yang disebut dengan tubulus seminiferus yang berfungsi sebagai penghasil sperma. Testis dilapisi oleh kantong yang terdiri dari kulit, tunica dartos, dan sebagian funiculus spermaticus yang disebut kantong scrotum (Toelihere, 1985). Testis memiliki dua fungsi sebagai penghasil spermatozoa dan penghasil hormon-hormon jantan atau androgen (Hafez, 1970). Spermatozoa dibentuk dengan suatu proses yang disebut dengan spermatogenesis, yaitu proses perkembangan sel-sel spermatogenik yang terdiri dari tiga tahap yaitu spermatositogenesis atau proliferasi, tahap meiosis dan tahap spermiogenesis. Terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi proses spermatogenesis yaitu faktor endogen dan faktor eksogen. Faktor endogen meliputi hormonal, psikologis, dan genetik. Sedangkan faktor eksogen meliputi bahan kimia dan obat-obatan, suhu, dan radiasi sinar-X (Sukmaningsih, 2009).

Di dalam testis terdiri dari kelenjar-kelenjar yang berbentuk tubulus dengan pembungkus selaput tebal yang disebut tunika albugenia. Pada sudut posterior organ testis terbungkus oleh selaput atau kapsula yang disebut mediastinum

testis. Septula testis merupakan selaput tipis yang meluas mengelilingi mediastinum sampai ke tunika albugenia dan membagi testis menjadi 250-270 bagian berbentuk piramid yang disebut lobuli testis. Isi dari lobulus adalah tubulus seminiferus, yang merupakan tabung kecil panjang dan berkelok-kelok memenuhi seluruh kerucut lobulus. Muara tubulus seminiferus terdapat pada ujung medial dari kerucut. Pada ujung apikal dari tiap-tiap lobulus akan terjadi penyempitan lumen dan akan membentuk segmen pendek pertama dari sistem saluran kelamin yang selanjutnya akan masuk ke rete testis (Partodiharjo 1980).

Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) memiliki banyak manfaat seperti tanaman pangan dan juga sebagai tanaman obat. Tanaman sukun memiliki bagian tumbuhan yang bermanfaat sebagai tanaman obat. Buahnya digunakan oleh masyarakat sebagai penguat fungsi hati. Bagian daun juga dapat digunakan untuk pengobatan sirosis hati, hipertensi dan diabetes (Jagtap dan Bapat, 2010).

B. Uraian Masalah

Kemampuan daun sukun dalam mengobati beberapa penyakit kronis adalah karena senyawa yang terkandung di dalamnya. Daun sukun mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat bagi tubuh seperti polifenol, asam hidrosionat, tanin, quercetin dan ortoindosionin. Senyawa ortoindonesionin dan quercetin merupakan kelompok senyawa turunan flavonoid yang berfungsi sebagai zat antioksidan dan banyak digunakan sebagai komponen aktif dalam obat-obatan. Dalam penelitian ini akan

memanfaatkan daun sukun sebagai sumber pengobatan gula darah yang tinggi dan pada mencit (*Mus musculus* L.) dengan melihat pengaruhnya terhadap beberapa struktur histologi organ jantan tubulus seminiferus. Pada penelitian ini mendorong peneliti untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun sukun terhadap jumlah sel-sel spermatogenik, ketebalan sel-sel spermatogenik, dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) terhadap:

1. Jumlah sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatid mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.
2. Ketebalan sel-sel spermatogenik tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.
3. Diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Dapat dipakai sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya tentang struktur histologi tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi

aloksan setelah pemberian ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg).

2. Dapat mengetahui manfaat ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) terhadap organ testis yaitu tubulus seminiferus yang digunakan sebagai obat tradisional.
3. Dapat digunakan sebagai acuan penentuan dosis yang tepat dalam pemberian ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) jika digunakan sebagai salah satu obat tradisional.

E. Kerangka Pikir

Aloksan adalah suatu senyawa yang sering digunakan untuk mendapatkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Aloksan dapat menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan diabetes pada hewan coba. Daun sukun mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat bagi tubuh seperti polifenol, asam hidrosionat, tanin, quercetin dan artoindosionin. Senyawa ortoindonesionin dan quercetin merupakan kelompok senyawa turunan flavonoid yang berfungsi sebagai zat antioksidan dan banyak digunakan sebagai komponen aktif dalam obat-obatan. Dalam hal ini daun sukun biasa digunakan oleh masyarakat di berbagai belahan dunia sebagai alternatif pengobatan sirosis hati, hipertensi, menurunkan kadar kolesterol dan diabetes.

Adanya pengobatan alternatif ini, kita juga harus mempertimbangkan efek samping yang dapat merugikan organ lain jika penggunaan yang tidak sesuai

dosis atau takaran. Maka harus dilakukan pengamatan mikroskopik organ dalam seperti struktur histologi dari testis yaitu tubulus seminiferus yang berfungsi sebagai penghasil sperma, penjaga sperma, dan menyalurkan sperma untuk fertilisasi.

Pada penelitian ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) sebelumnya telah dilakukan terhadap tikus tentang analisis kadar glukosa darah dan mempertahankan jumlah sperma yang diberi perlakuan diabetes dengan diinduksi aloksan dan hasilnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sukun dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus dan pemberian ekstrak daun sukun tidak menghambat proses spermatogenesis sehingga jumlah sperma tidak berbeda nyata dengan kontrol (I Putu, 2015). Dari uraian tersebut maka mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini dengan tujuan mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) terhadap jumlah sel-sel spermatogenik, ketebalan sel-sel spermatogenik, dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.

F. HIPOTESIS

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) dapat meningkatkan :

1. Jumlah sel-sel spermatogenik pada tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan

2. Ketebalan sel-sel spermatogenik pada tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.
3. Ukuran diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg)

Tanaman sukun sangat mudah ditemukan di Indonesia karena tanaman sukun merupakan tanaman tropis yang ditemukan pada iklim tropis meliputi suhu 20 – 40°C, curah hujan tinggi 2.000 – 3000 mm per tahun (Mardiana, 2013).

Klasifikasi tanaman sukun adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Rosales

Suku : Moraceae

Marga : *Artocarpus*

Jenis : *Artocarpus altilis* (Parkinson ex F.A.Zorn) Fosberg
(Syamsuhidayat & Hutapea, 1991).

Bagian tanaman sukun memiliki manfaat bagi kehidupan manusia baik dari segi kesehatan maupun segi makanan, hal tersebut yang membuat tanaman sukun memiliki julukan tanaman serbaguna. Masyarakat di berbagai belahan dunia memanfaatkan bagian tanaman sukun berupa buah, daun, getah, hingga bunga sukun secara tradisional dan turun-temurun sebagai obat-obatan kesehatan. Di Indonesia tanaman sukun mengalami penyebaran ke berbagai

daerah yaitu Sumatera (Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat, dan Riau), Jawa (Kepulauan Seribu, Jawa Barat, Jawa Tengah, Yogyakarta, Jawa Timur, dan Madura), Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi (Minahasa, Gorontalo, Makassar, Malino, dan Maluku) (Rizema, 2013).

Tanaman sukun mempunyai akar tunggang yang dapat mencapai panjang 6 m. Jika akar terpotong maka akan memacu tumbuhnya pertunasan (Rizema, 2013). Pohon sukun memiliki kemampuan pertumbuhan hingga mencapai tinggi 20 – 40 m dengan batang pohon yang tegak, relatif besar, sedikit lunak dan bergetah banyak. Batang pohon sukun memiliki cabang yang banyak dan cenderung mengalami pertumbuhan ke atas (Wardany, 2012). Tanaman sukun memiliki daun yang berbentuk oval, panjang daun 60 cm, lebar daun 45 cm dengan tangkai daun 7 cm dan ujung daun meruncing (Pitojo, 1992). Tanaman sukun termasuk tanaman berumah satu yang memiliki karakteristik bunga berkelamin tunggal. Artinya dalam satu tanaman benang sari dan putik terletak pada bunga yang berbeda (Rizema, 2013). Warna dari bunga sukun adalah hijau muda, bunga tumbuh di ujung ranting, dan warna mahkota bunga adalah kuning (Wardany, 2012).

Sumber karbohidrat dapat diperoleh dari buah sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) yang biasa digunakan sebagai sumber karbohidrat yang baik oleh masyarakat (Suseno, 2013). Buah sukun memiliki bentuk bulat dengan tangkai buah sekitar 5 cm, namun terdapat beberapa varietas yang memiliki bentuk buah yang hampir lonjong dan memanjang. Tanaman sukun sangat

menguntungkan karena sukun dapat berbuah sepanjang tahun dan tidak mengenal musim (Wardany, 2012).



Gambar 1. Daun sukun (Ahmad, 2012)

Beberapa penelitian disebutkan bahwa daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) memiliki kandungan kimia seperti flavonoida, saponin dan tanin. Saponin bersifat membran permeabilising, hemolitik, antioksidan, anti-inflamasi, imunostimulan dan antikarsinogenik, mereka mempengaruhi konsumsi pakan, pertumbuhan dan reproduksi pada hewan, dan dapat digunakan sebagai fungisida, moluskisida dan insektisida, serta dapat diaplikasikan terhadap beberapa bakteri dan virus (Geyter et al., 2007).

Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan apabila berinteraksi dengan dinding bakteri, maka dinding tersebut akan pecah atau lisis. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri (Karlina et al., 2013).

Flavonoid terdapat pada semua tanaman hijau seperti pada tanaman sukun. Senyawa flavonoid tersebar pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, bunga dan biji (Markham, 1988). Berdasarkan penelitian Lotulung PD, dkk dari Lembaga Pengetahuan Indonesia (LIPI), kandungan bioaktif dari ekstrak etanol daun sukun yang berhasil diidentifikasi adalah Flavonoid terprenilasi yang mempunyai aktivitas sitotoksik. Flavonoid bersifat sebagai oksidatif yang dapat menangkap radikal bebas. Flavonoid juga dapat berfungsi sebagai antibiotik yang mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Harmanto, 2012).

Tanin terdapat disebagian besar bagian tanaman, akar, tunas, daun muda, kulit dalam, kulit luar, dan buah tanaman. Tanin efektif membunuh serangga (Mulyana, 2002). Tanin merupakan senyawa fenolik yang merupakan polimerasi polifenol sederhana. Zat ini dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara memacu metabolisme glukosa dan lemak, sebagai antiseptik, obat luka bakar, menghentikan pendarahan kecil, dan menghentikan diare (Mardiana dan Aminah, 2009). Tanin juga bersifat anti bakteri dan anti virus. Mekanisme kerja tanin akan merusak membran sel bakteri dan mengerutkan dinding sel sehingga akan mengganggu permeabilitas sel bakteri, hingga pertumbuhan sel bakteri terlambat dan bahkan akan mati. Sebagai anti virus, tanin akan merusak enzim yang diperlukan virus untuk memperbanyak diri, hal ini yang mengakibatkan virus sulit berkembang (Shabella, 2012).

B. Mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit (*Mus musculus* L.) adalah anggota Muridae yang berukuran kecil sering disebut dengan rodensia (latin = rodere, yang artinya mengerat).

Hewan ini terdapat di seluruh penjuru dunia yang merupakan binatang asli Asia dan Eropa barat. Dalam hal genetika mencit merupakan kelompok mamalia yang dicirikan paling lengkap dan memiliki kemiripan secara homolog dengan manusia. Mencit juga mudah dipelihara dan memiliki siklus reproduksi yang cepat (Meredith dan Redrobe 2002).

Berdasarkan taksonomi, mencit memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: <i>Mus</i>
Jenis	: <i>Mus musculus</i> L. (ITIS, 2018).

Penyebaran mencit (*Mus musculus* L.) terbilang cukup luas, mulai dari iklim, dingin, sedang, maupun panas dan dapat hidup terus menerus dalam kandang atau secara bebas sebagai hewan liar. Hewan percobaan adalah hewan yang digunakan dalam penelitian biologis maupun biomedis dan dipelihara secara intensif di laboratorium. Mencit (*Mus musculus* L.) merupakan hewan laboratorium yang sering digunakan sebagai hewan uji/ percobaan. Mencit laboratorium digunakan untuk penelitian dalam bidang obat-obatan, genetik, *Diabetes Mellitus*, dan obesitas (Andri, 2007).

Mencit memiliki tubuh yang kecil ditutupi rambut yang lembut dan sangat lebat, mencit memiliki kaki yang pendek dan ekor panjang ditutupi bulu tipis. Sama seperti rodentia yang lain pada umumnya. Mencit memiliki rumus gigi $0\ 2\ (1/1\ incisors, 0/0\ canines, 0/0\ premolars, 3/3\ molars)$ (Hrapkiewicz dan Medina, 2007). Mencit sebagai hewan percobaan sangat praktis untuk penelitian kuantitatif, karena sifatnya yang mudah berkembangbiak, selain itu mencit juga dapat digunakan sebagai hewan model untuk mempelajari seleksi terhadap sifat-sifat kuantitatif (Andri, 2007).

Tabel 1. Sifat Biologis Mencit (*Mus musculus* L.) (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998)

Kriteria	Keterangan
Lama bunting	19 – 21 hari
Umur sapih	21 hari
Umur dewasa	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Berat dewasa :	
- Jantan	- 20 – 40 gr
- Betina	- 18 – 35 gr
Berat sapih	18 – 20 gr
Jumlah anak	Rata-rata 6, bisa mencapai 15 ekor
Kecepatan tumbuh	1 gr / hari
Siklus estrus	4 – 5 hari
Perkawinan	Pada waktu estrus
Fertilitas	2 jam setelah kawin
Aktivitas	Nokturnal (aktif pada malam hari)
Berat lahir	0,5 – 1,0 gr

Mencit termasuk ke dalam golongan hewan *omnivora*, sehingga mencit dapat memakan semua jenis makanan. Mencit juga termasuk hewan *nokturnal*, yaitu aktivitas hidupnya (seperti aktivitas makan dan minum) lebih banyak terjadi pada sore dan malam hari. Kualitas makanan merupakan salah satu faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap penampilan mencit,

sehingga status makanan yang diberikan dalam percobaan biomedis mempunyai pengaruh nyata terhadap hasil percobaan. Mencit membutuhkan makanan berkadar protein diatas 14%, karena inilah kebutuhan zat makanan mencit dapat dipenuhi dar makanan ayam komersial yang kandungan poteinnya hingga 17% (Andri, 2007).

C. Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 2,4,5,6-pirimidinetetron) merupakan senyawa turunan pirimidin teroksigenasi yang berifat asam lemah, sangat hidrofilik dan tidak stabil (dapat terdekomposisi menjadi asam aloksanat). Mekanisme aloksan melalui sel beta selektif, waktu paruhnya pada pH netral 7,4 dan suhu 37°C adalah 1,5 menit dan akan lebih lama pada temperatur yang lebih rendah. Aloksan stabil pada pH asam (Lenzen, 2008).

Aloksan adalah suatu senyawa yang sering digunakan untuk penelitian diabetes menggunakan hewan coba. Aloksan dapat menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan diabetes pada hewan coba (Herra dan Haidi, 2005). Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Endro, 2006).

Salah satu metode yang paling potensial untuk menginduksi hewan eksperimental diabetes melitus adalah dengan cara induksi aloksan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi dibetik

eksperimental pada binatang percobaan. Aloksan dapat menyebabkan diabetes melitus tergantung insulin pada binatang tersebut dengan karakteristik mirip dengan diabetes melitus tipe 1 pada manusia (Rohilla dan Shahjad, 2012).

Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin. Dalam waktu 24-48 jam setelah pemberian aloksan, integritas sel-sel beta menghilang dan terjadi degranulasi yang menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemia yang permanen. Secara morfologi terjadi destruksi dan nekrosis pada sel beta pankreas yang *irreversible* (Rohilla dan Shahjad, 2012). Aksi sitotoksik aloksan pada sel beta pankreas dimediasi oleh radikal bebas melalui reaksi redoks, homeostasis kalsium intraseluler yang terganggu, dan inhibisi enzim glukokinase (Endro, 2006; Rohilla dan Shahjad, 2012).

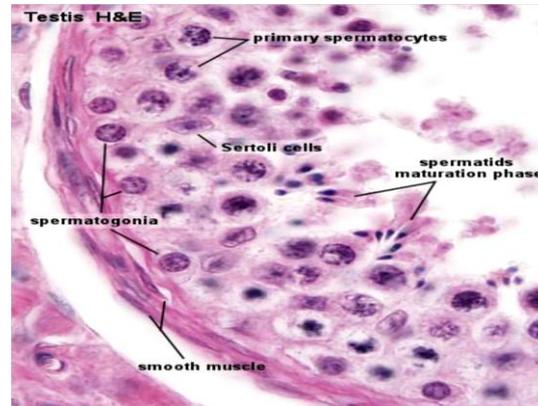
D. Tubulus Seminiferus

Tubulus terdiri atas suatu lapisan jaringan ikat fibrosa, lamina basalis, dan suatu epitel germinal kompleks atau disebut seminiferus. Tubulus seminiferus dilapisi oleh tunika propria yang terdiri atas berbagai lapisan fibroblast.

Tubulus seminiferus merupakan kelenjar tubulosa kompleks, bagian ini menghasilkan spermatozoa (Finn 1994). Epitel tubulus seminiferus terdiri atas dua jenis sel yaitu sel Sertoli atau sel penunjang dan sel-sel spermatogenik yang terdiri dari spermatogonia, spermatosit primer, spermatosit skunder, spermatid dan spermatozoa (Partodiharjo 1980).

Tubulus rektus merupakan penghubung antara tubulus seminiferus dengan labirin saluran-saluran berlapis epitel berkesinambungan, yaitu rete testis.

Rete testis ini kemudian akan dihubungkan dengan bagian kepala epididimis oleh duktus eferen (Guyton dan Hall 1997).



Gambar 2. Struktur histologi testis, tubulus seminiferus (Eroschenko, 2010).

Setiap tubulus seminiferus akan dilapisi oleh epitel germinal berlapis, yang mengandung sel penunjang atau sel sertoli yang tidak berproliferasi dan sel spermatogenik yang berproliferasi. Sel spermatogenik tersebut terdiri dari sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatosit sekunder, sel spermatid, dan spermatozoa. Di dalam tubulus seminiferus juga terdapat sel Sertoli yang memiliki fungsi membantu sel germinal dalam memelihara suasana agar sel tersebut dapat berkembang dan menjadi dewasa, mengirimkan sinyal untuk memulai dan mengontrol spermatogenesis, dan mempertahankan perkembangan spermatid, serta mengatur fungsi kelenjar pituitari. Di antara tubulus seminiferus terdapat sel Leydig yang memproduksi testosteron dan akan disekresikan ke dalam aliran darah (Sneil, 2006 ; Lange, 2007).

Spermatogenesis terjadi di dalam suatu stuktur yang disebut tubulus seminiferus, tubulus seminiferus memiliki bentuk yang berlekuk-lekuk dalam

setiap lobulus testis yang semua duktusnya kemudian akan meninggalkan testis, dan masuk ke dalam epididimis tikus. Tubulus seminiferus dilapisi oleh epitel bertingkat yang sangat kompleks yang di dalamnya mengandung dua jenis sel yang penting dalam proses spermatogenesis yaitu sel spermatogenik yang berproliferasi dan sel sertoli yang tidak berproliferasi. Dalam menjalankan fungsinya, setiap tubulus seminiferus dikelilingi oleh membran basalis yang memisahkan setiap tubulus seminiferus dalam setiap lobulus testis. Di dekat membran basalis ini terdapat sel progenitor yang berfungsi sebagai sel induk dari pembentukan spermatozoa. Proses spermatogenesis yang terjadi pada sistem reproduksi tikus jantan dipengaruhi oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh organ hipotalamus, hipofisa, dan organ testis sendiri (Krinke, 2000 ; Larasati,2013).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2018 – Februari 2019 di Laboratorium Zoologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan uji. Untuk pembuatan ekstrak etanol daun sukun dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Untuk pembuatan histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven yang berfungsi untuk mengeringkan daun sukun, penyaring dan pompa *vacum* yang berfungsi untuk menyaring filtrat, gelas ukur digunakan untuk mengukur etanol yang dibutuhkan, tabung reaksi yang berfungsi untuk menampung

filtrat hasil reaksi, pipet tetes, kaca arloji, kaca objek, kaca penutup, mikroskop digunakan untuk mengamati preparat histologi, kandang mencit beserta penutup yang terbuat dari kawat sebanyak 25 buah, wadah pakan mencit, botol minum mencit, rak kandang mencit, sonde lambung yang dihubungkan dengan alat suntik digunakan untuk pemberian ekstrak etanol daun sukun secara oral, timbangan analitik untuk menimbang berat badan mencit, seperangkat alat bedah untuk membedah mencit yang akan diambil organ testisnya, kertas label yang berfungsi untuk memberikan label pada objek pengamatan, evaporator untuk mengekstrak daun sukun, 1 buah jarum suntik untuk induksi aloksan, tisu yang berfungsi untuk membersihkan sisa zat warna pada objek gelas, kamera yang berfungsi untuk mendokumentasi selama penelitian berlangsung, dan alat tulis yang berfungsi untuk mencatat data hasil penelitian.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah 25 ekor mencit jantan berumur 2 – 3 bulan dengan berat 30 – 40 gr, sekam padi atau serbuk kayu sebagai alas kandang mencit, pelet sebagai pakan mencit, air minum mencit, aloksan untuk menaikkan gula darah pada hewan uji, alkohol yang berfungsi untuk sterilisasi, kloroform sebagai obat bius, buffer formalin 10% berfungsi untuk fiksasi organ testis yang akan dibuat preparat histologi, NaCl 0,9% sebagai pelarut aloksan, alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut digunakan untuk dehidrasi atau menarik air dari sediaan, xylol untuk menarik alkohol kembali, parafin (titik didih 56 – 80°C) untuk

filtrasi dan embedding, zat warna Hematoksilin-Eosin (HE), canada balsam, aquabides yang berfungsi untuk larutan pada perlakuan kontrol serta untuk pengenceran ekstrak etanol daun sukun dalam pencekakan, dan air.

C. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan yang memiliki berat badan 30 – 40 gr sebanyak 25 ekor berumur 2 – 3 bulan yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu satu kelompok kontrol positif, satu kelompok kontrol negatif, dan tiga kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Sebelum diberi perlakuan, semua mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari. Selama aklimatisasi mencit hanya diberi pakan standar (pellet) dan air. Setelah diaklimatisasi semua mencit dipuasakan selama 8 – 12 jam dan hanya diberi air minum.

2. Persiapan Dosis Aloksan

Setiap mencit diinduksi aloksan dengan dosis sebanyak 0,15 mg/gr BB menggunakan NaCl sebagai pelarut sebanyak 0,9% dan *syringe* 1 ml secara subkutan pada bagian tengkuk leher. Penginduksian aloksan harus steril, pada bagian tengkuk leher dibersihkan dengan cara diusap

menggunakan kapas yang telah diberi alkohol 70%. Kemudian larutan aloksan yang terdapat pada *syringe* dapat diinjeksikan pada mencit yang sebelumnya telah dipuasakan terlebih dahulu selama 8-12 jam (hanya disediakan air minum).

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg)

Daun sukun dibersihkan dan dicuci kemudian dikeringanginkan, lalu daun sukun dipotong menjadi bagian yang lebih kecil menggunakan gunting, daun sukun dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Setelah itu daun sukun yang telah kering dihaluskan menggunakan *blender* dan diayak untuk mendapatkan serbuk halusnya. Setelah bubuk halus didapatkan, kemudian bubuk tersebut dimaserasi menggunakan etanol dan disaring lagi menggunakan pompa vacum sehingga didapatkan filtrat. Kemudian filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kasar berbentuk pasta yang digunakan sebagai bahan percobaan dalam penelitian ini.

4. Pemberian Perlakuan

Setelah mencit selesai diaklimasi selama 7 hari, maka pemberian perlakuan dapat segera dimulai. Pada penelitian ini ekstrak etanol daun sukun diberikan secara oral atau dicekok dengan menggunakan

aquabides sebagai kontrol sehingga presentase yang digunakan adalah 1% (Yorijuly, 2012). Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan dengan berat sekitar 40 gr, sehingga rumus perhitungan volume penggunaan aquabides yaitu sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 \text{Volume pemberian} &= \text{Berat} \times \text{Persen Pemberian} \\
 &= 40 \text{ gr} \times 1\% \\
 &= 40 \text{ gr} \times (1 \text{ ml}/100 \text{ gr}) \\
 &= 0,4 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Perlakuan dosis ekstrak etanol daun sukun yang diberikan adalah sebagai berikut :

- a. Kontrol negatif (K-) diberi 0,4 ml aquabides (hari ke-0 – ke-35)
- b. Kontrol positif (K+) diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB
- c. Perlakuan 1 (P1) diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB dan diberi dosis 5,6 mg/40 gr BB dalam 0,4 ml aquabides
- d. Perlakuan 2 (P2) diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB dan diberi dosis 11,2 mg/40 mg BB dalam 0,4 ml aquabides
- e. Perlakuan 3 (P3) diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB dan diberi dosis 22,4 mg /40 mg BB dalam 0,4 ml aquabides.

Waktu pencekohan ekstrak dilakukan setiap hari sekali selama 35 hari.

5. Pembedahan Mencit (*Mus musculus L.*)

Setelah mencit diberi perlakuan selama 35 hari, kemudian dilakukan pembedahan. Mencit yang dibedah terlebih dahulu diberi kloroform

dan diletakkan pada bak parafin. Spesimen dibuka perutnya untuk diambil testisnya. Testis yang telah dipotong difiksasi dengan buffer formalin 10% di dalam botol, kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung untuk dibuat preparat histologi sehingga tubulus seminiferus dapat diamati.

D. Pengamatan

1. Teknik Pembuatan Slide

a. Trimming

Trimming merupakan proses pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai organ yang akan dipotong yaitu pada bagian testis. Proses ini dilakukan setelah sebelumnya spesimen yang berupa potongan organ difiksasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan pengawet yang berupa buffer formalin atau 10% formalin. Setelah itu potongan jaringan testis tersebut dimasukkan ke dalam *embedding cassette*.

b. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan *tissu processor* yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan air

dalam jaringan. Proses ini dilakukan secara bertahap dengan menggunakan larutan alkohol (konsentrasi 70 – 100%). Setelah proses dehidrasi selesai dilanjutkan dengan *clearin* menggunakan larutan xylol dan impregnasi menggunakan larutan paraffin.

c. Embedding

Setelah melalui proses dehidrasi, maka jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan paraffin cair, yang selanjutnya dilekatkan pada balok kayu ukuran 3 x 3 cm.

d. Cutting

Proses cutting dilakukan dalam ruangan dingin. Sebelumnya blok terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan diawali dengan pemotongan kasar yang selanjutnya dilakukan pemotongan halus dengan ketebalan 4 – 5 mikron. Setelah dipotong, selanjutnya dipilih lembaran potongan yang baik, lalu diapungkan di air. Kemudian lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Selanjutnya slide ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

e. Staining

Setelah jaringan melekat sempurna, selanjutnya dilakukan pewarnaan slide dengan menggunakan teknik pewarnaan Hematosilin Eosin (HE).

f. Mounting

Penetasan bahan mounting dilakukan dengan menggunakan canada balsam dan ditutup dengan *coverglass*, dan dicegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

g. Pembacaan slide

Pembacaan slide dilakukan dengan memeriksa slide di bawah mikroskop cahaya dan membedakan antara spermatogonia, spermatisit, dan spermatid dari tubulus seminiferus mencit tersebut.

2. Parameter yang Diamati

Preparat testis diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya, pengamatan meliputi sel-sel spermatogenik dari lapisan basalis ke arah lumen tubulus seminiferus.

Parameter yang diamati dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1. Jumlah sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatogonia, sel spermatisit primer, dan spermatid mencit (*Mus musculus* L.)

2. Ketebalan sel-sel spermatogenik pada tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus L.*)
3. Diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus L.*)

Pengamatan sel-sel spermatogenik dilakukan dengan menghitung jumlah sel-sel tersebut secara manual. Perhitungan jumlah sel-sel tersebut dilakukan pada setiap tubulus seminiferus yang telah dipilih. Pengamatan dilakukan pada potongan melintang tubulus seminiferus yang diambil secara *random*.

Pengukuran ketebalan sel-sel spermatogenik dan diameter tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikrometer pada lensa okuler. Pengukuran diameter tubulus seminiferus menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10, pengamatan sel-sel spermatid dilakukan dengan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10.

E. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan karena unit eksperimental bersifat homogen. Perlakuan diberikan secara acak dengan 4 perlakuan dan 5 kali pengulangan. Menurut rumus Frederer (1991), jumlah perlakuan dan ulangan dibuat sebagai berikut, yaitu $t(n-1) \geq 15$

$$\begin{aligned} \text{Perlakuan (t)} &: & 4 \\ 4(n-1) &\geq & 15 \\ 4n &\geq & 19 \end{aligned}$$

$$n \geq 5$$

Satuan percobaan : $5 \times 5 = 25$ mencit jantan yang homogen. Maka jumlah mencit yang digunakan adalah 25 ekor mencit.

Penelitian ini terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol dengan lima kali ulangan.

- a. Kontrol negatif (K-) : Mencit diberikan 0,4 ml aquabides
(hari ke-0 – ke-35)
- b. Kontrol positif (K+) : Mencit diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB
- c. Perlakuan 1 (P1) : Mencit diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB
dan diberi ekstrak etanol daun sukun
dengan dosis 5,6 mg /40 gr BB dalam 0,4
ml aquabides
- d. Perlakuan 2 (P2) : Mencit diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB
dan diberi ekstrak etanol daun sukun
dengan dosis 11,2 mg /40 gr BB dalam 0,4
ml aquabides
- e. Perlakuan 3 (P3) : Mencit diinduksi aloksan 6 mg/40 gr BB
dan diberi ekstrak etanol daun sukun
dengan dosis 22,4 mg /40 gr BB dalam 0,4
ml aquabides.

Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Skema Rancangan Acak

Keterangan

K (-) : Kontrol Negatif	U1 : Ulangan 1
K (+) : Kontrol Positif	U2 : Ulangan 2
P1 : Perlakuan 1	U3 : Ulangan 3
P2 : Perlakuan 2	U4 : Ulangan 4
P3 : Perlakuan 3	U5 : Ulangan 5

F. Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan.

Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf 5%.

V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan Hasil penelitian mengenai “Pengaruh ekstrak etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) Terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatogenik, Ketebalan Sel-Sel Spermatogenik Dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Aloksan” diperoleh kesimpulan Sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun sukun dapat meningkatkan rata-rata jumlah sel spermatogonia.
2. Ekstrak etanol daun sukun meningkatkan rata-rata jumlah sel spermatosit primer.
3. Ekstrak etanol daun sukun tidak memberikan perbedaan yang signifikan pada rata-rata jumlah sel spermatid.
4. Ekstrak etanol daun sukun dapat meningkatkan ketebalan sel-sel spermatogenik pada tubulus seminiferus.
5. Ekstrak etanol daun sukun dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efisiensi waktu perlakuan pemberian ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) sebagai senyawa antioksidan terhadap struktur histologi tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi aloksan dengan waktu efektif 28 hari pemberian ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K; A. Maitra. 2015. *The endocrine system*. In: Kumar V., A.K. Abbas, F. Nelson, Robbins and Cotran. *Pathologic basis of disease*. 7th ed. Philadelphia, USA : Elsevier Saunders, 2005 : 1155 – 224.
- Agarwal A., S.A. Prabakaran. 2005. *Oxidative Stress and Antioxidant in Male Infertility: a difficult Balance* Irian Journal of Reproductive Medicine.
- Ahmad, A. 2012. *Sukun: Berkhasiat Dari Akar Hingga Pucuk Daun*. Available from: <http://daunsukun.com/>. Accessed at November 16, 2018.
- Aitken R.J., C. Krausz. 2001 *Oxidative stress, DNA damage and Y chromosome. Reproduction*. 2001; 122:497-506.
- Endro, A.N., 2006. *Hewan Percobaan Diabetes Melitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik*. Biodiversitas, volume 7, halaman 378-382.
- Eroschenko V. 2010. *Atlas Histologi d Fiore* edisi 11. EGC. Jakarta.
- Finn G. 1994. *Buku Teks Histologi*. Ed ke-2. Gunawijaya A, penerjemah. Binapura Aksara. Terjemahan dari: *Textbook Histology*. Jakarta.
- Geyter, E.D., E. Lambert, D. Geelen, and G. Smagghe. 2007. *Novel Advances with Plant Saponins as Natural Insecticides to Control Pest Insects*, Journal of University of Belgium, Belgia.
- Guven, M.C., B. Can, A. Ergun, Y. Saran, Aydos. 1999. *Ultrastructure Effect of Cigarette Smoke on Rat testis*. European Urology 36 : 645 -649.
- Guyton, A.C., E.J. Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-9. Setiawan I, Tengadi KA, Santoso A, penerjemah; Setiawan I, editor. EGC. Terjemahan dari: *Textbook of Medical Physiology*. Jakarta.

- Hafez E.S.E. 1970. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Harmanto, N. 2012. *Daun Sukun Si Daun Ajaib, Penakluk Aneka Penyakit*. PT. Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Herra, S. dan M.S. Haidi. 2005. *Uji Aktivitas Penurunan Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia Polyantha pada Mencit yang Diinduksi Aloksan*. Media Kedokteran Hewan, volume 21 halaman 64.
- Hrapkiewicz K, L. Medina. 2007. *Clinical Laboratory Animal Medicine*. 3rd: Blackwell Publishing. United States of America.
- Holdcraft, R.W., Braun. 2004. Hormonal Regulation of Spermatogenesis. *International Journal of Andrology* 27 : 335-342.
- Integrated Taxonomic Information (ITIS). 2018. *Taxonomic Hierarchy of Mus musculus L.* <http://itis.gov/servlet/singlerpt?> Diakses pada tanggal 14 Oktober 2018 pukul 23.09 WIB.
- I Putu A.W.D. 2015. *Efektivitas Ekstrak Daun Sukun (Arthocarpus altilis) Dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah dan Mempertahankan Jumlah Sperma pada Tikus (Rattus norvegicus L.)*. Jurnal Simbiosis III (1). Biologi FMIPA Universitas Udayana. Bali.
- Jagtap, U.B. and V.A. Bapat. 2010. *Artocarpus: A Review of its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology*. *J. of Ethnopharmacology*. 129: 142–166.
- Junquiera, L.C., J. Carneiro, and R.O. Kelley, 1995. *Histologi Dasar*. Penerjemah: Tambayong, J. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Karlina C.Y., M. Ibrahim, G. Trimulyono. 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (Portulaca oleracea L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Jurnal UNESA Lentera Bio. 2 (1) : 87–93.
- Krinke G.J. 2000. *The Laboratory Rat*. CA: Academic Press. San Diego.
- Lange P.E. 2007. *Endocrine Physiology* 2nd Edition: Lange McGraw-Hill.
- Larasati W. 2013. *Uji Anti infertilitas Ekstrak Etil Asetat Biji Jarak Pagar (Jatropha curcaas L) pada Tikus Putih Jantan (Rattus novergicus) Galur*

Sprageu Dawley Secara In Vivo. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Lenzen, S. 2008. *The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes*. *Diabetologia* 51. P. 216-226.

Li, F., Q. Li, D. Gao, and Y. Peng. 2009. The Optimal Extraction Parameters and Anti-Diabetic Activity of Flavonoids from *Ipomoea batatas* Leaf. *Afr J. Tradit Complement Altern Med*. 6 (2): 195–202.

Mardiana, S, dan N.S. Aminah. 2009. *Datura Metel Linnaeus sebagai Insektisida dan Larvasida Botani serta Bahan Baku Obat Tradisional, Media Peneliti dan Pengembangan Kesehatan*, vol XIX.

Mardiana. 2013. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Markham, K.R, 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Mathur, P.P. dan D’Cruz, SC. The Effect of Environmental Contaminants on Testicular Function. *Asian J Androl*, 2011; 13 (4): 585-591.

Mc Lachland, R.L., N.G. Wreford, L. O’ Donnell, D. M. De Kretser, D. M. Robertson. 1996. Endocrine Regulation of Spermatogenesis ; Independent Roles for Testosterone and FSH. *Journal of Endocrinology* 148 : 1 – 9

Mescher, A.L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira* (Edisi ke- 12). Jakarta: EGC.

Meredith A, Redrobe S. 2002. *BSAVA Manual of Exotic Pets*. 4th Edition. British Small Veterinary Assosiation. Pp 13-25.

Mohamed A. Dkhil SA-Q, Ahmed E. Abdel Moneim. 2013. *Effect of Pomegranate (Punica granatum L.) Juice and Methanolic Peel Extract on Testis of Male Rats*. *Pakistan JZool*.

Mulyana. 2002. *Ekstraksi Senyawa Aktif Alkaloid, Kuinon dan Saponin dari Tumbuhan Kecubung sebagai Larvasida dan Insektisida Terhadap Nyamuk Aedes aegypti*. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Nugroho B.A., E. Puwaningsih. 2004. *Pengaruh diet ekstrak rumput laut (Eucheuma sp.) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (Rattus*

- norvegicus*) hiperglikemik. Media Medika Indonesia Vol.39 No. 3, 2004 : 154 – 60.
- Nugroho B.A., E. Puwaningsih. 2006. *Perbedaan diet ekstrak rumput laut (Eucheuma sp.) dan insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (Rattus norvegicus) hiperglikemik*. Media Medika Indonesia Vol. 41 No. 1, 2006 : 23-30.
- Nugroho C.A. 2007. *Pengaruh minuman beralkohol terhadap jumlah lapisan sel spermatogenik dan berat vesikula seminalis mencit*. Widya Warta Jurnal Ilmiah Universitas Katolik Widya Mandala Madiun. 2007; 33(1).
- Nurchayani, N., H.Busman., A.Munandar. 2013. *Pengaruh Kebisingan Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (Mus musculus L.)*. Jurnal Seminar Nasional Sains & Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Oktaviani E.P. 2014. *Kualitas dan aktivitas antioksidan minuman probiotik dengan variasi ekstrak buah naga merah (Hylocereus polyrhizus)*. Jurnal Teknobiologi. 2014; 1-15.
- Pandey, B. Kanti, I.R. Syed. 2009. *Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease*. Department of Biochemistry. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2009; 2(5):270-8.
- Partodiharjo S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara. Jakarta.
- Pitojo, S. 1992. *Budidaya Sukun*. Kanisius. Yogyakarta.
- Rahim R. 2008. *Pengaruh Pemberian Minyak Jinten Hitam (Nigella sativa) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit Diabetes Melitus Yang Diinduksi Aloksan*. Semarang.
- Rizema, S. 2013. *Ajaibnya Daun Sukun Berantas Berbagai Penyakit*. Flash Books. Yogyakarta.
- Rohilla, A. dan A. Shahjad. 2012. *Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects*. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. Volume 3. Shri Gopi Chand Group of Institutions, halaman 819-823. India.
- Rita, F.P. 2010. *Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap Spermatogenesis dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit*

(*Mus musculus*) jantan. Skripsi Universitas Islam Negeri Malang. Malang Jawa Timur.

Sabirosi, B. G., P. Trisunuwati dan D. Winarso. 2014. Ekspresi Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) dan Jumlah Sperma Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Mellitus Tipe 1 Hasil Induksi Streptozotocin yang Diterapi dengan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.). *Student J.* 3(4): 1-9.

Satriyasa, B.K. 2008. 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.

Shabella, R. 2012. *Terapi Daun Sukun: Dahsatnya Khasiat Daun Sukun untuk Menumpas Penyakit*, Cable Book, Klaten.

Sherwood, L. 2012. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem* (Edisi ke-6). Jakarta: EGC.

Sinaga, E. S. 2012. *Pengaruh Isoflavon Kedelai Terhadap Jumlah Kecepatan dan Morfologi Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)*. (Tesis). Tidak Dipublikasikan. Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Andalas Padang.

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.

Sneil, R.S. 2006. *Anatomi Klinik* Edisi 6: EGC. Jakarta.

Sukmaningsih A. 2009. *Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Wistar Hiperlipidemia* [skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. Semarang.

Sukmaningsih, Sg. A.,A.A. 2009. Penurunan Jumlah Spermatisit Pakiten dan Spermatisid Tubulus Seminiferus Testis pada Mencit (*Mus musculus*) yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Biologi.* 8 (2) : 31 – 35.

Suseno, M. 2013. *Sehat dengan Daun*. Buku Pintar. Yogyakarta.

- Suryanto, E. dan F. Wehantouw. 2009. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis* F.). *Chem. Prog.* 2(1): 1 – 7.
- Szkudelski T. 2008. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas* [Internet]. 2008 [cited 2009 January 23]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314
- Toelihere M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. PT. Angkasa. Bandung.
- Watkins, D., S.J. Cooperstein, A. Lazarow. 2008. *Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro*. [Internet]. 2008 [cited 2009 February 18]. Available from: <http://ajplegacy.physiology.org/cgi/content/abstract/207/2/436>
- Wardany, K. 2012. *Khasiat Istimewa Sukun*. Rapha Publishing. Yogyakarta.
- World Health Organization. 2000. *WHO Manual For Standardised Investigation and Diagnosis Of Infertile Couple* [database on the Internet].
- Wresdati, T., M. Astawan, L.Y. Hastanti. 2006. *Profil imunohistokimia superoksida dismutase (SOD) pada jaringan hati tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia*. *Journal Hayati*. 2006; 85-9.
- Yorijuly. 2012. *Perhitungan Dosis Untuk Hewan Percobaan*. <http://yorijuly14.Wordpress.com/2017/11/01/perhitungan-dosis-untuk-hewan-percobaan>. Diakses pada tanggal 14 Oktober 2018 pukul 16.25 WIB.