

**PENGARUH EKSTRAK DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) DAN  
PROBIOTIK DARI BEKASAM TERHADAP JUMLAH SEL  
SPERMATOGENIK, DIAMETER DAN TEBAL EPITEL TUBULUS  
SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus*) HIPERGLIKEMIA**

**(Skripsi)**

**Jensa Yuswantoro**

**1917021036**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF BUNGUR LEAF EXTRACT (*Lagerstroemia speciosa*) AND PROBIOTICS FROM BEKASAM ON THE NUMBER OF SPERMATOGENIC CELLS, DIAMETER AND THICKNESS OF SEMINIFEROUS TUBULES EPITHELIUM IN HYPERGLYCEMIC MICE (*Mus musculus*)

By

JENSA YUSWANTORO

Infertility at the molecular level can be caused by oxidative stress. Hyperglycemia is a condition where the level of glucose in the blood plasma exceeds normal limits, resulting in the production of Reactive Oxygen Species (ROS) that cause oxidative stress, which disturbs the activity of testosterone hormone production and leads to infertility due to impaired spermatogenesis. *Lagerstroemia speciosa* or Bungur plant has a 5% hypoglycemic activity in its water extract that can lower blood glucose levels. Blood glucose level control can also be achieved by administering probiotics, microorganisms that, when given in sufficient quantities, can provide health benefits to their host. *Lactobacillus* as a probiotic can be obtained from bekasam, a fermented fish product that has a sour taste. This study aims to determine the effect of giving Bungur leaf water extract, addition of probiotics, and the combined effect of both on the population of spermatogenic cells, diameter, and thickness of seminiferous tubules in hyperglycemic mice. This study used a Completely Randomized Design with 6 treatments, where each treatment used 5 mice, namely the zero control (K0), positive control (K+), negative control (K-), Treatment of Bungur Leaf Water Extract (P1), Treatment of Bekasam Probiotics (P2), and Treatment of Combination between Bungur Leaf Water Extract and Bekasam Probiotics (P3). The results showed that the administration of Bungur leaf water extract, the administration of bekasam probiotics, and the administration of a combination of Bungur leaf water extract and bekasam probiotics had a significant effect on the number of spermatogenic cell populations, diameter, and thickness of the seminiferous tubule epithelium in hyperglycemic mice, but the results obtained from all treatments were not higher than the positive control (+).

**Keywords:** Bungur, Probiotics, Bekasam, Hyperglycemia, Spermatozoa,  
Seminiferous tubule, *Lactobacillus* sp

## ABSTRAK

### **PENGARUH EKSTRAK DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) DAN PROBIOTIK DARI BEKASAM TERHADAP JUMLAH SEL SPERMATOGENIK, DIAMETER DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus*) HIPERGLIKEMIA**

Oleh

**JENSA YUSWANTORO**

Infertilitas pada tingkat molekuler dapat disebabkan oleh stress oksidatif. Hiperglikemia adalah suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam plasma darah melebihi batas normal sehingga mengakibatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan terjadinya stress oksidatif sehingga mengganggu aktivitas dari produksi hormon testosteron serta gangguan pada proses spermatogenesis yang berujung pada infertilitas. *Lagerstroemia speciosa* atau tanaman Bungur memiliki aktivitas hipoglikemik 5% dalam ekstrak air yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Pengendalian kadar glukosa darah juga dapat dilakukan dengan pemberian probiotik, yaitu mikroorganisme yang diberikan dalam kadar cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. *Lactobacillus* sebagai probiotik dapat diperoleh dari hasil fermentasi bekasam yaitu produk fermentasi ikan yang memiliki rasa asam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*), kemudian penambahan probiotik, dan pengaruh kombinasi keduanya terhadap jumlah populasi sel spermatogenik, diameter dan ketebalan tubulus seminiferus dari tikus hiperglikemiak. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 6 perlakuan dimana setiap perlakuan menggunakan 5 ekor tikus yaitu kontrol nol (K0), kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), Perlakuan Ekstrak Air Daun Bungur (P1), Perlakuan Probiotik Bekasiam. (P2) dan Perlakuan Kombinasi antara Ekstrak Air Daun Bungur dan Probiotik Asal Bekasam (P3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak air daun bungur, pemberian probiotik asal bekasam, dan pemberian kombinasi ekstrak air daun bungur dan probiotik asal bekasam berpengaruh nyata terhadap jumlah populasi sel spermatogenik, diameter dan ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia tetapi hasil yang diperoleh dari semua perlakuan tidak lebih tinggi dibandingkan kontrol positif (+).

**Kata Kunci : Bungur, Probiotik, Bekasam, Hiperglikemia, Spermatozoa, Tubulus seminiferus, *Lactobacillus* sp..**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) DAN  
PROBIOTIK DARI BEKASAM TERHADAP JUMLAH SEL  
SPERMATOGENIK, DIAMETER DAN TEBAL EPITEL TUBULUS  
SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus*) HIPERGLIKEMIA**

Oleh  
**JENSA YUSWANTORO**  
Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar  
**SARJA SAINS**

Pada  
**Jurusan Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi

: **PENGARUH EKSTRAK DAUN BUNGUR  
(*Lagerstroemia speciosa*) DAN PROBIOTIK  
DARI BEKASAM TERHADAP JUMLAH  
SEL SPERMATOGENIK, DIAMETER DAN  
TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS  
(*Mus musculus*) HIPERGLIKEMIA**

Nama Mahasiswa

: Jensa Yuswantoro

NPM

: 1917021036

Program Studi

: Biologi

Fakultas

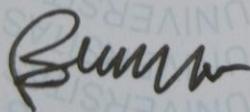
: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Bandar Lampung, 5 April 2023

### MENYETUJUI

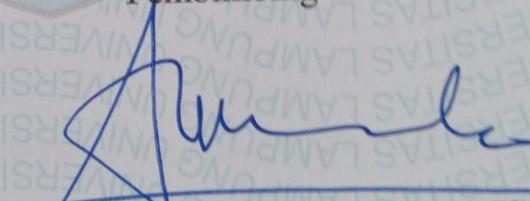
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



**Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.**  
NIP.195901011987031001

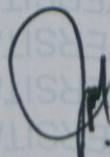
Pembimbing II



**Prof. Dr. Sumardi, M.Si.**  
NIP. 196503251991031003

2. Ketua Jurusan Biologi

FMIPA Unila

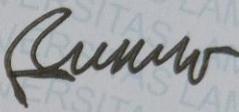


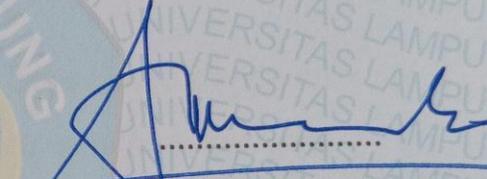
**Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.**

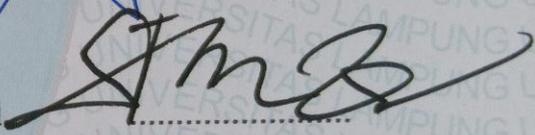
NIP. 198301312008121001

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. 

Sekretaris : Prof. Dr. Sumardi, M.Si. 

Penguji Utama : Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. 

2. Plt. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Februari 2023

**SURAT PERNYATAAN  
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Jensa Yuswantoro

NPM : 1917021036

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 2023

Yang Menyatakan



Jensa Yuswantoro

NPM. 1917021036

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Manokwari, pada tanggal 20 Mei 2001. Penulis merupakan anak pertama dari Bapak Kapi Haryono dan Ibu Sudarti. Penulis beralamat di desa Wosi, Kecamatan Manokwari Barat, Kabupaten. Manokwari, Provinsi Papua Barat.

Penulis menempuh pendidikan pertamanya di SDN 6 Sanggeng pada tahun 2007. Kemudian melanjutkan pendidikan di SMPN 2 Manokwari pada tahun 2013. Pada tahun 2016

penulis melanjutkan pendidikannya di SMAN 2 Manokwari. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2019.

Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Botani Tumbuhan Rendah, Zoologi Invertebrata, Botani Tumbuhan Tinggi, Zoologi Vertebrata, Genetika, Mikrobiologi Umum, Mikroteknik, Mikroteknik Hewan, Biologi Sel, Biologi Perkembangan Hewan, Fisiologi Tumbuhan, Fisiologi Hewan, Fisiologi Mikroba, Botani Ekonomi dan Etnobotani. Penulis juga aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai Anggota Bidang Sains dan Teknologi (SAINTEK) di tahun 2020, Anggota Bidang Kajian dan Keumatan ROIS FMIPA Unila, di tahun 2020 anggota Biro Dana dan Usaha ROIS FMIPA Unila di tahun 2021, Kepala Bidang

Hubungan Masyarakat ROIS FMIPA Unila di tahun 2021, Anggota Legislatif dan Ketua Komisi I Legislasi DPM FMIPA Unila di tahun 2022 serta Kepala Bidang Kaderisasi Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah (IMM) Pengurus Komisariat Saintek Universitas Lampung di tahun 2022. Selain di bidang organisasi, pada tahun 2020 penulis meraih hibah dana Program Kreativitas Mahasiswa Bidang Penelitian Eksakta (PKM-PE) dan berhasil ke lolos pada Pekan Ilmiah Nasional (PIMNAS) ke 34 Universitas Gadjah Mada Kemenristekdikti dengan judul “Efektifitas Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) Sebagai Alternatif Penghambat Diabetes Pada Mencit (*Mus musculus*)”serta penulis juga meraih hibah dana program Kreativitas Mahasiswa Bidang Riset Eksakta (PKM-RE) dengan judul “Efektivitas Cendawan Entomopatogen Isolat Asal Kecoa Amerika (*Periplaneta americana* L.) Terhadap Mortalitas Semut *Dolichoderus* Sp”.

Penulis juga merupakan salah satu peraih Program Beasiswa Unggulan Puslapdik Kemendikbudristek. Pada Bulan Januari-Februari 2021 penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang dengan judul “Identifikasi *Vibrio Parahaemolyticus* Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vaname* L.) Dan Sampel Air Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Di Laboratorium Biologi Molekuler Balai Pengujian Kesehatan Ikan Dan Lingkungan (BPKIL) Serang”. Kemudian pada Bulan Juli-Agustus 2019 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Negeri Agung, Kecamatan Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung.

## MOTTO

*Allah tidak akan membebani seseorang  
melainkan sesuai dengan kadar kesanggupannya”*  
**(QS Al Baqarah: 286)**

*Allah SWT akan mengangkat derajat orang-orang yang  
beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu  
pengetahuan beberapa derajat*  
**(QS Al Mujadalah:11)**

*Barangsiapa yang bertaqwa kepada Allah, niscaya diberi-Nya  
kelapangan dan diberi-Nya rezeki yang tidak diduga-duga.  
Siapa yang bertawakkal kepada Allah, niscaya dijamin-Nya,  
sesungguhnya Allah sangat tegas dalam perintah-Nya dan  
Dialah yang mentakdirkan segala sesuatu*  
**(QS Al Thariq:2-3)**

*Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik  
bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal  
ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak  
mengetahui.*  
**(Q.S. Al-Baqarah: 216)**

*Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan sesuatu kaum  
sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri  
mereka sendiri. Dan apabila Allah menghendaki keburukan  
terhadap sesuatu kaum, maka tak ada yang dapat menolaknya;  
dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia.*  
**(Q.S. Ar-Rad: 11)**

*Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan,  
sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan*  
**(Q.S. Al-Insyirah: 5-6)**

*Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.*  
**(Q.S. Al-Insyirah: 8)**

*Ketahuiilah bahwa kemenangan bersama kesabaran,  
kelapangan bersama kesempitan, dan kesulitan bersama  
kemudahan*  
**(HR Tirmidzi)**

*Tidaklah suatu kegalauan, kesedihan, kebimbangan, kekalutan  
yang menimpa seorang mukmin atau bahkan tertusuk duri  
sekalipun, melainkan karenanya Allah akan*  
**(HR Bukhari dan Muslim)**

*if you want to make everyone happy don't be a leader sell ice  
cream*  
**(Steve Jobs)**

*Semua orang Jenius. Tapi jika anda menilai seekor ikan dari  
kemampuannya memanjat pohon, Ia akan menjalani hidupnya  
dengan percaya bahwa itu bodoh*  
**(Alberth Einstein)**

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ وَالصَّلَاةُ  
وَالسَّلَامُ عَلَى أَشْرَفِ الْأَنْبِيَاءِ  
وَالْمُرْسَلِينَ وَعَلَى آلِهِ وَصَحْبِهِ أَجْمَعِينَ  
أَمَّا بَعْدُ

*Dengan menghaturkan syukur seluas-luasnya serta melatunkan pujian setinggi-tingginya kepada Allah Tuhan Semesta Alam yang telah memberikan kesehatan, kemampuan, ketabahan, dan kekuatan serta pertolongannya diarah yang tidak disangka-sangka kepadaku*

*Sholawat beribu sholawat telah terlimpahkan kepada junjungan dan suri tauladan segala umat manusia, kekasih Allah dan utusanNya yang teramat mulia, Baginda Nabi Muhammad SAW yang kelak kurindukan syafaatnya dan pertemuannya nanti di yaumul mahsyar nanti.*

*Kupersembahkan karya kecilkku ini kepada kedua orang tuaku yang tiada hentinya selalu berada di belakangkku untuk mendukungku dan meneguhkankku di setiap jalan yang aku tempuh dalam kehidupan yang keras ini.*

*Kawan, kolega, dan kerabat yang turut andil dalam jalan hidupku yang tiada pernah satupun luput untuk memberiku dukungan dan pertolongan*

*Serta  
Kepada Unila, almamater tercinta*

## SANWACANA

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT, yang telah memberikan kekuatan, ketabahan, serta petunjuk dan tuntunan sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini. Sholawat serta salam senantiasa kita haturkan kepada junjungan dan suri tauladan seluruh umat manusia, Nabi Muhammad SAW. Semoga kita menjadi umatnya yang mendapat pertolongannya di hari akhir kelak.

Skripsi dengan judul **“PENGARUH EKSTRAK DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) DAN PROBIOTIK DARI BEKASAM TERHADAP JUMLAH SEL SPERMATOGENIK, DIAMETER DAN TEBAL EPITEL TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus*) HIPERGLIKEMIA”** dibuat sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana sains (S.Si) di jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini. Dengan terselesaikannya Skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tuaku, Bapak Kapi Haryono dan Ibu Sudarti yang telah bekerja keras untuk mengasuh, membesarkan, dan memberikan kasih sayang yang tulus kepadaku. Memberikan dukungan dan selalu menyelipkan namaku dalam setiap untaian doanya agar anaknya sukses.
2. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed., selaku Pembimbing 1 yang telah sabar dan ikhlas dalam memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik/saran, dan bantuan baik secara moril atau materil selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi ini.

3. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Pembimbing II yang telah sabar dan ikhlas dalam membimbing, memberikan motivasi dan arahan selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed., selaku pembahas yang telah sabar dan senantiasa memberikan masukan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Dra. Yulianty, M.Si., ibu Dra. Tundjung Tripeni Handayani, M.S., Ir. Salman Farisi, M.Si., Drs. Suratman, M.Sc., dan ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. sebagai para dosen yang telah dianggap orang tua sendiri oleh penulis atas pertolongan, nasihat yang baik, dukungan serta selalu ada saat penulis mengalami kendala dalam perkuliahan juga selalu memberikan motivasi sekaligus teman berbagi cerita.
6. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, DEA, IPM. selaku rektor Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung periode 2020-2023 dan bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. sebagai Plt. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung serta sekaligus menjadi dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama menempuh S1 Biologi.
9. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Ibu Indriasi, S.Si., M.Si., sebagai pembimbing lapangan saat Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang telah membimbing dengan sabar dan saran yang diberikan serta keramahan dalam berbagi cerita pengalaman yang amat berharga juga telah memberikan bimbingan dan arahan saat penulis melaksanakan kerja praktik tak pula segenap keluarga besar Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang, atas ketersediaannya menerima hingga kesempatan berbagi ilmu dan pengalaman

11. Mbak Dhiny Suntya Putri, M.Si., mbak Nunung Cahyawati, A.Md., dan bapak Ali Bakrie, S.P. selaku laboran Lab. Botani, Lab. Biologi Molekular, dan Lab. Zoologi yang telah banyak membantu penulis, memberikan arahan dan masukan dalam menyelesaikan penelitian sekaligus menjadi tempat berbagi cerita, canda, dan tawa.
12. Kepada teteh Soleha, Mas Fajar dan Mas Sudar, ibu Rusnah, S.E. dan pak Tamrinsyah serta keluarga besar Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Terimakasih telah memberikan banyak ilmu, bimbingan, nasihat, dan bantuan kepada penulis
13. Kepada para kawanku Dewi Restika Ayu Syafitri, Delsya Pratiwi Pubianty, Dinda Shafa Tiarannisa, Ireniza Pradevi Mulya, Emilia, Mutia Sari, Ayuni Mitra Sari, Nesi Indah Muawanah, Aminudin, Viki Ramadan, Farhan Ardiansyah Pratama dll yang sudah membantu banyak kepada penulis dan menemani penulis dalam menjalankan masa-masa perkuliahan. Semoga kalian selalu sukses dalam menggapai cita-cita terbaik kalian.
14. Kepada kolega sejawat penelitian lintas angkatan yang telah membantu, memberi masukan, memberi arahan, memberi penjelasan dan memberikan solusi kepada penulis Nuri Oktavia, S.Si., Fatimah Alhafizoh, S.Si., Lailatul Farihah, S.Si., Jonathan Puji Sarwoko, S.Si., Kartika Permata Insani, Siti Inah, S.Si., Yeni Mitasari, S.Si., Tiffany Nurya Safitri, S.Si., Heni Erlita Sari, S.Si., Agung Ardian Syah, S.Si., Ria Novita Sari, Masnoni Firda Safira, S.Si. dll yang tidak bisa disebut namanya satu per satu.
15. Kepada adikku angkatan 2020 Jurusan Biologi Evita Wulandari, M. Yusuf Al Faza, Hendro Prasetyo Subekti, Rio Asdy Pratama, Rahayu Fathanah, Diana Novita, Fathiyah beserta anak praktikanku di kelompok 4 BPH kelas B yang telah membantu penulis mengurus mencit, Wulan Meri Susanti, Raden Fadly Bayu Dwiyoga, Dina Yulia, Alda Pransiska, Mutiara Citra Dwi Lestari, Indah Ayu Lestari, Risya Ayu Cahya, Nurinda Sari, Andrabella Meidy, Iqbal Saifulloh dll. Semoga kalian sukses dalam penelitian kalian dan dapat melanjutkan dan mengganti posisi saya di kampus.
16. Kepada adikku angkatan 2020 bukan Jurusan Biologi Edo Laksana Widodo, Alifan Renaldi, Mufid Sadzili, Ahmad Alfarizi, Akmal Gilang Rosadi,

Hanif Pratama, Rendy Luthfi Prabowo, Aprianto dll. Semoga kalian sukses dalam meraih cita-cita kalian yang terbaik.

17. Kepada adikku angkatan 2021 Jurusan Biologi Fannia Khairani, Hafid Hak, Febrian Aditia dan Agus Saputra. Pesanku ketika kalian melihat ini, semangat kuliahnya dan jadi diri kalian sendiri serta jangan lupa untuk membahagiakan diri sendiri. Juga kepada Shifa Nur, Olsie Riantani, AlHafidz, Oktavia Pupung, Zaskia, Mutiara Sirlinda, Annisa Rizi, Khania, Khusniah, Apriansyah, Ribka Debora, Renaldy, Fahri, Marcella, Altaz, Khomsatun, Clara, Lidya, Petrus Aji, Elizabeth dll. Doaku selalu mengiringi kalian semua.
18. Kepada keluarga besar Rois FMIPA Unila, kabinet Integrasi Rabbani, kabinet Benih Kebaikan, dan kabinet Al-Muharib terutama untuk Anam, Sayyid, Wisnu, Daffa, Harry serta jajaran pimpinan dan anggota pengurus yang telah menjaga akidah dan akhlakku selama perkuliahan serta meneguhkan hati ini untuk selalu berusaha berdakwah ammar ma'ruf nahi munkar.
19. Kepada keluarga besar DPM FMIPA Unila parlemen Graphene 2022, Mahfud, Ali, Tri, Alinil yang juga telah kebersamai penulis di kepengurusan ROIS FMIPA unila 2021 di bidang humas sebagai sekretaris bidang, Prihatini, Isro, Hikmah, Cindi dan Syaima.
20. Teman-teman seperjuangan Biologi 2019, terimakasih atas kebersamaan, pengalaman, bantuan, dukungan, dan kisah yang telah kalian berikan selama di Jurusan Biologi. Semoga kita semua bisa sukses sesuai cita-cita masing-masing dan bermanfaat bagi lingkungan sekitar.
21. Keluarga KKN Negeri Agung, Lampung Timur. Terimakasih atas kebersamaan selama 40 hari di Lampung Timur yang telah memberikan banyak pengalaman baru, kisah baru dan menjadi bagian dalam pengabdian diri ini kepada masyarakat.
22. Kepada keluarga besar Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah Unila terutama untuk Leony, mas Wahyu, mbak Mira, Bang Maulana, mas Angga, mba Ara, Dzaki, Zidni, Hafiz, Safira, Indah, Fadhil, Fadilla, Murni, Hikmah dan semua pengurus IMM baik dalam lingkup Korkom dan PK Saintek Unila.

Semoga Allah SWT memberikan keberkahan dan membalas kebaikan kepada semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung.. Penulis menyadari masih banyak kekurangan, kesalahan dan kekeliruan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis berharap kritik dan saran yang membangun untuk meningkatkan kualitas dari karya ini. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua serta dapat memajukan pemahaman dan pengetahuan yang baru.

Bandar Lampung, 2023

Penulis,

**Jensa Yuswantoro**

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	i
MENGESAHKAN .....	ii
SURAT PERNYATAAN .....	iii
KEASLIAN SKRIPSI.....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
MOTTO .....	vi
PERSEMBAHAN.....	viii
SANWACANA .....	ix
DAFTAR ISI.....	14
DAFTAR TABEL .....	17
DAFTAR GAMBAR.....	18
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran .....	3
1.4 Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1. Hiperglikemia .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2 Infertilitas Akibat Hiperglikemia.....	9
2.2. Testis.....	11
2.3.1. Tubulus Seminiferus .....	12
2.3.2. Spermatogenesis.....	14
2.3. Probiotik .....	15
2.3.1 <i>Lactobacillus</i> sp. ....	18
2.4. Mekanisme Hipoglikemik Probiotik .....	19
2.5. Bekasam .....	21

2.6.	Daun Bungur ( <i>Lagerstroemia speciosa</i> L.) .....	23
2.7.	Mekanisme Hipoglikemik Ekstrak Air Daun Bungur .....	24
2.8.	Aloksan .....	27
2.9.	Hewan Percobaan .....	28
2.10.	Glibenclamid .....	29
<b>III.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>31</b>
3.1.	Waktu dan Tempat .....	31
3.2.	Alat dan Bahan .....	31
3.3.	Rancangan Penelitian .....	32
3.4.	Pembuatan Ekstrak Daun Bungur .....	33
3.5.	Pembuatan Bekasam .....	33
3.6.	Perhitungan <i>Lactobacillus</i> sp. di Bekasam .....	34
3.7.	Perhitungan <i>Lactobacillus</i> sp. di Pakan Normal Mencit .....	35
3.8.	Pembuatan Larutan Perlakuan .....	35
	3.8.1. Pembuatan Ekstrak Bungur .....	35
	3.8.2. Pembuatan Larutan Glibenclamid .....	36
3.9.	Perlakuan Hewan Percobaan .....	37
	3.9.1. Aklimatisasi Hewan Percobaan .....	37
	3.9.2. Perlakuan Aloksan .....	37
	3.9.3. Perlakuan Ekstrak Daun Bungur ( <i>Lagerstroemia speciosa</i> ) L. ....	38
	3.9.4. Perlakuan Probiotik Bekasam .....	38
	3.9.5. Perlakuan Kombinasi .....	38
	3.9.6. Perlakuan Glibenclamid .....	39
3.10.	Pembuatan Preparat Organ Testis Mencit .....	39
3.11.	Pengamatan Populasi Sel Spermatogonium, Spermatisit Primer, dan Spermatid .....	40
3.12.	Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus .....	41
3.13.	Pengamatan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus .....	41
3.14.	Perhitungan <i>Lactobacillus</i> sp. Dari Saluran Pencernaan Mencit .....	41
3.15.	Analisis Data .....	42
3.16.	Diagram Alir .....	43
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>44</b>

4.1.	Hasil.....	44
4.1.1.	Pengamatan Histologi Tubulus Seminiferus Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	44
4.1.1.1.	Jumlah Sel Spermatogonik.....	50
4.1.1.2.	Diameter Tubulus Seminiferus Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	55
4.1.1.3.	Tebal Jaringan Epitel Tubulus Seminiferus Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	57
4.1.2.	Konsentrasi dan Jumlah Populasi <i>Lactobacillus</i> sp. pada bekasam dan pakan normal mencit .....	50
4.1.3.	Konsentrasi dan Jumlah Populasi <i>Lactobacillus</i> sp. pada saluran pencernaan mencit.....	51
4.1.4.	Perbandingan Data Hasil dari Kelompok Perlakuan.....	52
4.2.	Pembahasan .....	54
4.2.1.	Pengaruh Ekstrak Air Daun Bungur dan Probiotik Terhadap Kualitas dan Kuantitas Sel-Sel Spermatogenik .....	54
4.2.2.	Pengaruh Ekstrak Air Daun Bungur dan Probiotik Terhadap Perbaikan Struktur Diameter dan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus. ....	57
4.2.3.	Identifikasi Probiotik <i>Lactobacillus</i> pada pakan normal mencit dan Bekasam .....	59
<b>IV.</b>	<b>SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>61</b>
5.1.	Simpulan.....	61
5.2.	Saran .....	62
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>63</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>74</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelompok Perlakuan.....	36
Tabel 2. Rata-rata Jumlah Sel Spermatogonium Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	50
Tabel 3. Rata-rata Jumlah Sel Spermatisit Primer Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) ....	51
Tabel 4. Rata-rata Jumlah Sel Spermatid Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	52
Tabel 5. Rata-rata Ukuran Diameter Tubulus Seminiferus Testis Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	54
Tabel 6. Rata-rata Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	57
Tabel 7. Rata rata total koloni bakteri <i>Lactobacillus</i> sp. pada sampel bekasam dan pakan mencit .....	59
Tabel 8. Rata- rata total Koloni <i>Lactobacillus</i> sp. pada usus mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	60
Tabel 9. Perbandingan data dari keseluruhan kelompok perlakuan terhadap jumlah populasi sel <i>Lactobacillus</i> pada usus mencit, jumlah sel spermatogenik (sel spermatogonium, sel permatosit primer, sel spermatid), diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	62

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1 Struktur Penampang Melintang Tubulus Seminiferus .....	14
2 Perkiraan Mekanisme Aksi Probiotik Dalam Manajemen Diabetes Tipe II..	22
3 Gambar Pohon Bungur .....	26
4 Mekanisme molekuler senyawa aktif dalam daun bungur .....	27
5 Mencit ( <i>Mus musculus</i> L.) .....	33
6 Gambaran Histologi Testis Mencit.....	49

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infertilitas menjadi persoalan yang dikhawatirkan oleh setiap pasangan suami istri terutama yang belum memiliki anak. Penyebab infertilitas dipicu oleh banyak faktor, diantaranya hiperglikemia. Hiperglikemia dapat memicu degradasi epididimis, menyebabkan disfungsi migrasi sel sperma yang memengaruhi reproduksi sehingga jumlah sel spermatogonium mengalami penurunan, jumlah sel sperma dalam testis dan epididimis dan penurunan diameter tubulus seminiferus. Kasus hiperglikemia memiliki dampak yang signifikan bagi degradasi dari aktivitas produksi hormon testosteron serta gangguan dalam proses spermatogenesis (Kianifard, 2012). Penelitian tentang hiperglikemia masih terus dilakukan dalam mengatasi dampak buruk tersebut.

Penelitian mengenai hiperglikemia biasanya dilakukan pada hewan mencit (*Mus musculus* sp.) karena memiliki sifat anatomis dan fisiologis seperti manusia sehingga dapat dikonversi dosis ke manusia. Model terapi hiperglikemia yang dilakukan terhadap mencit diantaranya transplantasi pankreas, manipulasi genetik, terapi obat secara sintetik atau terapi non obat secara alami, pengaturan diet atau nutrisi dari makanan (Rees & Alcolado, 2005). Terapi obat secara sintesis memberikan efek samping timbulnya hipoglikemia, mual, rasa tidak enak di perut, dan anoreksia (Agoes, 1991). Penanganan terapi non obat pada penderita hiperglikemia dapat dilakukan dengan menggunakan obat herbal dari tumbuhan tertentu dan manipulasi asupan nutrisi. Beberapa tumbuhan diantaranya yang memiliki kemampuan menurunkan kadar gula darah adalah tumbuhan bungur.

Tumbuhan Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) memiliki berbagai manfaat medis. Beberapa riset menemukan potensi kandungan dalam daun bungur dapat melawan hiperglikemia dalam darah. Ekstrak daun bungur dari beberapa pelarut diketahui memiliki aktivitas hipoglikemik (Hou, 2009) Menurut Park dan Lee (2011) daun memiliki beberapa kandungan senyawa bersifat antihiperglikemia seperti asam korosolat dan tanin, termasuk lagerstroemin yang berperan dalam mengatur kadar glukosa darah.

Selain pemberian obat herbal, penurunan kadar glukosa darah juga dapat dilakukan dengan pengaturan makan yaitu dengan memilih pangan fungsional seperti probiotik. Menurut Lye (2009) dan Gomes (2014) probiotik dapat memberikan manfaat bagi kesehatan diantaranya pemeliharaan dari mikrobiota usus yang lebih sehat, sebagai *adjuvant* efektif dalam terapi resistensi insulin, meningkatkan sistem imun, dan penanggulangan diare (Chen , 2014). Probiotik sangat mudah diproduksi, salah satu sumber probiotik terdapat pada fermentasi bekasam. Bekasam adalah makanan berbahan dasar ikan air tawar, garam dapur dan nasi yang difermentasi (Desniar, 2012).

Penelitian yang dilakukan Guo, (2020), memberikan hasil memuaskan terkait penurunan kadar glukosa darah mencit oleh daun bungur. Begitu juga penelitian mengenai antihiperglikemia dari probiotik bekasam oleh Syafiqoh (2016), menunjukkan hasil yang memuaskan. Hal ini yang menarik untuk diteliti karena penelitian tentang kombinasi pemberian ekstrak daun bungur yang dikombinasikan dengan probiotik dari bekasam terhadap infertilitas mencit hiperglikemia belum banyak dilakukan. Oleh karena itu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui efek dari pemberian penambahan ekstrak daun bungur dan probiotik dari bekasam dengan terhadap terhadap populasi sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui perbedaan pemberian ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan penambahan probiotik bekasam terhadap peningkatan jumlah populasi sel spermatogenik mencit hiperglikemia.
2. Mengetahui perbedaan pemberian ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan penambahan probiotik bekasam terhadap perbaikan diameter tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.
3. Mengetahui perbedaan pemberian ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan penambahan probiotik bekasam terhadap perbaikan tebal epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.
4. Mengetahui perbedaan pemberian ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan penambahan probiotik bekasam terhadap jumlah sel *Lactobacillus* sp. yang hidup pada usus mencit hiperglikemia.
5. Mengetahui perlakuan terbaik dari perlakuan pemberian ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*), perlakuan penambahan probiotik dari bekasam serta perlakuan pemberian kombinasi ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan perlakuan pemberian probiotik bekasam terhadap populasi sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Hiperglikemia merupakan kondisi kadar gula darah di atas batas normal yang dipicu oleh ketidakmampuan sel  $\beta$  pankreas dalam memproduksi insulin atau produksi insulin yang tidak mencukupi sehingga mengakibatkan peristiwa hiperglikemia atau meningkatnya kadar gula darah di atas batas normal. Sel-sel dalam tubuh akan tidak akan terbuka sehingga menyebabkan glukosa menumpuk dalam darah akibat dari kurangnya produksi hormon insulin. Kondisi ini berpengaruh kepada tingkat mortalitas dan morbiditas yang berujung pada kegagalan fungsi organ tertentu, salah satunya adalah organ reproduksi. Hiperglikemia dapat mengakibatkan infertilitas karena

dapat menyebabkan degradasi dan aktivitas produksi hormon testoesteron dan produksi sel spermatozoa. Aktivitas hiperglikemia dalam jangka waktu lama dapat memicu Spesi Oksigen Reaktif (ROS) yang memicu membran pada mitokondria kehilangan fungsinya sehingga memengaruhi penyebaran nutrisi ke berbagai jaringan, salah satunya adalah tubulus seminiferus yang mengakibatkan proses spermatogenesis terganggu.

Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) adalah salah satu tumbuhan obat yang sering digunakan sebagai obat kencing manis, yang biasanya digunakan dalam bentuk rebusan. Senyawa kimia yang telah berhasil diisolasi dari daun bungur jenis (*Lagerstroemia speciosa*) diantaranya flavonoid, tanin, dan senyawa triterpen yaitu Asam Ursolat, Asam Korosolat, Asam Asiatat, Asam Alfitolat, Asam ellagat, Kumarin dan Neo Lignan. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antihiperglikemik. Mekanisme antihiperglikemik pada senyawa daun bungur dengan cara menstimulasi sensifitas reseptor insulin, menghambat proses aktivasi enzim  $\alpha$ -glukosidase dan  $\alpha$ -amilase, serta membantu proses transportasi protein transpor GLUT4.

Probiotik adalah mikroorganisme yang jika diberikan dalam kondisi cukup maka akan bermanfaat bagi tubuh inangnya. Probiotik memiliki manfaat dalam kesehatan yaitu menurunkan kadar glukosa darah dan membantu agar tidak mudah lapar sehingga mengurangi penambahan kadar glukosa pada penderita diabetes melitus. Probiotik juga mampu mencegah timbulnya resistensi insulin sehingga menunda timbulnya hiperglikemia dengan menurunkan stres oksidatif, respons inflamasi dan meningkatkan *intake* glukosa di perifer. Efek dari probiotik ini didapat melalui penurunan lipopolisakarida (LPS), peningkatan *Short Chain Fatty Acids* (SCFA), supresi reaksi imun dan stres oksidatif, peningkatan *Glucagon Like Peptide* (GLP-1), sekresi *insulinotropic poly-peptides*, hingga peningkatan *Glucose Transporter Type 4* (GLUT 4). Probiotik terutama berasal dari Bakteri Asam Laktat (BAL), salah satu bakteri yang masuk ke dalam BAL adalah dari genus *Lactobacillus*.

*Lactobacillus* sp. merupakan kelompok marga bakteri gram positif yang dominan dari kelompok BAL. *Lactobacillus* sp. sering digunakan pada produk makanan fermentasi seperti produk-produk susu fermentasi (yoghurt, keju, kefir) produk fermentasi daging seperti sosis fermentasi, serta produk fermentasi sayuran. Jenis bakteri *Lactobacillus* sp. Dapat diisolasi dan di ditemukan pada fermentasi bekasam. Produk ini dibuat dengan fermentasi menggunakan ikan air tawar, garam, dan sumber karbohidrat seperti nasi atau tape sebagai bahan baku utama dengan lama fermentasi sekitar 4-10 hari.

Dari uraian di atas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan pengamatan dan peninjauan terkait pengaruh dari pemberian ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) kemudian pemberian probiotik yang diisolasi dari bekasam serta kombinasi dari keduanya terhadap jumlah populasi sel spermatozoa, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang telah diinduksi aloksan sehingga menyebabkan aktivitas hiperglikemia.

#### 1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan pemberian Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dengan penambahan probiotik dari bekasam dalam meningkatkan produksi sel spermatogenik mencit hiperglikemia.
2. Terdapat perbedaan pemberian Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dengan penambahan probiotik dari bekasam efektif memperbaiki ukuran diameter epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.
3. Terdapat perbedaan pemberian Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dengan penambahan probiotik dari bekasam efektif

memperbaiki ukuran tebal epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.

4. Terdapat perbedaan jumlah sel *Lactobacillus* sp. yang hidup pada bekasam sebelum perlakuan dan pada feses mencit setelah perlakuan.
5. Terdapat perlakuan terbaik dari perlakuan pemberian kombinasi ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan perlakuan pemberian probiotik bekasam terhadap populasi sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit hiperglikemia.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Hiperglikemia

Hiperglikemia mengacu kepada suatu kondisi dimana kadar glukosa darah lebih tinggi dari ambang batas normal. Hal ini disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh untuk memproduksi hormon insulin yang cukup atau bahkan tidak dapat memproduksi hormon insulin sama sekali serta ditambah konsumsi glukosa yang berlebih. Permasalahan dalam ketersediaan insulin oleh tubuh merupakan faktor yang memegang peranan penting, sedangkan yang lainnya dapat diakibatkan oleh pengangkatan pankreas, pengerusakan secara kimiawi sel pulau Langerhans, faktor obesitas, faktor imunologi suatu respon autoimun (Perkeni, 2015).

Hiperglikemia umumnya menjadi diagnosis utama dari penyakit diabetes mellitus. Keadaan hiperglikemia dapat menyebabkan gangguan imunitas serta lebih mudah terinfeksi, perburukan sistem kardiovaskular, trombosis, kenaikan inflamasi, disfungsi endotel, stress oksidatif, dan kerusakan otak. Keadaan hiperglikemia dapat memicu autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (Perkeni, 2015).

Hiperglikemia tergolong menjadi 2 yakni hiperglikemia akut dan hiperglikemia kronis. Hiperglikemia akut terjadi pada kondisi kadar glukosa darah meningkat atau menurun tajam dalam waktu singkat. Komplikasi akut yang biasanya terjadi adalah hipoglikemia, keadaan kadar glukosa darah kurang dari 50 mg/dL. Hiperglikemia kronis

Dapat memicu pembentukan radikal bebas yang berlebih dari proses auto-oksidasi glukosa, progresi protein, dan terjadi ketidakseimbangan antioksidan tubuh. Pembentukan radikal bebas yang berlebihan dapat memicu penurunan antioksidan tubuh dan kerusakan jaringan, sehingga menimbulkan aterosklerosis dan katarak (Szaleczky, 1999).

Hiperglikemia ditandai dengan berbagai macam peristiwa peningkatan kadar glukosa darah melebihi kadar normal dan didiagnosis baik dengan indikator parameter gangguan kadar glukosa darah puasa (IFG) atau gangguan toleransi glukosa (IGT). IFG adalah keadaan kadar glukosa darah berulang kali melebihi konsentrasi glukosa darah normal di atas 7 mmol, sedangkan IGT adalah keadaan dengan kadar glukosa darah lebih besar dari 11 mmol/l 2 jam setelah induksi glukosa oral 75 g (Alves, 2013).

Faktor Resiko terjadinya hiperglikemia terdiri dari faktor risiko yang tidak bisa dimodifikasi, faktor risiko yang bisa di modifikasi, dan faktor lain.

A. Faktor Risiko yang Tidak Bisa Dimodifikasi, yaitu:

1. Ras dan etnik.
2. Riwayat keluarga dengan diabetes melitus.
3. Umur: Risiko untuk menderita intoleransi glukosa meningkat seiring dengan meningkatnya usia yang rentan di atas 45 tahun.
4. Riwayat melahirkan bayi dengan BB lahir bayi melebihi 4 kg atau riwayat penderita diabetes melitus gestasional (DMG).
5. Riwayat lahir dengan berat badan tidak mencapai 2,5 kg.

B. Faktor Risiko yang Bisa Dimodifikasi, yaitu:

1. Berat badan lebih (IMT  $\geq 23$  kg/m<sup>2</sup>).
2. Kurangnya aktivitas fisik.
3. Hipertensi (>140/90 mmHg).
4. Dislipidemia (HDL < 35 mg/dl dan/atau trigliserida >250 mg/dl).
5. Diet tak sehat (unhealthy diet).

### C. Faktor lain

1. Penderita *Polycystic Ovary Syndrome* (PCOS) atau keadaan klinis lain yang terkait dengan resistensi insulin.
2. Penderita sindrom metabolik yang memiliki riwayat Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) atau Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT) sebelumnya.
3. Penderita yang memiliki riwayat penyakit kardiovaskular, seperti stroke, PJK, atau PAD (*Peripheral Arterial Diseases*) (Perkeni, 2015).

Keadaan hiperglikemia dapat mengganggu kesehatan tubuh, sebab kadar glukosa darah yang tinggi cenderung mendorong terbentuknya radikal bebas atau *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) reaktif melalui mekanisme menstimulasi donor elektron ke dalam rantai transport elektron di mitokondria (Azizah, 2019). Hiperglikemia dan defisiensi insulin mampu mempengaruhi struktur dan fungsi jaringan, termasuk struktur protein sel (Dalimartha, 2004).

## 2.2 Infertilitas Akibat Hiperglikemia

Infertilitas merupakan kondisi di mana pasangan suami istri tidak dapat memiliki anak setelah melakukan hubungan seksual 2-3 kali seminggu selama satu tahun tanpa menggunakan kontrasepsi (Purwoastuti dan Walyani, 2015). Menurut Aprillia (2010), infertilitas adalah kesulitan pasangan yang tidak menggunakan kontrasepsi untuk memperoleh keturunan dengan melakukan hubungan seksual secara teratur. Infertilitas dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu primer dan sekunder. Infertilitas primer terjadi jika pasien belum pernah hamil, sedangkan infertilitas sekunder terjadi jika sebelumnya pasien telah hamil, tetapi tidak dapat hamil lagi (Nadesul, 2009). Sisi pria juga dapat mempengaruhi terjadinya infertilitas. Menurut Suryo (2010), penyebab umum infertilitas pada pria adalah bentuk dan gerakan sperma yang tidak sempurna, konsentrasi sperma

yang rendah, varikokel, kriptorkidisme (testis tidak turun), kelainan genetik, infeksi, masalah seksual, ejakulasi retrograde, kanker testis, dan faktor lainnya. Rasjidi (2013) menyatakan bahwa sperma harus memiliki bentuk yang sempurna dan dapat bergerak cepat serta akurat menuju ovum untuk terjadi pembuahan. Jumlah sperma juga harus mencukupi untuk mencapai sel telur. Manuaba (2009) mengatakan bahwa jumlah spermatozoa yang diharapkan adalah minimal 20 juta/ml per ejakulasi.

Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan infertilitas pada pria, seperti varikokel yang merupakan pelebaran pembuluh darah balik di sekitar buah zakar. Selain itu, kriptorkidisme atau ketidakmampuan testis turun juga dapat menyebabkan infertilitas karena suhu di perut lebih tinggi daripada di skrotum, sehingga produksi sperma terganggu (Guneli, 2008). Infeksi pada traktus genitalis juga dapat menjadi penyebab infertilitas pada pria, karena dapat menyumbat vas atau merusak jaringan testis. Namun, infeksi tersebut masih dapat diperbaiki dengan pengobatan. Stres oksidatif diduga menjadi salah satu penyebab utama infertilitas pada tingkat molekuler. Stres oksidatif terjadi ketika kadar radikal bebas yang tinggi membanjiri mekanisme pertahanan antioksidan dalam tubuh (Mianoki, 2013).

Hal ini dapat merusak molekul-molekul seperti lipid, karbohidrat, protein, dan DNA dalam mitokondria dan nukleus. Penyebab stres oksidatif bisa bermacam-macam, salah satunya adalah kondisi hiperglikemia yang menciptakan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan di dalam tubuh (Rasjidi, 2013). Peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) akibat hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan sel, baik melalui peroksidasi lipid maupun kerusakan oksidatif protein dan DNA. Stres oksidatif juga dapat memicu apoptosis yang tidak terkontrol, yang berperan penting dalam patogenesis gangguan spermatogenesis. Pada penderita diabetes melitus, penurunan jumlah sel sperma diduga dapat disebabkan oleh peningkatan CML (*Carboxymethyllysine*) yang merupakan senyawa dari AGE pada organ reproduksi pria (Vignera, 2012).

Hiperglikemia dapat memicu terjadinya stres oksidatif dan hal ini terkait langsung dengan ketidaksuburuan karena disfungsi sperma (Hammam, 2008). Lebih dari 40% pasien pria yang memiliki kadar ROS tinggi mengalami infertilitas. Proses pembentukan ROS normalnya termasuk dalam proses fisiologi tubuh, tetapi menjadi berbahaya akibat peningkatan yang berlebihan dalam produksi ROS. Stress oksidatif akan memicu integritas DNA dalam nukleus spermatozoa yang kemudian akan menginduksi terjadinya apoptosis sel yaitu terjadinya degradasi terstruktur dan tersistematis dari sel yang dipengaruhi oleh perubahan morfologi dan biokimia sel (Hammam, 2008).

Selain pengaruh dari kadar stress oksidatif yang berlebih, beberapa faktor seperti IGF dan IGT menjadi faktor yang memengaruhi tingkat infertilitas. IGF atau *Impaired Fasting Blood Glucose Levels*. Kadar glukosa darah puasa dan IGT (*Impaired Glucose Tolerance*) gangguan toleransi glukosa adalah parameter independen dan telah digunakan sebagai kriteria diagnostik dalam penelitian terbaru tentang hiperglikemia sebagai penyebab infertilitas faktor pria (Alves, 2013).

Dalam beberapa studi belakangan ini menunjukkan dampak negatif diabetes melitus pada fungsi ereksi dan ejakulasi, serta pengurangan volume air mani, jumlah sperma, motilitas sperma dan morfologi sperma yang abnormal (Alves, 2013). Lebih jauh lagi, infertilitas pria sekarang diakui sebagai tanda gangguan kesehatan pria (Ventimigli, 2015), terutama jika ada disfungsi seksual (Lotti, 2016).

## **2.2. Testis**

Testis atau buah zakar merupakan sepasang organ oval yang terletak di dalam skrotum dengan panjang sekitar 0,8 cm dan diameter rata-rata 0,4-0,6 cm. Meskipun memiliki massa mencapai 10-15 gram pada manusia, pada mencit testis hanya memiliki massa sekitar 0,05-0,15 gram. Testis

berkembang dari daerah di sekitar ginjal dan mulai membentuk struktur keluar tubuh dengan skrotum melalui saluran di antara dinding perut dalam perkembangan fetus sekitar tujuh bulan pada manusia dan pada hari ke-7 hingga ke-8 setelah kebuntingan induk (Tortora & Derrickson, 2009).

### **2.3.1. Tubulus Seminiferus**

Tunica albuginea merupakan lapisan tipis jaringan ikat berserat yang menutupi testis. Lapisan ini membagi bagian dalam testis menjadi sekitar 200-300 lobus yang lebih kecil, di mana setiap lobus mengandung satu hingga tiga saluran berpilin yang disebut tubulus seminiferus. Proses pembentukan sperma terjadi di dalam tubulus seminiferus melalui spermatogenesis (Rizzo, 2010).

Tubulus seminiferus merupakan saluran tempat berlangsungnya proses spermatogenesis (Purwaningsih, 2010). Tubulus seminiferus adalah bagian dalam testis yang memiliki fungsi untuk memproduksi spermatozoa. Tubulus seminiferus tersusun atas beberapa lapisan yaitu lapisan luar berupa jaringan ikat dan otot polos, dikelilingi oleh lapisan dalam yang mengandung sel Sertoli. Berada di dalam dan di antara sel-sel Sertoli terdapat sel germinal yang memproduksi spermatozoa. Spermatozoa dilepaskan ke dalam lumen tubulus dan disimpan di bagian ekor epididimis. Tubulus seminiferus itu sendiri merupakan bentuk perkembangan dari kordaseks primitif (Greenstein & Wood, 2012).

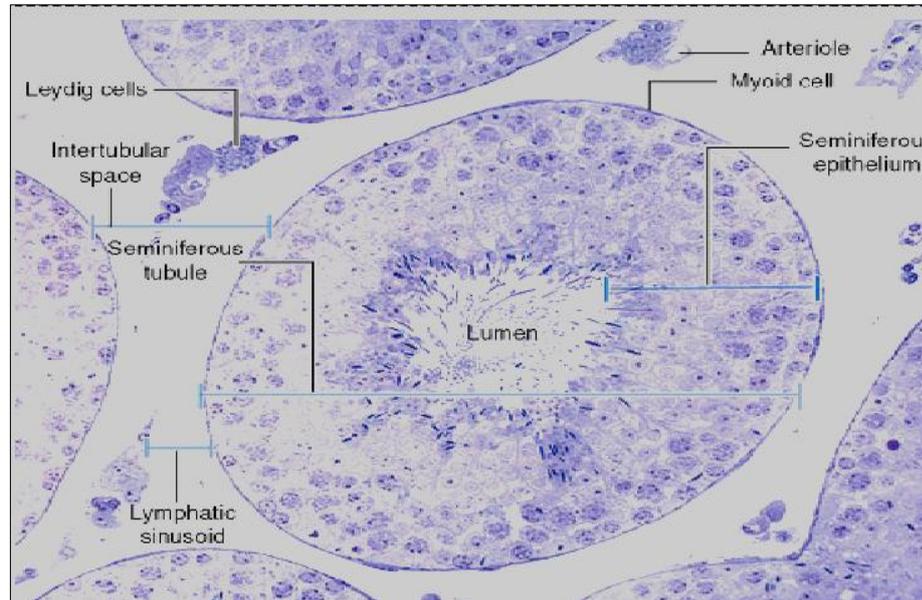
Tubulus seminiferus memiliki panjang sekitar 80 cm dengan diameter sebesar 150  $\mu\text{m}$ , dan memiliki alur saluran berkelok-kelok. Bentuknya mirip huruf U, dan pada kedua ujungnya terhubung dengan saluran lain pada rete testis. Fungsi dari rete testis sendiri adalah untuk mengumpulkan produk-produk dari epitel seminiferus seperti sperma, protein, dan ion. Di dalam tubulus seminiferus terdapat basement membran yang terdiri dari fiber kolagen, fibroblast, dan sel kontraktile myoid, yang berfungsi sebagai pelapis paling luar tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus tersusun atas:

1. Tunika fibrosa yang tersusun atas beberapa lapisan fibroblas. Lapisan paling dalam melekat pada jaringan penyambung dekat dengan lamina basalis.
2. Lamina basalis.
3. Epitel germinativum tersusun atas dua jenis sel yaitu sel-sel Sertoli (bersifat nutritif) dan sel-sel yang merupakan turunan spermatozoa atau seminal.

Tubulus seminiferus memiliki lumen tunggal di tengahnya yang terdiri dari lapisan epitel seminiferus. Epitel seminiferus terdiri dari dua tipe sel: sel Sertoli (sel sustentakuler) yang terletak di membran basal dan sel spermatogenik yang terdiri dari spermatogonia, spermatosit, dan spermatid. Epitel seminiferus adalah epitel stratifikatum dan sel Sertoli adalah sel kolumnar (Kierszenbaum, 2012). Sel Sertoli berperan dalam mendukung dan menjaga perkembangan sel spermatogenik dengan cara memelihara spermatosit, spermatid, dan sperma. Sel Sertoli juga memfagositosis sitoplasma spermatid untuk mengontrol pergerakan sel spermatogenik dan melepas sperma ke dalam lumen tubulus seminiferus. Selain itu, sel Sertoli juga memproduksi cairan untuk transport sperma, sekresi inhibitor hormon, dan meregulasi efek dari testosteron dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) (Tortora & Derrickson, 2014). Gambaran tubulus seminiferus dapat dilihat pada Gambar 1.

Fungsi dinding dan epitel tubulus seminiferus sangat dipengaruhi oleh ketebalan epitel tubulus seminiferus dalam menghasilkan sperma. Semakin tebal diameter disertai semakin mengecilnya diameter lumen tubulus seminiferus berarti telah terjadi penambahan tebal epitel tubulus seminiferus. Penebalan epitel tubulus seminiferus menandakan bahwa sel-sel Sertoli dan spermatogenik dalam kondisi yang baik dan mampu menjalankan proses spermatogenesis dengan baik. Namun, penurunan tebal diameter dan epitel tubulus seminiferus dapat terjadi pada penderita dengan

komplikasi diabetes melitus. Penurunan ini akan mengganggu proses spermatogenesis (Golalipour, 2011)



Gambar 1. Penampang melintang tubulus semniferus mencit (*Mus musculus*) (Tortora & Derrickson, 2014)

### 2.3.2. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan sperma yang dimulai dari sel-sel di lapisan tubulus seminiferus dan berlanjut di lumen. Sel stem spermatogonia membelah menjadi spermatosit primer yang kemudian membelah lagi melalui meiosis dan terdiferensiasi menjadi spermatid (Martini, 2012). Spermatid akan menjadi spermatozoa yang masuk ke dalam cairan lumen. Tahapan spermatogenesis meliputi proliferasi, pertumbuhan, pematangan, dan transformasi/spermiogenesis. FSH berperan dalam menstimulasi awal spermatogenesis, termasuk proliferasi spermatogonia. Waktu spermatogenesis pada mencit adalah 35,5 hari atau 4 kali daur epitel seminiferus dengan lama satu daur epitel seminiferus pada mencit adalah  $207 \pm 6,2$  (Junqueira & Carneiro, 2005)..

### 2.3. Probiotik

Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang artinya “untuk hidup” (*Pro* = baik dan *biotic* = hidup). Menurut Chow (2002), Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan keseimbangan baik antara mikroba yang menguntungkan dengan mikroba yang merugikan di saluran pencernaan inang, meningkatkan kesehatan dan kehidupan mikroba baik. Produk probiotik mencapai angka penjualan yang tinggi di pasar global dan berfungsi untuk menjaga keseimbangan mikroekosistem dalam sistem pencernaan, membantu proses pencernaan, berperan positif dalam sistem imun, dan menetralkan racun. Faktor-faktor yang dapat mengganggu keseimbangan mikroorganisme dalam sistem pencernaan adalah gaya hidup tidak sehat, ketidaksehatan makanan/minuman, stress, dan konsumsi antibiotik yang berlebihan.

Probiotik sebagai komponen pangan fungsional juga telah diadopsi oleh BPOM, melalui Surat Keputusan yang ditetapkan Januari 2005, tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional. Di dalam peraturan tersebut yang dimaksud dengan pangan fungsional adalah pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasar kajian ilmiah mempunyai fungsi fisiologis tertentu, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan (Aritonang, 2019).

Probiotik dapat berupa bakteri, jamur dan ragi. Tapi yang paling bersifat probiotik adalah bakteri. Mekanisme kerja suatu probiotik adalah dengan memproduksi asam laktat, memproduksi metabolit penghambat, kolonisasi pada saluran pencernaan, respon imun non - spesifik dan penyerapan bakteri oleh jamur (Soeharsono, 2010). Adapun menurut Surono (2004), mekanisme kerja probiotik yaitu:

1. Antagonis langsung melalui zat antimikroba yang dihasilkan probiotik.
2. Melalui kompetisi terhadap reseptor adhesi dan nutrisi.

3. Sifat adhesi bakteri probiotik.
4. Menstimulir sistem imun.

Mekanisme kerja probiotik dalam melindungi atau memperbaiki kondisi inangnya antara lain dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa cara diantaranya:

1. Memproduksi substansi-substansi penghambat. Probiotik mampu memproduksi zat-zat penghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif. Zat-zat ini termasuk asam organik, hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), bakteriosin, reuterin yang mampu menghambat tidak hanya bakteri hidup namun juga produksi toksin.
2. Menghambat perlekatan bakteri patogen dengan berkompetisi di tempat perlekatan permukaan mukosa saluran cerna. Cara ini diduga juga merupakan salah satu cara probiotik dalam menghambat invasi dari bakteri patogen.
3. Kompetisi nutrisi. Bakteri-bakteri yang menguntungkan (probiotik) akan berkompetisi dengan bakteri patogen dalam hal memperebutkan nutrisi dalam saluran cerna.
4. Menurunkan pH lingkungan. Bakteri asam laktat akan mengubah glukosa menjadi asam laktat sehingga pH lingkungan menjadi rendah. Dalam kondisi seperti ini pada pH rendah dan suasana asam maka akan menghambat pertumbuhan jenis bakteri patogen. Dengan demikian probiotik dapat mengurangi jumlah bakteri patogen di saluran pencernaan sehingga penggunaan probiotik lebih efisiensi dan lebih baik.

Senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) diantaranya adalah asam organik, suatu peptida yang bersifat antimikroba, berbagai jenis vitamin, asam folat serta senyawa flavor. BAL juga menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti  $H_2O_2$ , diasetil,  $CO_2$  asetaldehid, d-isomer, asam amino dan bakteriosin (Surono, 2004). Kriteria bakteriosin (antimikroba) yang dihasilkan oleh bakteri gram positif, yaitu suatu jenis

peptide/protein yang bersifat bakteriosidal tidak hanya bakteriostatik, mencegah pertumbuhan bakteri sejenis, dan mempunyai tempat perlekatan yang spesifik bagi patogen, yang membedakannya dengan senyawa antimikroba lainnya.

Bakteriosin mampu meningkatkan kemampuan dari BAL terhadap pencegahan dari pertumbuhan bakteri yang berbahaya di samping karena menghasilkan lingkungan yang asam bagi bakteri lain (Savado, 2006). Probiotik yang efektif adalah bakteri yang mempunyai karakteristik:

1. Bakteri tersebut harus dapat dipreparasi sebagai “*viable product*” dan dibuat dalam skala industri.
2. Harus tetap stabil dan viabel dalam jangka panjang baik dalam penyimpanan maupun di lapangan.
3. Harus bertahan dalam saluran pencernaan khususnya dalam usus halus dan tidak diharuskan tumbuh dalam usus halus.
4. Harus bermanfaat bagi inang atau induk semang (Surono, 2004).

Adapun karakterisasi bakteri asam laktat yang dapat digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah:

1. Isolat bakteri yang diperoleh memiliki karakteristik yang dimiliki oleh Bakteri Asam Laktat berdasarkan:
  - Pewarnaan Gram
  - Pengamatan Bentuk Sel
  - Uji Katalase
  - Pengujian Produksi Gas dari Glukosa
  - Uji Ketahanan terhadap Asam Klorida
  - Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu
  - Uji Aktivitas Antimikroba BAL Pada Berbagai Bakteri Uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*
2. Sebagai materi hidup yang tidak berbahaya.
3. Dapat bertahan hidup selama dilakukan proses dan penyimpanan.
4. Memiliki efek antagonis terhadap bakteri patogen.

5. Toleran terhadap asam lambung, getah pankreas dan cairan empedu serta mampu melindungi epitelium inangnya minimal dalam jangka waktu pendek. Ketahanan terhadap garam empedu merupakan salah satu syarat penting untuk bakteri asam laktat yang akan digunakan sebagai probiotik. Asam empedu merupakan racun bagi sel hidup, oleh karena itu mikroba pada saluran pencernaan harus mempunyai suatu mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari aktivitas racun tersebut (Salen & Batta, 2004).

### 2.3.1 *Lactobacillus* sp.

*Lactobacillus* sp. adalah jenis bakteri gram-positif (Sujaya, 2008) yang bisa hidup secara anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik. Kelompok bakteri ini terutama terdiri dari bakteri asam laktat karena kebanyakan jenisnya mampu mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat. Kelompok bakteri ini juga merupakan kelompok terbesar dari bakteri asam laktat (BAL) dengan hampir 80 spesies yang berbeda. Jenis *Lactobacillus* dibagi menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri homofermentatif seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus thermophilus*, sedangkan bakteri heterofermentatif seperti *Lactobacillus fermentum* (Sya'baniar, 2017).

*Lactobacillus* merupakan kelompok bakteri gram positif yang berpotensi sebagai probiotik dan tahan terhadap logam berat. Beberapa jenis bakteri *Lactobacillus* dapat digunakan dalam aplikasi makanan sebagai aditif untuk mengurangi toksisitas logam berat dalam tubuh manusia. Hal ini disebabkan oleh mekanisme resistensi bakteri dalam mencegah kerusakan pada selnya dan kemampuan bakteri ini untuk mengikat dan menyerap logam berat sehingga dapat dikeluarkan melalui kotoran. Gen resistensi logam berat sering kali terdapat pada plasmid yang sama sehingga tekanan selektif dapat ditekan di saluran usus (Monachese, 2012). Bakteri *Lactobacillus* juga

memiliki peran dalam fermentasi susu menjadi yogurt, yang memungkinkan pertumbuhan strain bakteri.

Probiotik umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan manusia (Sujaya, 2008). Salah satu syarat dikatakan sebagai bakteri probiotik adalah ketika bakteri ini mampu bertahan melewati saluran pencernaan dan berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu, dan mampu menempel pada sel epitel usus manusia (Gilliand, 1989). *Lactobacillus* merupakan probiotik yang dapat memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan seperti penanggulangan diare (Collado, 2009), menstimulasi sistem kekebalan tubuh (Isolauri & Salminen, 2008), menurunkan kadar kolesterol (Lee & Salminen, 2010), pencegahan kanker kolon dan usus (Liong, 2008), dan penanggulangan dermatitis atopik pada anak-anak (Torii, 2010).

*Lactobacillus* sp. memberikan manfaat yang positif bagi kesehatan manusia. Manfaat tersebut terlihat ketika bakteri ini mampu bertahan melewati saluran pencernaan, mampu untuk berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu, mampu menempel pada sel epitel usus manusia, dan mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan (Gilliand, 1989). Namun, probiotik tidak dapat dimanfaatkan oleh tubuh karena probiotik mati akibat asam lambung yang terlalu asam (pH=2) dan konsentrasi garam empedu yang relatif tinggi di usus besar. Salah satu cara untuk meningkatkan viabilitas probiotik adalah dengan cara imobilisasi sel.

#### **2.4. Mekanisme Hipoglikemik Probiotik**

Mekanisme probiotik dalam menurunkan glukosa darah diduga melalui penurunan ekspresi gen fosfoenol piruvat karboksikinase dan glukosa-6-fosfatase yang mengendalikan proses glukoneogenesis di hati. Kemampuan BAL indigenos untuk sintas dalam saluran pencernaan sehingga memberi



glukosa dan energi, termasuk *glucagon-like peptide* (GLP)-1 (Cani, 2014). GLP-1 menurunkan kadar glukosa darah selama hiperglikemia dengan merangsang sekresi insulin dan mengurangi ketergantungan glukosa. Hormon ini juga merangsang rasa kenyang dan menunda pengosongan lambung melalui mekanisme pusat sehingga mengurangi kadar glukosa postprandial. SCFA beredar dalam darah dan dapat bertindak pada target perifer untuk memodulasi sensitivitas insulin dan metabolisme energi dari host (Wang, 2015).

Modulasi mikrobiota usus dengan probiotik dapat memfasilitasi pengelolaan sejumlah kondisi klinis. Probiotik dapat terlibat dalam pemeliharaan mikrobiota usus yang lebih sehat, dan juga telah diidentifikasi sebagai adjuvant efektif dalam terapi resistensi insulin. Aktivasi *SCFA-mediated* dari *G-protein coupled receptor* (Gpr43) mengakibatkan supresi sinyal insulin dalam jaringan adiposa kemudian mencegah akumulasi lemak. Diet tinggi lemak menginduksi resistensi insulin, sebagaimana dibuktikan pada pengujian toleransi insulin dan toleransi glukosa (Gomes, 2014). Dalam pengujian tersebut, resistensi insulin dan kadar glukosa darah meningkat pada tikus yang kekurangan Gpr43 dibandingkan dengan tikus galur liar dan yang mendapat perlakuan antibiotik. Aktivasi Gpr43 juga meningkatkan sensitivitas insulin dengan meningkatkan sekresi GLP-1 di usus. *G-protein coupled receptor* (Gpr43) tidak diekspresikan di hati maupun di otot, sehingga *adipose tissue-derived* Gpr43 dapat memodulasi semua efek metabolik setelah keterlibatan dengan produk yang dihasilkan mikroba seperti SCFA. Oleh karena itu, SCFA (butirat, propionat, dan asetat) merupakan sumber energi penting untuk host dan bertindak sebagai molekul sinyal, terutama di jaringan adiposa untuk menjaga keseimbangan energi (Tilg & Moschen, 2014).

## 2.5. Bekasam

Bekasam merupakan makanan tradisional yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia seperti Jawa, Sumatera Selatan, dan Kalimantan Selatan.

Bekasam adalah produk olahan hasil fermentasi ikan. Menurut Desniar, Rusmana, (2013), bekasam digunakan sebagai produk olahan ikan dengan cara fermentasi yang memiliki cita rasa masam. Ikan yang dapat dijadikan sebagai Bekasam adalah jenis ikan air tawar yaitu ikan gabus, balok, siam dan paku rawa dengan menambahkan garam sekitar 15-20%, dan ditambahkan beras 15%, kemudian difermentasi selama kurang lebih satu minggu hingga menghasilkan aroma dan rasa yang khas. Beberapa penelitian sebelumnya tentang kandungan bakteri asam laktat telah terkonfirmasi.

Fungsi Pemberian garam berperan dalam pengolahan dan pengawetan. Konsentrasi garam yang digunakan dalam fermentasi sangat penting untuk menghasilkan bekasam ikan berkualitas terbaik. Hal ini disebabkan karena pemberian garam mempengaruhi jenis mikroba yang berperan dalam fermentasi (Ijong dan Ohta, 1996). Garam berperan sebagai bahan bakteriostatik untuk beberapa bakteri, termasuk bakteri patogen dan pembusuk. Konsentrasi garam yang digunakan dalam fermentasi akan menentukan kualitas dari hasil fermentasi bekasam ikan, karena hanya mikroorganisme yang tahan terhadap garam (halofilik obligat) yang dapat bertahan hidup dalam kondisi yang terkontrol. Oleh karena itu, penambahan garam pada proses pembuatan bekasam ikan bertujuan untuk menciptakan kondisi yang sesuai sehingga hanya mikroorganisme halofilik obligat yang dapat bertahan dan berperan dalam fermentasi.

Wikandari (2012), menemukan bahwa bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas proteolitik yaitu *Lactobacillus plantarum* B765, *L. plantarum* T2565, *L. plantarum* N2352, *L. plantarum* B1465, *L. pentosus* B2555, dan *Pediococcus pentosaceus* B1666. Desniar dan Rusmana (2013) dalam penelitiannya mengungkapkan adanya aktivitas antimikroba isolat bakteri asam laktat terhadap *Staphylococcus aureus* yang disebabkan oleh kemampuan asam organik sebagai senyawa antibakteri. Kemudian Afriani (2017) mengisolasi bakteri asam laktat bekasam dari Jambi yang juga

memiliki aktivitas proteolitik yaitu *Lactobacillus pentosus* BS15, *L.plantarum* BS22 dan *L.plantarum* BL12. Sari (2018) menguji aktivitas antibakteri bakteri asam laktat Bekasan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella* sp. Namun penelitian sebelumnya tidak memberikan jenis ikan yang sama sehingga dapat mengakibatkan perbedaan profil mikroba dibandingkan penelitian ini.

## 2.6. Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*)

Tumbuhan bungur diklasifikasikan ke dalam golongan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Lythraceae
Marga	: <i>Lagerstroemia</i>
Jenis	: <i>Lagerstroemia speciosa</i> [L.]

Tumbuhan Bungur dalam pengobatan tradisional biasanya digunakan sebagai obat diabetes dalam bentuk rebusan daun. Daunnya digunakan untuk mengobati kencing batu, kencing manis, dan tekanan darah tinggi, sedangkan kulit kayu digunakan untuk mengobati diare, disentri dan kencing darah (Dalimartha, 2003). Beberapa hasil penelitian melaporkan adanya potensi ekstrak daun Bungur dari beberapa pelarut dalam menurunkan kadar glukosa darah penderita diabetes melitus baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Hasil penelitian Judy , (2003), menunjukkan daun bungur yang diekstrak menggunakan etanol 80% memiliki aktivitas antihiperqlikemiak untuk diabetes tipe 2 yang diuji secara *in vivo*. Hou (2008), juga mencoba mengekstrak daun Bungur menggunakan pelarut etil asetat dan hasil uji secara *in vitro* menunjukkan adanya aktivitas antihiperqlikemiak. Hasil penelitian Hernawan , (2004), menyatakan ekstrak air daun bungur menunjukkan aktivitas Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) adalah salah satu tumbuhan obat yang tumbuh di Indonesia.

Dalam pengobatan tradisional daun bungur sering digunakan sebagai obat kencing manis, yang biasanya digunakan dalam bentuk rebusan (Dalimartha, 2003). Di Filipina, telah beredar ekstrak terstandar yang mengandung 1% asam korosolat dari daun bungur, yang digunakan untuk mengobati diabetes. Daun bungur jenis (*Lagerstroemia speciosa*) telah diisolasi dan mengandung beberapa senyawa kimia seperti Asam Ursolat, Asam Korosolat, Asam Asiatat, Asam Alfitolat, Asam ellagat, Kumarin dan Neo Lignan (Huang, 2013). Asam korosolat sendiri merupakan salah satu senyawa aktif yang terdapat di dalam daun bungur, dan diketahui dapat menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase (Klein, 2007), yang berperan dalam pemecahan karbohidrat kompleks seperti pati dan glikogen menjadi glukosa (Kim, 2000). Inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat mengurangi pencernaan dan penyerapan karbohidrat kompleks, yang membantu mengurangi peningkatan kadar glukosa (Misnadiarly, 2006).

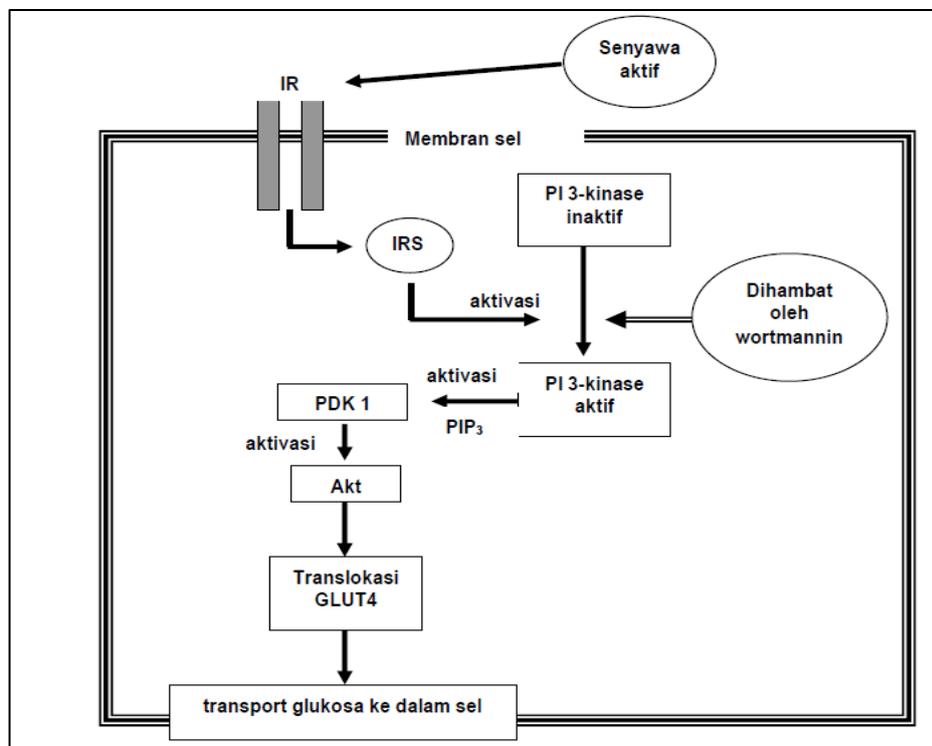


Gambar 3 Daun Bungur (Liu, 2001)

## 2.7. Mekanisme Hipoglikemik Ekstrak Air Daun Bungur

Dalam sistem pencernaan, senyawa dalam ekstrak air daun bungur diserap dan masuk ke dalam sistem sirkulasi darah kemudian disebarkan ke seluruh jaringan tubuh. Setelah mencapai sel target, misalnya sel adiposa, senyawa aktif dalam ekstrak air daun bungur berikatan dengan protein *insulin*

*receptor* (IR) yang merupakan reseptor spesifik untuk hormon insulin (Roith & Zick, 2001).



Gambar 4. Mekanisme molekuler senyawa aktif dalam daun bungur (Suherman, 2004).

Ikatan pada reseptor intraseluler menyebabkan autofosforilasi dan aktivasi *Tyr kinase*, diikuti dengan fosforilasi. Hal ini mengaktifkan IRS (*insulin receptor substrate*), sehingga memunculkan *docking site* dari molekul protein subunit p85/p110 pada PI 3-kinase. Aktivasi ini dapat dihambat oleh wortmannin (Standaert, 1996). Ketika *docking site* protein subunit p85/p110 aktif, molekul PI 3-kinase menjadi aktif dan menghasilkan PIP3 (fosfatidilinositol 3,4,5-fosfat) (Roith & Zick, 2001). PIP3 berikatan dengan domain PH (*plekstrin homology*) pada PDK-1 (kinase-1PIP3) dan Akt (protein kinase Ser/Thr B). Hal ini menyebabkan PDK-1 dan Akt menjadi aktif (Roith & Zick, 2001).

Aktivasi molekul Akt menyebabkan translokasi protein GLUT4, yang berperan dalam mekanisme transport glukosa (Baumann & Saltiel, 2001).

Secara umum, baik terapi OAD tradisional maupun modern memiliki mekanisme aktivitas hipoglikemik ekstrak air daun bungur. Secara umum, terapi OAD (baik tradisional maupun modern) memiliki mekanisme aktivitas hipoglikemik ekstrak air daun bungur, sebagai berikut:

A. Meningkatkan glikogenesis.

Berdasarkan penjelasan tentang mekanisme molekuler senyawa aktif EADB (Gambar 5), dapat diasumsikan bahwa EADB juga meningkatkan glikogenesis dengan cara mengaktifkan enzim glikogen sintesis. Aktivasi protein Akt oleh senyawa aktif EADB (Gambar 5) tidak hanya menyebabkan efek translokasi protein GLUT4, tetapi juga menyebabkan fosforilasi molekul GSK-3 (glycogen synthase kinase-3), sehingga enzim glikogen sintase menjadi aktif (Roith & Zick, 2001). Dengan aktifnya glikogen sintase, maka proses glikogenesis dapat terjadi. Selain itu, kemungkinan mekanisme ini didasarkan pada penelitian Hosoyama (2003) yang menunjukkan bahwa di dalam daun bungur terdapat senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase. Pemecahan glikogen (glikogenolisis) membutuhkan kelompok enzim amilo- $\alpha$ -glukosidase, yang termasuk dalam kelompok  $\alpha$ -amilase. Penghambatan enzim ini dapat menghambat reaksi glikogenolisis (McKee & McKee, 1999).

B. Menghambat aktivitas enzim aldose reduktase.

Kandungan asam elagat dapat menghambat aktivitas enzim aldose reduktase (Taylor, 2003). Enzim ini berperan dalam metabolisme glukosa jalur poliol (pembentukan sorbitol dan fruktosa dari glukosa). Pada diabetes melitus jalur ini mengalami kecenderungan menuju ke reaksi pembentukan glukosa. Untuk itu, enzim aldose reduktase harus dihambat (Trueblood & Ramasamy, 1998). Terdapat kemungkinan EADB memiliki mekanisme yang sama karena terdapat kandungan senyawa yaitu asam elagat, yang dapat dihasilkan dari hidrolisis ellagitanin dalam daun bungur (Gross, 1992).

C. Meningkatkan afinitas hormon insulin terhadap reseptornya.

Mengenai mekanisme ini, Liu (2001) membuktikan dengan mengombinasikan perlakuan ekstrak daun bungur dengan hormon insulin. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ada ataupun tidak ada hormon insulin, ekstrak daun bungur tetap mampu meningkatkan kecepatan transport glukosa. Ini menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang sinergis ataupun antagonis antara hormon insulin dengan ekstrak daun bungur. Hasil yang tidak sesuai dengan dugaan tersebut, menunjukkan bahwa ekstrak daun bungur tidak memiliki aktivitas hipoglikemik dengan meningkatkan afinitas dan jumlah reseptor hormon insulin.

## 2.8. Aloksan

Aloksan adalah zat kimia yang digunakan untuk menyebabkan diabetes pada hewan percobaan. Dengan memberikan aloksan, kondisi diabetes eksperimental yang disebut hiperglikemia dapat dengan cepat dihasilkan pada hewan percobaan. Aloksan dapat diberikan melalui tiga cara, yaitu intravena, intraperitoneal, atau subkutan pada hewan percobaan. Aloksan dapat menyebabkan Diabetes Melitus tipe tergantung insulin pada hewan percobaan (disebut aloksan diabetes) dengan karakteristik yang mirip dengan Diabetes Melitus tipe pada manusia.

Sifat aloksan yang toksik bersifat selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena aloksan terakumulasi melalui transporter glukosa yang khusus. Aloksan merupakan bahan kimia yang dianggap dapat memicu diabetes pada hewan uji karena sifat diabetogeniknya, terutama pada sel beta pankreas yang bisa menjadi racun dan mengakibatkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Mekanisme kerusakan sel  $\beta$  pankreas dimulai dengan oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Aloksan

akan bereaksi dengan dua gugus -SH yang berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfida sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut. Akibatnya, granula pembawa insulin dalam sel  $\beta$  pankreas akan berkurang dan tidak berpengaruh pada sekresi glukagon. Efek ini spesifik untuk sel  $\beta$  pankreas sehingga aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak berpengaruh terhadap jaringan lain.

Efek sitotoksik selektif aloksan merusak struktur Pulau Langerhans yang mengakibatkan Diabetes Melitus tipe I. Menurut Szkudelski (2001), aloksan di dalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi memberikan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Pada Pulau Langerhans terlihat pengurangan jumlah massa sel, beberapa Pulau Langerhans mengalami kerusakan, dimana ukuran menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang. Akibat kerusakan sel beta, sel beta tersebut tidak mampu menghasilkan insulin sehingga terjadi penyakit diabetes yang ditandai dengan hiperglikemia

## 2.9. Hewan Percobaan

Banyak spesies hewan dapat dibuat menjadi hewan model untuk mempelajari dan memahami pengujian dalam terapi, dan patofisiologi pada manusia, dan lain-lain. Salah satunya adalah mencit (Yehya, 2019). Mencit (*Mus musculus* L.) adalah anggota Muridae (tikus-tikusan) yang berukuran kecil. Mencit mudah dijumpai dan dikenal sebagai hewan pengganggu karena menggigit mebel dan barang-barang kecil lainnya. Menurut Integrated Taxonomic Information System (2017), mencit dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia

Family : Muridae  
Genus : *Mus*  
Species : *Mus musculus* L.

Mencit mudah menyesuaikan diri dengan perubahan yang dibuat manusia. Mencit percobaan (laboratorium) dikembangkan dari mencit, melalui proses seleksi. Sekarang mencit juga dikembangkan sebagai hewan peliharaan.



Gambar 5. Mencit (*Mus musculus* L.) (Medero, 2011).

## 2.10. Glibenclamid

Glibenclamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan diabetes melitus tipe 2. Obat golongan ini menstimulasi sel  $\beta$  pankreas untuk melepas insulin yang tersimpan. Efek samping OHO golongan sulfonilurea umumnya ringan dengan frekuensi rendah (Soegondo, 2010). Glibenclamid bekerja dengan cara menstimulasi pengeluaran insulin yang menghambat penempelan reseptor sulfonil urea di sel  $\beta$  pulau *langhears* (Akash, 2013). Glibenclamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan diabetes melitus tipe II. Obat golongan ini menstimulasi sel  $\beta$  pankreas untuk melepas insulin yang tersimpan. Efek samping OHO golongan sulfonilurea umumnya ringan dan frekuensinya rendah, antara lain gangguan saluran pencernaan dan gangguan susunan syaraf pusat. Golongan

sulfonilurea cenderung meningkatkan berat badan. Bila pemberian dihentikan, obat akan bersih dari serum setelah 36 jam (Soegondo, 2010).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - November 2022. Penelitian ini diawali dari proses produksi bekasam sebagai probiotik dan perhitungan Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan metode TPC di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Kemudian untuk proses aklimatisasi hewan uji coba dilaksanakan di Unit Pemeliharaan Hewan Uji Coba di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Kemudian proses selanjutnya untuk membuat ekstrak air daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Kemudian untuk proses pembedahan dan pengamatan mikroskopis dari hewan mencit dilaksanakan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, neraca analitik digital, ose bulat, bunsen, erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, mikroskop cahaya, mikrometer, *vortex mixer*, *centrifuge autoclave*, blender, oven, desikator, *rotary evaporator*, *Biological Safety Cabinet* (BSC), inkubator, evaporator, kertas saring, batang pengaduk, suntik, kotak kandang mencit, dan *glasswool*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bekasam, hewan percobaan yang digunakan adalah mencit dengan umur 2–3 bulan dan berat tubuh 25-35 gram, bahan tumbuhan untuk penelitian ini adalah daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) yang diperoleh dari lingkungan sekitar Universitas Lampung, sekam dan pakan untuk mencit, larutan CMC (*carboxyl methyl cellulose*) 1% digunakan sebagai pelarut glibenclamid dan aloksan monohidrat digunakan untuk menginduksi tikus normal menjadi diabetes.

### 3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan kelompok dengan dosis dari ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) mengikuti penelitian Suherman, (2015), kemudian untuk dosis probiotik yang digunakan mengikuti penelitian Syafiqoh (2016), seperti yang tercantum dalam Tabel 1. Dimana setiap perlakuan menggunakan 5 ekor mencit sehingga total mencit yang dibutuhkan sebanyak 30 ekor, dengan umur 3 bulan dengan berat badan 25-35 gram.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan.

No	Perlakuan (P)	Uraian	Keterangan
1	K <sub>0</sub>	Mencit diperlakukan dalam keadaan normal	Kontrol
2	K-	Mencit diinduksi Aloksan 120 g/kg bb	Kontrol Negatif
3	K+	Mencit diinduksi Aloksan kemudian diinduksi Glibenclamide sebanyak 0,63 mg /kg BB	Kontrol Positif
4	P1	Mencit diberikan Aloksan kemudian diberi Ekstrak Daun Bungur dengan Dosis 200 mg /kg bb	Perlakuan
5	P2	Mencit diinduksi aloksan kemudian diberikan Pakan berupa Bekasam sebanyak 25 g / kg bb	Perlakuan

6	P3	Mencit diinduksi Aloksan kemudian diberi Ekstrak Daun Bungur dengan dosis sebanyak 200 mg /kg bb + dan diberi makan Bekasam sebanyak 25 g / kg bb dengan diferensial waktu pemberian 12 jam	Perlakuan
---	----	---	-----------

Keterangan :

- K0 = Kontrol Normal (Tanpa perlakuan)
- K+ = Kontrol Positif (Perlakuan Aloksan + Glibenclamid)
- K- = Kontrol Negatif (Perlakuan Aloksan)
- P1 = Perlakuan Aloksan + Ekstrak Air Daun Bungur
- P2 = Perlakuan Aloksan + Probiotik *Lactobacillus* Bekasam
- P3 = Perlakuan Aloksan + Kombinasi Bungur dan Probiotik

### 3.4. Pembuatan Ekstrak Daun Bungur

Daun bungur yang masih segar dan berwarna hijau tua dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan akuades, kemudian dikering-anginkan selama satu malam, kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 37 – 40 °C, selama 3 hari. Setelah kering, daun dipotong– potong kecil dan dihaluskan dengan blender. Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan metode Liu (2001) yang dimodifikasi. Bubuk daun bungur diekstrak dengan akuades mendidih selama 30 menit. Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan 50 gram bubuk daun bungur dalam 1 liter akuades. Untuk mendapatkan ekstrak yang kering maka dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator*. Proses pemekatan ini dilakukan sampai diperoleh ekstrak lembek, kemudian dikeringkan dalam desikator. Ekstrak kering yang diperoleh kemudian digunakan untuk perlakuan (Hernawan, 2004)

### 3.5. Pembuatan Bekasam

Pembuatan bekasam mengikuti proses yang dilakukan di daerah Indramayu oleh pembuat dan penjual bekasam (Desniar, 2012), yaitu sebagai berikut: pertama-tama ikan disiangi dan dibersihkan, kemudian diberi garam sebanyak 25% dan dimasukkan ke dalam stoples kaca yang sebelumnya telah disterilkan. Setelah itu diperam selama 3 hari. Ikan yang telah

digarami dan diperam selama 3 hari kemudian ditiriskan dan diberi nasi (62,8%) dan garam (3,4%), lalu dimasukkan kembali ke dalam toples kaca dan ditutup rapat untuk difermentasi selama satu minggu dengan suhu yang menyesuaikan suhu pada organ pencernaan mencit yaitu di sekitar 36,5° C – 38° C menurut Malole dan Pramono (1989).

### 3.6. Perhitungan *Lactobacillus* sp. di Bekasam

Diambil sampel dari bekasam dan dilakukan pengenceran bertingkat ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ ). Masing- masing sampel bekasam diambil sebanyak 1 gram, diencerkan dengan 9 mL larutan NaCl 0.9% steril dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Lalu dibiakkan dalam cawan dengan media GYPA (*Glucose Yeast Peptone Agar*). Dari setiap pengenceran diambil 1 mL dan ditambah di atas media GYPA (*Glucose Yeast Peptone Agar*) dengan metode *spread*. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C (suhu ruang) selama 48 jam. Jumlah bakteri yang muncul dihitung dengan menggunakan alat *colony counter* yang kemudian dicatat dan dikalikan dengan besaran pengenceran yang telah dilakukan. Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan CFU/mL (*colony-forming unit/mL*). Perhitungan TPC dilihat pada pengenceran terkecil dengan jumlah koloni paling sedikit dapat dihitung dengan rumus (Safrida, 2021).

$$N = \frac{\sum C}{(1 \times n1) + (0,1 \times n2) \times d}$$

Keterangan :

N	= Jumlah koloni sampel (CFU/ml)
$\sum C$	= Jumlah koloni yang dihitung pada seluruh cawan
n1	= Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
n2	= Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
d	= Pengenceran pertama yang dihitung

### 3.7. Perhitungan *Lactobacillus* sp. di Pakan Normal Mencit

Diambil sampel dari pakan standar BRAVO-512 dan dilakukan pengenceran bertingkat ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ ). Masing- masing pakan mencit mencit diambil sebanyak 1 gram, diencerkan dengan 9 mL larutan NaCl 0.9% steril dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Lalu dibiakkan dalam cawan dengan media GYPA (*Glucose Yeast Peptone Agar*). Dari setiap pengenceran diambil 1 mL dan ditambah di atas media GYPA (*Glucose Yeast Peptone Agar*) dengan metode *spread*. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (suhu ruang) selama 48 jam. Jumlah bakteri yang muncul dihitung dengan menggunakan alat *colony counter* yang kemudian dicatat dan dikalikan dengan besaran pengenceran yang telah dilakukan. Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan CFU/mL (*colony-forming unit/mL*). Perhitungan TPC dilihat pada pengenceran terkecil dengan jumlah koloni paling sedikit dapat dihitung dengan rumus (Safrida, 2021):

$$N = \frac{\sum C}{(1 \times n1) + (0,1 \times n2) \times d}$$

Keterangan :

N	= Jumlah koloni sampel (CFU/ml)
$\sum C$	= Jumlah koloni yang dihitung pada seluruh cawan
n1	= Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
n2	= Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
d	= Pengenceran pertama yang dihitung

### 3.8. Pembuatan Larutan Perlakuan

#### 3.8.1. Pembuatan Ekstrak Bungur

Pembuatan larutan ekstrak daun bungur dibuat larutan perlakuan dengan dosis yaitu 200 mg ekstrak bungur / kg BB mencit. Semua dilarutkan dengan menggunakan aquades sebanyak 200 mL. Konversi jumlah dosis sesuai berat badan mencit yaitu (Saputra, 2019):

$$\frac{200 \text{ gr}}{x} = \frac{1000 \text{ gr}}{30 \text{ gr (rata rata berat mencit)}}$$

$$1000x \text{ gr} = 200 \text{ gr} \times 30 \text{ gr}$$

$$x = \frac{200 \text{ gr} \times 30 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}}$$

$$x = \frac{6000 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}}$$

$$x = 6 \text{ gr} / 30 \text{ gr BB Mencit}$$

Dosis 6 gr/ 30 gr BB Mencit diberikan selama 35 hari perlakuan atau sekitar 0.5 gr perhari Jumlah keseluruhan ekstrak tumbuhan bungur yang digunakan selama penelitian yaitu:

$$P1 = 0,5 \text{ gr} \times 4 \text{ (mencit)} = 2 \text{ g}$$

$$P3 = 0,5 \text{ gr} \times 4 \text{ (mencit)} = 2 \text{ g}$$

Pemberian ekstrak per-oral mencit = berat mencit x persen pemberian

$$= 30 \text{ gram} \times 1 \%$$

$$= 30 \text{ gram} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ gram}}$$

$$= 0,3 \text{ ml}$$

$$= 0,3 \text{ ml} \times 24 \text{ (mencit)} \times 35 \text{ hari}$$

perlakuan

$$= 252 \text{ ml (pelarut aquades)}$$

Dosis P1 = 2 gram + 100,8 ml aquades

Dosis P3 = 2 gram + 100,8 ml aquades

### 3.8.2. Pembuatan Larutan Glibenclamid

Perlakuan Glibenclamid dibuat dengan cara menimbang Glibenclamid yang dibutuhkan untuk perlakuan digerus hingga halus dilarutkan dengan NaCMC 1% sebanyak 1 mL. Larutan Glibenclamid yang dihasilkan dimasukkan ke dalam labu ukur yang berukuran 50 ml, kemudian ditambahkan NaCMC 1% sampai 50 mL, diaduk dan dikocok hingga mendapatkan larutan Glibenclamid yang homogen.

### **3.9. Perlakuan Hewan Percobaan**

#### **3.9.1. Aklimatisasi Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yaitu mencit berumur 8-12 minggu dengan berat badan 25-35 gram. Terlebih dahulu diadaptasikan selama tujuh hari di dalam kandang plastik dengan penutup kawat dan dilapisi sekam yang diganti 3 hari sekali. Hal ini bertujuan agar mencit terbiasa dengan kondisi kandang barunya. Selama perlakuan, mencit diberikan ransum berupa pakan standar BRAVO-512.

#### **3.9.2. Perlakuan Aloksan**

Setelah mencit selama 7 hari diadaptasikan di dalam kandang, kemudian diinduksi dengan aloksan sebesar 120 mg aloksan/ kg BB mencit agar mengalami hiperglikemia. Sebelum pemberian aloksan, mencit dipuaskan selama 16 jam dengan hanya diberi minum air biasa. Sebelum diberikan aloksan dilarutkan dengan menggunakan aquades sebanyak 1 mL. Larutan aloksan diberikan secara intraperitoneal. Pemberian aloksan akan mulai terlihat setelah 48 jam sejak diberikan. Efek aloksan dapat dilihat dengan cara diukur kadar glukosa darahnya, lalu mencit diberikan makan dan minum yang mengandung glukosa 10% selama 3 hari. Setelah itu kadar glukosa darah mencit diukur dengan menggunakan alat *Gluko DrTM Blood glucose Test Meter* dengan ketentuan kadar glukosa darah pada mencit diatas 176 mg/dl (Noena, 2020). Kondisi hiperglikemia pada mencit terus dipantau dan dipertahankan hingga 7 hari setelah pemberian aloksan pada kisaran kadar glukosa darah 200 mg/dl - 300 mg/dl. Hal ini bertujuan agar kondisi hiperglikemia pada mencit dapat mengakibatkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) pemicu stress oksidatif sehingga bisa memicu kerusakan pada testis.

### 3.9.3. Perlakuan Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) L.

Perlakuan Ekstrak Daun Bungur (Tabel 1.) dilakukan sehari setelah 7 hari mencit dibiarkan dalam keadaan hiperglikemia. Ekstrak daun bungur yang kental diencerkan dengan aquades sebanyak 100,8 mL diberikan secara oral dengan menggunakan alat suntik dengan jarum khusus untuk induksi oral selama 35 hari. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit yang memiliki berat 25 - 35 gram, menurut YoriJuly (2012), adapun rumus perhitungan volume penggunaan aquabides yaitu:

$$\begin{aligned}\text{Volume Pemberian} &= \text{Berat} \times \text{Persen Pemberian} \\ &= 30 \text{ gram} \times 1\% \\ &= 30 \text{ gram} \times (1 \text{ ml} / 100 \text{ gram}) \\ &= 0,3 \text{ ml}\end{aligned}$$

### 3.9.4. Perlakuan Probiotik Bekasam

Perlakuan probiotik dilakukan dengan cara pakan normal mencit diganti dengan bekasam sebanyak 25 gr/Kg bb atau setara dengan jumlah sel sebesar  $\pm 1,88 \times 10^{10}$  CFU/hari (Stancu, 2008). Setiap hari, pakan mencit diganti dengan yang baru. Dihitung selisih antara jumlah awal bekasam yang diberikan pada mencit dengan jumlah setelah diberikan kepada mencit selama sehari.

### 3.9.5. Perlakuan Kombinasi

Perlakuan Kombinasi dilakukan dengan metode yang sama seperti pemberian ekstrak daun bungur dan pemberian bekasam terhadap mencit dengan perbedaan yaitu terdapat interval dalam waktu pemberian didahului dengan pemberian ekstrak kemudian pemberian probiotik bekasam selama 12 jam. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan kerja dari kedua komponen.

### 3.9.6. Perlakuan Glibenclamid

Perlakuan glibenclamid diberikan sebagai pembanding efek penurunan kadar glukosa darah mencit oleh ekstrak daun bungur. Pemberian glibenclamid dilakukan sehari setelah 7 hari perlakuan aloksan. Suspensi glibenclamid diberikan peroral dengan jarum kanul/sonde sebanyak 0.5 ml selama 35 hari.

### 3.10. Pembuatan Preparat Organ Testis Mencit

Selanjutnya sampel dieutisasi (dimatikan) untuk dibuat preparat histopatologi testis. Organ testis yang telah dipisahkan, kemudian difiksasi pada larutan buffer formalin 10% selama 3 hari, lalu dilakukan dehidrasi. Mula-mula pada alkohol 50% selama ½ jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama ½ jam, kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 95% dan dimasukkan ke dalam alkohol absolut 100%. Kemudian proses clearing dimasukkan ke dalam xylol dan alkohol dengan perbandingan 3:1 selama ½ jam, xylol dan alkohol dengan perbandingan 1:1 selama ½ jam dan kembali dimasukan ke dalam xylol dan alkohol dengan perbandingan 1:1 selama ½ jam. Kemudian impregnasi embedding dengan dimasukkan ke dalam parafin : Xylol dengan perbandingan 1:9 selama 24 jam dan parafin kedua kembali selama 24 jam. Kemudian dibuat blok parafin dan disimpan dalam almari es. Selanjutnya blok parafin dipotong dengan mikrotom setebal 8 µm -10 µm dan dilakukan pewarnaan (*staining*).

Pewarnaan sediaan testis dengan Hematoxylin-Eosin (HE), dengan cara pertama deparafinisasi dengan xylol, hidrasi dengan serial alkohol 100% (2-5 menit), 95% (2-5 menit), 70% (2-5 menit), dan 50% (2-5 menit) kemudian diwarnai dengan hematoxylin selama 3-5 menit, lalu cuci dengan air keran beberapa menit sampai air bersih, lalu diwarnai dengan eosin biarkan selama 3 menit, lalu cuci 2 kali dengan alkohol 75%, kemudian dilakukan dehidrasi dengan alkohol 95%, bersihkan dengan xylene, selanjutnya dilakukan mounting menggunakan entelan. Pemeriksaan

histopatologi testis menggunakan mikroskop elektrik dengan pembesaran 100 kali (10 x 10) dan 400 kali (10 x 40). Pengukuran diameter tubulus seminiferus dengan cara mengukur diameter tubulus yang bulat atau dianggap bulat. Jumlah tubulus yang diukur adalah sebanyak 30 tubulus per sampel. Penghitungan sel-sel spermatogenik dilakukan dengan menghitung spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid. Foto histologi diambil menggunakan kamera digital Optilab.

### **3.11. Pengamatan Populasi Sel Spermatogonium, Spermatosit Primer, dan Spermatid**

Pengamatan sel-sel Sel Spermatogonium, Spermatosit Primer, dan Spermatosit Sekunder dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan menghitung jumlah sel-sel meliputi sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatid secara manual dari 5 tubulus seminiferus berbeda yang telah dipilih, kemudian hasil dari perhitungan sel-sel tersebut dirata-ratakan. Pengamatan dilakukan pada potongan melintang tubulus seminiferus yang diambil secara *random*. Hasil perhitungan sel-sel spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid dinyatakan dalam satuan jumlah sel per luas lapang pandang rata-rata tubulus seminiferus mencit (Violeta, 2016). Untuk menentukan satuan dalam menghitung jumlah sel spermatogenik, maka harus ditentukan luas lapang pandang dari tubulus seminiferus menggunakan rumus luas lingkaran (diassumsikan bahwa bentuk tubulus seminiferus seperti lingkaran). Dari data yang diperoleh, rata-rata panjang diameter dari tubulus seminiferus yaitu 150  $\mu\text{m}$  sehingga dengan total luas rata-rata dari tubulus seminiferus yaitu:

$$L = \pi r^2$$

$$L = 3,14 \times 75 \mu\text{m} \times 75 \mu\text{m}$$

$$L = 17.662 \mu\text{m}^2$$

Maka satuan untuk menyatakan jumlah sel-sel spermatogenik adalah jumlah sel/ luas lapang pandang rata-rata tubulus seminiferus mencit atau seluas  $17.662 \mu\text{m}^2$ .

### **3.12. Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus**

Pengukuran preparat diameter tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikrometer pada lensa okuler. Pengukuran diameter tubulus seminiferus menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Diameter tubulus seminiferus diukur dengan cara menghitung diameter tubulus seminiferus yang terpilih secara *random* dengan dua sisi yang berbeda dan di rata-ratakan. Hasil dari diameter tubulus seminiferus dinyatakan dalam satuan  $\mu\text{m}$ .

### **3.13. Pengamatan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus**

Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikrometer pada lensa okuler. Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Tebal epitel tubulus seminiferus diukur dengan cara menghitung tebal epitel tubulus seminiferus yang terpilih secara *random* pada bagian lapisan luar yaitu sel spermatogonia hingga bagian sel spermatid. Hasil dari tebal epitel tubulus seminiferus dinyatakan dalam satuan  $\mu\text{m}$ .

### **3.14. Perhitungan *Lactobacillus* sp. Dari Saluran Pencernaan Mencit**

Pertama-tama, diambil sampel dari saluran pencernaan mencit dan dilakukan pengenceran bertingkat ( $10^{-4}$ -,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ ). Masing-masing feses mencit diambil sebanyak 1 gram, diencerkan dengan 9 mL akuades steril dan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Lalu dibiakkan dengan metode *spread plate* dalam cawan dengan media GYPA (*Glucose Yeast Peptone Agar*). Dari setiap pengenceran diambil 1 mL dan ditambah dengan media GYPA (*Glucose Yeast Peptone Agar*) lalu dihomogenkan di

atas meja dengan membentuk angka 8. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 27°C (suhu ruang) selama 24 jam. Jumlah bakteri yang muncul dihitung dengan menggunakan alat *colony counter* yang kemudian dicatat dan dikalikan dengan besaran pengenceran yang telah dilakukan. Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan CFU/mL (*colony-forming unit/mL*). Perhitungan TPC dilihat pada pengenceran terkecil dengan jumlah koloni paling sedikit dapat dihitung dengan rumus (Safrida, 2021):

$$N = \frac{\sum C}{(1 \times n1) + (0,1 \times n2) \times d}$$

Keterangan :

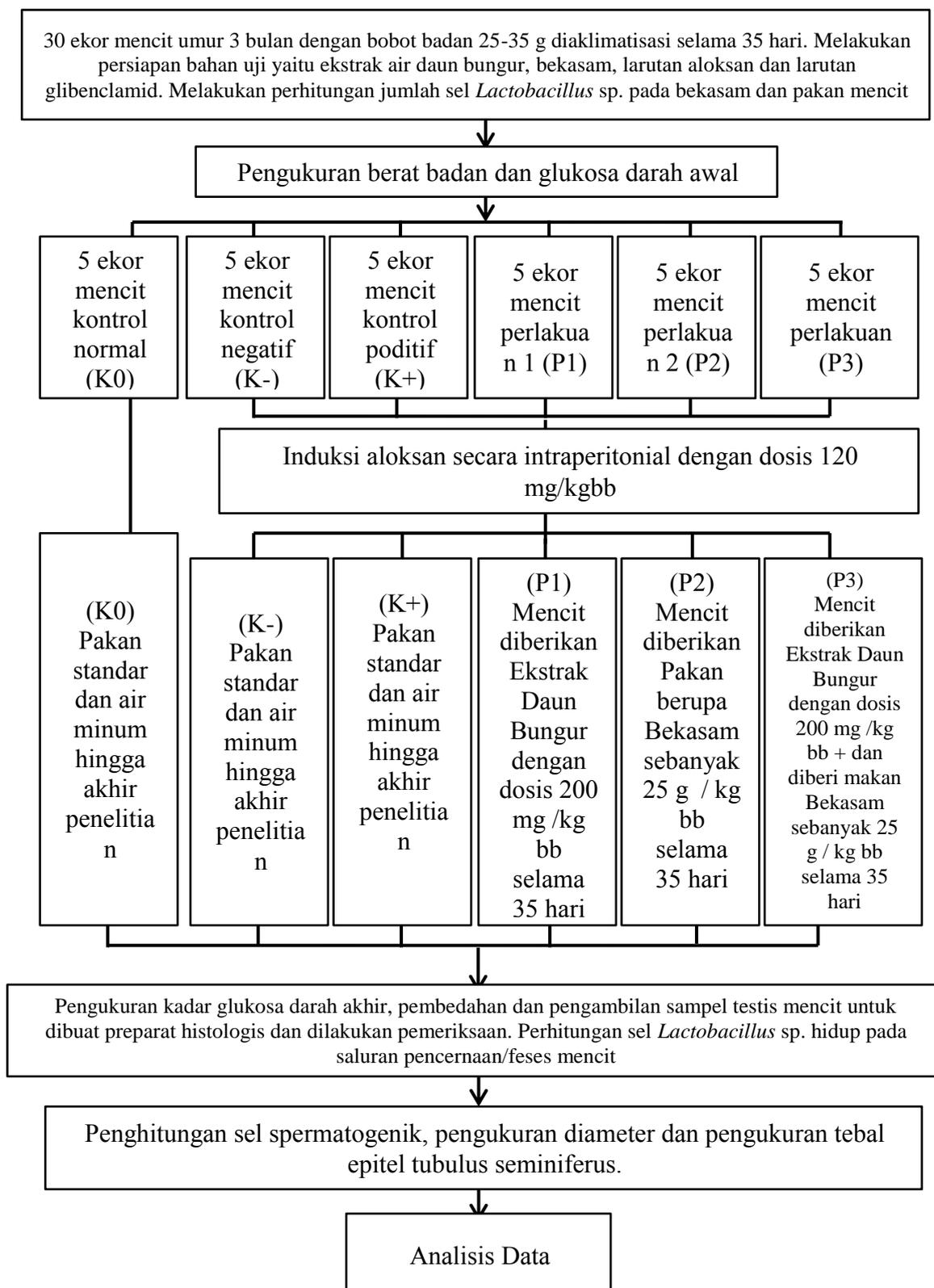
- N = Jumlah koloni sampel (CFU/ml)
- $\sum C$  = Jumlah koloni yang dihitung pada seluruh cawan
- n1 = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d = Pengenceran pertama yang dihitung

### 3.15. Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian dianalisis secara statistik berupa data hasil pengukuran dari variabel jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid kemudian tebal dan epitel tubulus seminiferus serta jumlah BAL pada feses mencit. Pertama, data yang diperoleh diuji normalitas dengan dengan uji Shapiro-Wilk, apabila data sudah normal maka selanjutnya data tersebut di uji homogenitas dengan uji Levene. Apabila data tersebut tidak normal, maka dilakukan transformasi data dengan transformasi logaritma. Kedua, setelah data homogen kemudian di uji ANOVA, disini akan terlihat bahwa perlakuan itu signifikan atau tidak. Jika signifikan antar perlakuan, di lanjutan dengan uji lanjut selang berganda Duncan untuk melihat perlakuan mana yang paling efektif (paling baik) dengan  $P < \alpha 0.05$ .

### 3.16. Diagram Alir

Adapun diagram penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:



## IV. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan antara lain:

1. Terdapat perbedaan jumlah populasi sel spermatogenik mencit (*Mus musculus*) yang lebih baik ditemukan pada pemberian ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dibandingkan pemberian probiotik asal bekasam.
2. Terdapat perbedaan ukuran diameter tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*) yang lebih baik ditemukan pada pemberian ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dibandingkan pemberian probiotik asal bekasam.
3. Terdapat perbedaan ukuran epitel tubulus seminiferus testis mencit (*Mus musculus*) yang lebih baik ditemukan pada pemberian ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dibandingkan pemberian probiotik asal bekasam.
4. Terdapat perbedaan jumlah sel *Lactobacillus* yang hidup pada saluran pencernaan mencit (*Mus musculus*) yang lebih baik ditemukan pada pemberian probiotik asal bekasam dibandingkan pemberian ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*).
5. Pemberian perlakuan kombinasi ekstrak air daun (*Lagerstroemia speciosa*) bungur dan probiotik dari bekasam memberikan hasil lebih baik daripada pemberian perlakuan ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa*) dan perlakuan pemberian probiotik bekasam.

## 5.2. Saran

Adapun saran dari penelitian ini antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kombinasi variasi dosis ekstrak air daun bungur dan berat bekasam dalam pengaruhnya terhadap infertilitas seksual organ kelamin mencit (*Mus musculus*) yang diakibatkan oleh hiperglikemia.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait beberapa kemungkinan ekstrak air daun bungur dapat dijadikan sebagai prebiotik.

## DAFTAR PUSTAKA

- ADA (American Diabetes Association). (2010). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 33, S62-9.
- Adam, J. M. F. (2000). *Klasifikasi dan Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus*. Cermin Dunia Kedokteran.
- Afriani, Arnim, Marlida, Y., & Yuherman. (2017). Potensi Antibakterial Bakteri Asam Laktat Proteolitik dari Bekasam Sebagai Biopreservatif Daging Sapi Antibacterial Potential of Proteolytic Lactic Acid Bacteria from Bekasam as Beef Biopreservatif PENDAHULUAN Daging adalah salah satu produk pangan yang m. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 19(3), 165–173. <http://jpi.faterna.unand.ac.id/index.php/jpi/article/view/285>
- Agoes, A. (1991). Pengobatan Tradisional di Indonesia. *Medika*.
- Akash, M. S. H., Rehman, K., & Chen, S. (2013). Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Cellular Biochemistry*, 114(3), 525–531. <https://doi.org/10.1002/jcb.24402>
- Alves, S. (2013). The impact of audit committee existence and external audit on earnings management. *Journal of Financial Reporting and Accounting*, 11(2), 143–165. <https://doi.org/10.1108/JFRA-04-2012-0018>
- Animesh, A., Pinsonneault, A., Yang, S.-B., & Oh, W. (2011). An Odyssey into Virtual Worlds: Exploring the Impacts of Technological and Spatial Environments. *MIS Quarterly*, 35, 789–810. 10.2307/23042809
- AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. In *Washington DC: AOAC Int.*

- Aritonang, S. N., Roza, E., & Rossi, E. (2019). The effect of whippy cream adding on the quality of frozen soyghurt as symbiotic ice cream. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 287(1), 0–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/287/1/012029>
- Aronson, D. (2008). Hyperglycemia and the Pathobiology Diabetic Complications. *Cardiol.*
- Asadi. 2012. Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan terhadap Umur dan Produktivitas pada Kedelai. *Jurnal AgroBiogen*. 9(3):135-142.
- Azizah, F. R., & A, R. (2019). Gambaran Histopatologi Pankreas Mencit Diabetes Mellitus Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Bonggol Buah Nanas (*Ananas comosusus*). *Jurnal Kesehatan Saelmakers Perdana*, 2(1), 54–46.
- Baumann, C. A., & Saltiel., A. R. (2001). Spatial compartmentalization of signal transduction in insulin action. *BioEssays*, 23, 215–222.
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (n.d.). Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*, 1–9.
- Cani, L. G., S, M., H, P., & T., D. (2014). Glucose metabolism: focus on gut microbiota, the endocannabinoid system and beyond. *Diabetes and Metabolism*, 1–12.
- Cheah, Y., & Yang, W. 2011. *What Are Necessary Nutrition Factors For The Process Of Spermatogenesis? 2.*
- Chen, P., Q., Zhang, H., Dang, X., Liu, F., Tian, J., Zhao, Y., Chen, H., Zhang, & Chan, W. (2014). Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Food Control*, 35, 65–72.
- Chow, J. (2002). Probiotics and prebiotics: a brief overview. *J Ren Nutr*, 12, 76–86.
- Collado, M. C., Isolauri, E., Salmien, S., & Sanz, Y. (2009). The Impact Probiotic on Gut Health. *Curr Drug Metab*, 10(1), 68–78.
- Cuyper, A., Plusquin, M., Remans, T., Jozefczak, M., Keunen, E., Gielen, H., et al., 2010, Cadmium Stress: An Oxidative Challenge.
- Dalimartha. (2003). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Puspa Swara.
- Dalimartha, S. (2004). *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*.
- Daniel, R.M., Stelian, S., Dragomir, C., 2010, The Effect of Acute Physical Exercise on The Antioxidant Status of The Skeletal and Cardiac Muscle in

the Wistar Rat, *Romanian Biotechnological Letters* 15(3):56-61.

Depkes Republik Indonesia. (2005). *Undang-Undang Republik Indonesia Nomor : 23 tahun 2005 Tentang Kesehatan*.

Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2013). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from an Indonesian Fermentation Fish (Bekasam) and Their Antimicrobial Activity against Pathogenic Bacteria. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(6).

Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2012). Senyawa Antimikroba yang dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika*, III(2), 135–145.

Edens, N. K., Reaves, L. A., Bergana, M. S., Reyzer, I. L., O'Mara, P., Baxter, J. H., & Snowden, M. K. (2001). Yeast extract stimulates glucose metabolism and inhibits lipolysis in rat adipocytes in vitro. *Journal of Nutrition*, 132, 1141–1148.

Eric, Y. (2017). *Perbandingan Preferensi Masyarakat Terhadap Obat Tradisional dan Obat Modern di Puskesmas Sei Agul Kelurahan Karang Berombak Medan Tahun 2017*.

Finegold, S. M., Martin, W. J., & Scott, E. G. (1982). *Bailey and Scott's Diagnostic microbiology* (6th ed.). Mou Chang.

Furrie, E., Senok, A. C., Frank, D. N., & Sullivan, K. E. (2006). *Probiotik Pondering. Klin. kekebalan*. 121, 19–22.

Gilliand, S. E., T.E., S., & J., B. (1989). Importance of bile tolerance of *Lachidophilus* used as dietary adjunct. *J. Dairy Science*, 67, 3045–3051.

Golalipour, M. J., Balajadeh, B. K., Ghafari, S., Azarhosh, R., & Khorri, V. (2011). Protective effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) on morphometric and morphologic alterations of seminiferous tubules in STZ diabetic rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 14(5), 472–477.

Gomes A., A., B. A., M., de S. R. G., & JF, M. (2014). Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutr J*, 13(60), 1–13.

Greenstein, B., & Wood, D. F. (2012). *The Endocrin System at a Glance* (2nd ed.). Erlangga.

Gross, G. G. (1992). *Enzymes in the biosynthesis of hydrolyzable tannins. Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, and Significance* (R. W. dan P. E. Hemingway & Laks (eds.)). Plenum Press.

Guo, Y.-R., Cao, Q.-D., Hong, Z.-S., Tan, Y.-Y., Chen, S.-D., Jin, H.-J., Tan, K.-

- S., Wang, D.-Y., & Yan, Y. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Medical Research*, 7(11), 1–10.  
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa396>
- Gustaviani, R. (2006). *Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus, Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Edisi Ketiga* (S. Suyono (ed.)). Balai Penerbit FKUI.
- Guthrie, D.W. and Guthrie, R. A. (2003). *The Diabetes Source Book*. Mc Graw Hill Company.
- Gülkesen, K.H., Erdoğan, T., Sargin, C.F., Karpuzoğlu, G., 2002, Expression of Extracellular Matrix Proteins and Vimentin in Testes of Azoospermic Man: an Immunohistochemical and Morphometric Study, *Asian Journal of Andrology* 4(1):55-60.
- Hammam, N. R. (2008). *Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Diabetes Melitus yang Diinduksi Aloksan*. Universitas Diponegoro Semarang.
- Harti, A. S. (2012). *Dasar-dasar Mikrobiologi Kesehatan*. Penerbit Nuha Medika.
- Hernawan, U. E., Sutarno, & Setyawan, A. D. (2004). Hypoglycaemic and hypolipidaemic activities of water extract of *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. leaves in diabetic rat. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 2(1), 15–23. <https://doi.org/10.13057/biofar/f020103>.
- Hayati, A., Yunaida, B., Pidada, R., Darmanto, W., dan Winarni, D. 2004. *Efek 2-Methoxyethanol Terhadap Struktur Histologi Mencit (Mus musculus)*. Berkala Penelitian Hayati. 10(1): 7-12.
- Hosoyama, H., Sugimoto, A., Suzuki, Y., Sakane, I., & Kakuda, T. (2003). Isolation and quantitative analysis of the  $\alpha$ -amylase inhibitor in *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. (Banaba). *Y. Yakugaku Zasshi*, 123(7), 599–605.
- Hou, W., Li, Y., Zhang, Q., Wei, X., Peng, A., Chen, L., & Wei, Y. (2008). Inhibition of cholinesterase and amyloid- $\beta$  aggregation by resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. *Phytotherapy Research*, 22(4), 544–549.  
<https://doi.org/10.1002/ptr>
- Huang, G. H., Zhan, Q., Li, J. L., Chen, C., Huang, D. D., Chen, W. S., & Sun, L. N. (2013). Chemical constituents from leaves of *Lagerstroemia speciosa* *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 109–112.  
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.08.029>
- Hwang, H., & Yun, J. (2010). Hypoglycemic effect of polysaccharides produced by submerged mycelial culture of *Laetiporus sulphureus* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotechnology and Bioprocess*

*Engineering.*, 15, 173–181.

- IDF. (2017). *International Diabetes Federation (IDF) Diabetes Atlas Eighth edition : International Diabetes Federation.*
- Integrated Taxonomic Information System. (2017). *Mus musculus*[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=180366#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180366#null)
- Isolauri, E., & Salminen, S. (2008). Probiotics : Use in Allergic Disorders: A Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology, and Intestinal Microbiota. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42(2), 91–96.
- Judy, Hari, W. W., S., JS, J., YMA, N., & R, P. (2003). Antidiabetic activity of a standardized extract (Glucosol™) from *Lagerstroemia speciosa* leaves in Type II diabetics. A dose-dependence study. *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 115–117.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2005). *Histologi Dasar* (F. Dany (ed.); 10th ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kakuda, T., I., Sakane, T., Takihara, Y., Ozaki, H., Takeuchi, & Kuroyanagi, M. (1996). Hypoglycemic effect of extracts from *Lagerstroemia speciosa* L. leaves in genetically diabetic KK-Ay mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60(2), 204–208.
- Karlsson, V, T., J, N., & F., B. (2013). *Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases.* 63, 3341–3349.
- Katzung, B. G. (2002). *Farmakologi Dasar dan Klini* (II). Salemba Medika.
- Khaki, A., Nouri, M., Fathiazad, F., Ahmadi, A.H.R., Rastgar, H., Rezazadeh, S.H., 2009, Effects of Quercetin on Spermatogenesis in Streptozotocin Induced Diabetic Rat, *Journal of Medical Plant* 8(5):57-64.
- Kianifard, R. J, S., & S., H. (2012). The ultrastructural changes of the Sertoli and Leydig cells following streptozotocin induced diabetes. *Iran J Basic Med Sci*, 15(1), 623–635.
- Kierszenbaum, L., A., Tres, & L., L. (2012). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology* (3rd ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Kim, J.-S., Kwon, C. S., & Son, K. H. (2000). Inhibition of Alpha-glucosidase and Amylase by Luteolin, a Flavonoid. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. Biosci, Biotechnol, Biochem*, 64(11), 2458–2461. <https://doi.org/10.1176/ajp.109.12.922>
- Klein, G., Kim, J., Himmeldirk, K., Cao, Y., & Chen, X. (2007). Antidiabetes and

anti-obesity activity of *Lagerstroemia speciosa*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 4(4), 401–407.  
<https://doi.org/10.1093/ecam/nem013>

- Latifatunabilah, 2018. *Efektivitas bekatul sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat Lactobacillus casei dan Lactobacillus acidophilus*. Diploma thesis, UIN Sunan Gunung Djati Bandung.
- Lee, K. Y., & Salminen, S. (2010). *Handbook of Probiotics & Prebiotics* (2nd ed.). New Jersey: John Wiley and Sons.
- Liong, M.-T. (2008). Safety of probiotics: translocation and infection. *Nutr Rev*, 66, 192–202. [10.1111/j.1753-4887.2008.00024.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2008.00024.x).
- Liu, F., Kim, J., Li, Y., Liu, X., Li, J., & Chen, X. (2001). An extracts of *Lagerstroemia speciosa* has insulinlike glucose uptake-stimulatory and adipocyte differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells. *Journal of Nutrition*, 131, 2242-2247.
- Lonyai, A., Kodama, S., Burger, Davis, & Faustma. (2008). The Promise of Hox 11 + Stem Cell of The Spleen for Treating Autoimmune Disease. *Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School. Boston, MA. USA*.
- Lotti, F., Corona, G., Castellini, G., Maseroli, E., Fino, M. G., Cozzolino, M., & Maggi, M. (2016). Semen quality impairment is associated with sexual dysfunction according to its severity. *Human Reproduction*, 31(12), 2668–2680. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew246>
- Lukacinova, A., Mojzis, J., Benacka, R., Keller, J., Maguth, T., Kurila, P., Vasko, L., et al., 2008, Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Melitus in Rats, *Acta Veterina* 77:175-182.
- Lye, H. S., Kuan, C. Y., Ewe, J. A., Fung, W. Y., & Liong., M. T. (2009). The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. *International Journal Of Molecular Sciences*, 10(9), 3755–3775.
- Martini, Molina, Ruiz, & Cuneo, F. de. (2012). Obesity and male fertility. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*, 69, 102 – 110.
- McKay, R. D., van der Kooy, D., Zwaka, T. P., & Lin, H. (2009). *NIH Stem Cell*. 5(5), 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.10.012>
- McKee, T., & McKee., J. R. (1999). *Biochemistry: An Introduction* (2nd ed.). USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.

- McWhorter, L. S. (2002). Alloxan diabetes: a discovery, albeit a minor one. *Journal of Review Coll and Physicians Edinburgh*, 32, 134–142.
- Medero. (2011). *Mouse Lecture and Wet Lab*.
- Misnadiarly. (2006). *Diabetes Mellitus : Ulcer, Infeksi, Ganggren*. Penerbit Populer Obor.
- Monachese, M., Burton, J. P., & Reid, G. (2012). Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: A potential role for probiotics? *Applied and Environmental Microbiology*, 78(18), 6397–6404. <https://doi.org/10.1128/AEM.01665-12>
- Munaya, 2018. Efek Stres Puasa terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus *Rattus norvegicus*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 18(1): 1-7.
- Nugroho. 2009. *Pengaruh Minuman Beralkohol Terhadap Jumlah Lapisan Sel Spermatogenik Dan Berat Vesikula Seminalis Mencit*. 1-16.
- Nurkarimah, 2017. Effect of Propolis on Spermatogenic Cells Number and Diameter of Seminiferous Tubules in Male Mice (*Mus musculus*). *The Veterinary Medicine International Conference 2017*.
- Nurnaafi, A., & Setyaningsih, I. (2015). Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam Ikan Nila [ Probiotic Potential of Bekasam Lactic Acid Bacteria of Tilapia Fish ]. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, 26(1), 109–114. <https://doi.org/10.6066/jtip.2015.26.1.109>
- Peixoto, G.C.X., Silva, M.A., Castelo T.S., Silva A.M., Bazerra, J.A.B, Souza, A.L.P, et al. 2012. Individual Variation Related to Testicular Biometry and Semen Characteristics in Collared Peccaries (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758). *Animal Reproduction Science*. 134:191-196.
- Perkeni. (2006). *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*.
- Perkeni. (2015). *Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*.
- Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 127(Suppl 1), S1–S7. <https://doi.org/10.1055/a-1018-9078>
- Poutahidis, T., Lakritz, J.R., Levkovich, T., et al. (2014) Beneficial Bacteria Stimulate Host Immune Cells to Counteract Dietary and Genetic

- Predisposition to Mammary Cancer in Mice. *International Journal of Cancer*, 135, 529-540. <https://doi.org/10.1002/ijc.28702>
- Prameswari, O. M., & Widjanarko, S. B. (2014). Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 16–27.
- Purwaningsih, E. (2010). Pengaruh Pemberian Ekstrak Hibiscus rosa sinensis L terhadap Proses Spermatogenesis Mencit Jantan Strain AJ. *YARSI*, 9.
- Oyeyemi, M. O.; Oke, A. Olusola; Ajala, O. Oluwatoyin & Idehen, C. O. 2007. Differences in testicular parameters and morphological characteristics of spermatozoa as related to age of West African Dwarf bucks. *Tropical Journal Animals Science*, 5 (1): 99-107.
- Rizzo, D. (2010). *Fundamentals Of Anatomy & Physiology* (3rd ed.). Thomson Learning International Division.
- Roith, D. L., & Zick, Y. (2001). Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care*, 24(3), 588–596.
- Salen, G., & Batta., A. K. (2004). *Bile Formation. Encyclopedia of Gastro Enrerology*. Elsevier Inc.
- Sari, M. (2018). *Kemampuan Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Bekasam Dalam Menghambat Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, dan Salmonella sp.* Universitas Sumatera Utara.
- Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Bassole, I. H. N., & Traore, S. A. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria - A minireview. *African Journal of Biotechnology*, 5(9), 678–684. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i9.42771>
- Sinaga. 2016. Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus*. 9(2): 176-189.
- Soegondo. (2010). *Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Mellitus Terkini: Dalam Penatalaksanaan Diabetes Terpadu*. Balai Penerbit FK UI.
- Soeharsono. (2010). *Probiotik Basis Ilmiah*. Widya Padjajaran.
- Somoyani, N. Ketut. 2011. *Pemberian Astaxanthin Oral Mencegah Gangguan Spermatogenesis Mencit (Mus musculus) yang Diinduksi Pelatihan Fisik Berlebih*. Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana. Denpasar. Tesis.
- Standaert, M. L., Avignon, A., K.Yamada, Bandyopadhyay, G., & Farese., R. V. (1996). The phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, wortmannin, inhibits

insulin induced activation of phosphatidylcholine hydrolysis and associated protein kinase C translocation in rat adipocytes. *Biochemical Journal*, 313, 1039–1046.

- Suherman, L. P., Dewi, P. S., & Salsabila, R. (2015). EFEK HIPOGLIKEMIK EKSTRAK AIR DAUN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) PADA MENCIT SWISS WEBSTER JANTAN DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA. *KARTIKA-JURNAL ILMIAH FARMASI*, 3(1), 49–53.
- Sujaya, I. N., Minamida, K., Sone, T., Yokota, A., Asano, A., & Tomita, F. (2008). Effects of Long Term Ingestion of DFAIII on Human Intestinal Microbiota. *Ann. Meeting of Japan Society for Lactic Acid Bacteria*.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik susu fermentasi dan kesehatan*. Tri Cipta Karya.
- Sutrisna, R., Ekowati, N., & Rahmawati, D. (2013). Uji daya hambat isolat bakteri asam laktat usus itik (*Anas domestica*) pada bakteri gram positif dan pola pertumbuhan isolat bakteri usus itik pada media Mrs Broth inhibi. *J. Penelitian Pertanian Terapan*, 13(1), 52–59.
- Sya'baniar, Erina, & A, S. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam laktat (BAL) Genus *Lactobacillus* Dari Feses Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) di Kebun Binatang Kasang Kulim Bangkinang Riau. *JIMVET*, 1(3), 351–359.
- Syafiqoh, N. (2016). *Aktivitas Antioksidan dan Efek Antidiabetes Probiotik Lactobacillus plantarum SK(5) Asal Bekasam*. Institut Pertanian Bogor.
- Szaleczky, E., Perchl, Y., Feher, J., & Somogyi, A. (1999). Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus—a rational approach. *Postgrad Med J*, 75, 13–17.
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Aloxan and Streptozotocin Action in  $\beta$  Cells of The Rat Pancreas. *Journal Physiol. Res*, 15(1), 6.
- Tanasupawat, S., Okada, S., & Komagata, K. (1998). Lactic acid bacteria found in fermented fish in Thailand. *Journal of General and Applied Microbiology*, 44(3), 193–200. <https://doi.org/10.2323/jgam.44.193>
- Taylor, L. (2003). *Herbal Secrets of the Rainforest* (2nd ed.). Sage Press, Inc.
- Thongsom, M., Chunudom, L., Karim, N., & Tangpong, J. (2019). Amelioration of oxidative stress and pathological alterations in alloxan-induced diabetes mice. *Chiang Mai Journal of Science*, 46(6), 1096–1106.
- Tilg, & Moschen. (2014). *Microbiota and diabetes: an evolving relationship*. *Gut*. 1–9.
- Tjokroprawiro, A. (2000). *Diabetes Mellitus: Klasifikasi, Diagnosis, dan Terapi* (3rd ed.). PT. Gramedia Pustaka Utama.

- Torii, S., Torii, A., Itoh, K., Urisu, A., Terada, A., Fujisawa, T., Yamada, K., Suzuki, H., Ishida, Y., Nakamura, F., Kanzato, H., Sawada, D., Nonaka, A., Hatanaka, M., & Fujiwara, S. (2010). Effects of Oral Administration of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on the Symptoms and Serum Markers of Atopic Dermatitis in Children. *Int. Arch. Allergy Immunol*, 154(3), 236–245.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2009). *Principles of Anatomy & Physiology*. John Wiley & Sons. Inc.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2014). 'Principles of Anatomy and Physiology', in *Principles of Anatomy and Physiology* (14th ed.). United States of America: John Wiley & Sons. [https://doi.org/doi:10.1016/S0031-9406\(05\)60992-3](https://doi.org/doi:10.1016/S0031-9406(05)60992-3).
- Trueblood, N., & Ramasamy., R. (1998). Aldose reductase inhibition improves altered glucose metabolism of isolated diabetic rat hearts. *American Physiological Society*, 175–183.
- Veljovic, K., Terzic-Vidojevic, A., Vukasinovic, M., Strahinic, I., Begovic, J., Lozo, J., Ostojic, M., & Topisirovic, L. (2007). Preliminary characterization of lactic acid bacteria isolated from Zlatar cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), 2142–2152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03450.x>
- Ventimiglia, E., Capogrosso, P., Boeri, L., Serino, A., Colicchia, M., Ippolito, S., Scano, R., Papaleo, E., Damiano, R., Montorsi, F., & Salonia, A. (2015). Infertility as a proxy of general male health: Results of a cross-sectional survey. *Fertility and Sterility*, 104(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.04.020>
- Wang, H, L., J, C., Y, L., & S., G. (2015). Multiple factors related to the secretion of glucagon-like peptide-1. *Int J Endocrinol*, 1–11.
- WHO. (2013). *A global brief on Hypertension: silent killer, global public health crises*.
- WHO. (2016). *Global Report On Diabetes*. (World Heal).
- Widhyari. 2015. Tinjauan Penambahan Mineral Zn dalam Pakan Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Sapi Frisian holstein Jantan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 20 (1): 72-77.
- Wikandari, P., Suparmo, S., Marsono, Y., & Rahayu, E. (2012). Potensi Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Bekasam Sebagai Penghasil Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Pada Fermentasi “Bekasam-Like” Product. *Agritech: Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM*, 32(3), 258–264.
- Yehya, N. (2019). Lessons learned in acute respiratory distress syndrome from the

animal laboratory. *Ann Transl Med.*, 7(19), 503–512.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.21037/atm.2019.09.33>

Yorijuly. (2012). *Perhitungan Dosis Untuk Hewan Percobaan*.  
<http://yorijuly14.Wordpress.com/2018/10/01/Perhitungan-dosis-untuk-hewan-percobaan>.

Zhang, X. H., Lowe, D., Giles, P., Fell, S., Connock, M. J., & Maslin, D. J. (2001). Gender may affect the action of garlic oil on plasma cholesterol and glucose levels of normal subjects. *Journal of Nutrition*, 131, 1471–1478.