

**PENGARUH EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*)
TERHADAP SEL – SEL SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus
musculus* L.) YANG MENGALAMI HIPERGLIKEMIK AKIBAT
DIINDUKSI ALOKSAN**

(Skripsi)

Oleh

Nurinda Sari

2057021010



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) TERHADAP SEL – SEL SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus musculus L.*) YANG MENGALAMI HIPERGLIKEMIK AKIBAT DI INDUKSI ALOKSAN

Oleh

Nurinda Sari

Hiperglikemia merupakan salah satu penyebab utama yang diketahui dapat mengganggu fungsi ejakulasi dan memengaruhi proses spermatogenesis pada pria. Ketika spermatogenesis terganggu, dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik di dalam tubulus seminiferus. Aloksan merupakan senyawa kimia yang dapat menginduksi hiperglikemia pada mencit. Peningkatan radikal bebas akibat hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan pada tubulus seminiferus. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dampak dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam memperbaiki kerusakan pada tubulus seminiferus yang disebabkan oleh peningkatan radikal bebas pada mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi oleh aloksan. Penelitian ini menggunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari lima ulangan menggunakan mencit jantan. Kelompok K0 bertindak sebagai kontrol tanpa perlakuan (menerima minum dan pakan standar), kelompok P1 (diinduksi dengan aloksan 150 mg/kg berat badan dan menerima ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dosis 25 mg/20 g berat badan), P2 (diinduksi dengan aloksan 150 mg/kg berat badan dan menerima ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dosis 50 mg/20 g berat badan), dan P3 (diinduksi dengan aloksan 150 mg/kg berat badan dan menerima ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dosis 75 mg/20 g berat badan). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis statistik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada tingkat signifikansi 5%. Penelitian ini didapatkan hasil bahwa ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dapat mempengaruhi jumlah rata-rata sel spermatogonia, sel spermatid dan ketebalan epitel tubulus seminiferus pada mencit akan tetapi tidak berpengaruh pada jumlah rata-rata sel spermatosit primer dan ukuran diameter tubulus seminiferus mencit yang mengalami hiperglikemik.

Kata Kunci : Hiperglikemia, *Anredera cordifolia*, Tubulus Seminiferus

ABSTRACT

THE EFFECT OF BINAHONG LEAF EXTRACT (*Anredera cordifolia*) ON SPERMATOGENIC CELLS IN MALE MICE (*Mus musculus L.*) EXPERIENCING HYPERGLYCEMIA DUE TO ALOXAN INDUCTION

By

Nurinda Sari

Hyperglycemia is one of the main known causes that can disrupt ejaculatory function and affect the spermatogenesis process in men. When spermatogenesis is disturbed, it can lead to a decrease in the number of spermatogenic cells in the seminiferous tubules. Alloxan is a chemical compound that can induce hyperglycemia in mice. The increase in free radicals due to hyperglycemia can cause damage to the seminiferous tubules. This study aims to evaluate the impact of ethanol extract of binahong leaves (*Anredera cordifolia*) in repairing damage to the seminiferous tubules caused by an increase in free radicals in mice (*Mus musculus L.*) induced by alloxan. This study used a Completely Randomized Design (CRD) with four treatment groups, each group consisting of five replicates using male mice. Group K0 acted as a control without treatment (receiving standard drink and feed), group P1 (induced with alloxan 150 mg/kg body weight and receiving ethanol extract of binahong leaves (*Anredera cordifolia*) at a dose of 25 mg/20 g body weight), P2 (induced with alloxan 150 mg/kg body weight and receiving ethanol extract of binahong leaves (*Anredera cordifolia*) at a dose of 50 mg/20 g body weight), and P3 (induced with alloxan 150 mg/kg body weight and receiving ethanol extract of binahong leaves (*Anredera cordifolia*) at a dose of 75 mg/20 g body weight). The obtained data were analyzed using One Way ANOVA statistical analysis and followed by the Least Significant Difference (LSD) test at a 5% significance level. The results of this study indicated that the binahong leaf extract (*Anredera cordifolia*) can affect the average number of spermatogonia cells, spermatid cells, and the thickness of the seminiferous tubule epithelium in mice, but does not affect the average number of primary spermatocyte cells and the diameter size of the seminiferous tubules in hyperglycemic mice.

Keywords: *Hyperglycemia, Anredera cordifolia, Seminiferous Tubules*

**PENGARUH EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*)
TERHADAP SEL – SEL SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus
musculus L.*) YANG MENGALAMI HIPERGLIKEMIK AKIBAT DI
INDUKSI ALOKSAN**

Oleh

Nurinda Sari

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

2024

Judul Skripsi : **Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Sel-Sel Spermatogenik Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Yang Mengalami Hiperglikemik Akibat Di Induksi Aloksan**

Nama Mahasiswa : **Nurinda Sari**

Npm : **2057021010**

Program Studi : **Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



MENYETUJUI ,
I. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed
NIP. 195704241987031001

Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc
NIP. 196603051991032001

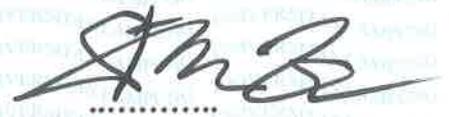
II. Ketua Jurusan

Dr. Jami Master, S.Si., M.Si.
NIP.1983013008121001

MENGESAHKAN

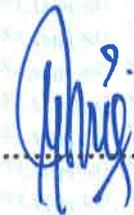
1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed



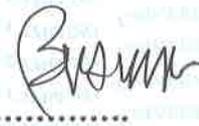
.....

Sekretaris : Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.



.....

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



.....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP/197110012002011002

Tanggal lulus ujian skripsi : 11 Juli 2024

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Nurinda Sari

NPM : 2057021010

Dengan ini menyampaikan 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 dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini , maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 11 Juli 2024

Pembuat pernyataan



Nurinda Sari
NPM. 2057021010

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pangkalpinang, pada tanggal 18 Februari 2002, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari bapak Latif dan ibu Lia. Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak - Kanak di TK Kemala Bhayangkari Pangkalpinang tahun 2007. Penulis melanjutkan Sekolah Dasar di SD Negeri 5 Pangkalpinang pada tahun 2008. Penulis melanjutkan pendidikan ke Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 3 Pangkalpinang pada tahun 2014. Penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 4 Pangkalpinang pada tahun 2017.

Pada tahun 2020 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Selama menempuh pendidikan penulis juga aktif dalam berorganisasi dan kepanitiaan di kampus terutama di Himpunan Jurusan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila. Penulis menjadi anggota aktif di bidang Komunikasi Informasi dan Hubungan Masyarakat (KOMINHUM) Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) pada tahun 2020 hingga 2022 dan pernah diamanahkan menjadi Sekretaris dalam pelaksanaan Desa Binaan bersamaan dengan kerja lapangan dosen.

Pada tahun 2023, penulis melaksanakan kegiatan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Mikrobiologi BSPJI Bandar Lampung dengan judul **“Uji *Escherichia coli* dalam Tahu dengan Metode *Most Probable Number* (MPN) di Laboratorium Mikrobiologi BSPJI Bandar Lampung”** dan pada tanggal 26

Juli 2023 hingga 4 Agustus 2023, penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Negeri Ratu, Kecamatan Kota Agung, Kabupaten Tanggamus. Kemudian, penulis menyusun skripsi dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Sel-sel Spermatogenik Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Yang Mengalami Hiperglikemik Akibat Di induksi Aloksan”**.

PERSEMBAHAN



Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, ridho, dan Karunia-Nya yang tak henti henti. Saya persembahkan karya ini sebagai tanda bakti dan cinta kasih yang tulus kepada :

Orang tua yang telah merawat, membesarkan, mendidik, membimbing, menjaga , mendoakan, memberikan kasih sayang dan senantiasa mengusahakan apapun untuk anak perempuannya ini.

Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Biologi , Jurusan Biologi Universitas Lampung, yang memberikan ilmunya dengan ikhlas kepada saya hingga gelar sarjana ini dapat saya raih.

Teman – teman Program Studi Biologi Angkatan 2020, yang telah berjuang bersama sejak awal perkuliahan dan selalu memberikan semangat sampai saat ini.

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

“ Jika kamu berbuat baik (berarti) kamu berbuat baik untuk dirimu sendiri. Dan jika kamu berbuat jahat, maka (kerugian kejahatan) itu untuk dirimu sendiri”.

(QS. Al-Isra' : 7)

“Cukuplah Allah (menjadi penolong) bagi kami dan dia sebaik-baik pelindung”.

(QS. Ali 'Imran : 173)

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”.

(QS. Al-Insyirah : 6)

SANWACANA

Dengan mengucapkan puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT karena atas berkat rahmat dan kuasa-Nya yang telah memberikan kekuatan, kesabaran, dan ketabahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam senantiasa kita hanturkan kepada junjungan dan suri tauladan seluruh umat muslim, Nabi Muhammad SAW.

Skripsi dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Sel-sel Spermatogenik Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Yang Mengalami Hiperglikemik Akibat Di induksi Aloksan”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Selama penyusunan skripsi ini, penulis mendapatkan bantuan dari berbagai pihak yang selalu memberikan semangat dan dorongan. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed. selaku dosen pembimbing 1 yang selalu memberi masukan, saran, nasihat, serta membimbing selama perkuliahan maupun proses penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku dosen pembimbing 2 yang selalu sabar, memberikan waktu luang untuk membimbing penulis, serta memberikan arahan maupun nasihat selama masa perkuliahan dan penyusunan skripsi.
5. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed. selaku dosen pembahas yang selalu memberikan arahan, nasihat serta meluangkan waktu untuk membimbing penulis baik selama masa perkuliahan dan penyusunan skripsi.

6. Ibu Dr. Kusuma Handayani , S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi S1, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
7. Ibu Yulianty, Dra. M,Si. selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan arahan dan bimbingannya.
8. Kedua orang tua ku tercinta bapak Latif dan ibu Lia serta adik ku tersayang Afis Zuglil yang terus memberikan semangat, motivasi, nasihat, dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
9. Sahabat semasa perkuliahan ku “Anak Jastip”, Diana Novita, Andrabella Meidy A.N.I, Iqbal Saifuloh, Aditya Fahrezi yang selalu memberikan bantuan, dukungan, menasehati, dan menemani semasa perkuliahan.
10. Seluruh dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
11. Seluruh Laboran dan Karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
12. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Semoga Allah SWT memberikan keberkahan serta membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu penulis. Penulis menyadari masih banyak kekurangan, kesalahan, dan kekeliruan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis berharap kritik dan saran yang dapat membangun untuk meningkatkan kualitas dari karya ini. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat kedepannya.

Bandar Lampung, 2024

Penulis

Nurinda Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
ABSTRACK.....	ii
HALAMAN PERSETUJUA	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
RIWAYAT HIDUP.....	vi
PERSEMBAHAN.....	viii
MOTO HIDUP.....	ix
SANWACANA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
1.5 Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Hiperglikemia	6
2.3 Testis	7
2.4 Spermatogenesis	8
2.5 Tubulus Seminiferus.....	8
2.6 Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)	10
2.7 Aloksan.....	12
2.8 Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	14
III. METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat	16

3.2	Alat dan Bahan	16
3.3	Rancangan Penelitian	17
3.4	Prosedur penelitian	18
3.4.1	Pengambilan Sampel.....	18
3.4.2	Preparasi Sampel.....	19
3.4.3	Pembuatan Ekstrak Daun Binahong.....	19
3.4.4	Pembuatan Larutan Aloksan	19
3.4.5	Penginduksian Aloksan	20
3.4.6	Penginduksian Ekstrak Daun Binahong.....	20
3.4.7	Pengamatan Populasi Sel Spermatogenik	21
3.4.8	Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus	22
3.4.9	Pengamatan Tebal Epitel tubulus Seminiferus	23
3.5	Analisis Data	24
3.6	Diagram Alir.....	25
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1	Hasil Penelitian.....	26
4.1.1.	Pengamatan Histologi Tubulus Seminiferus Mencit Jantan (<i>Mus musculus L.</i>)	26
4.1.1.2	Jumlah Sel Spermatogonia.....	26
4.1.1.3	Jumlah Sel Spermatisit Primer.....	27
4.1.1.4	Jumlah Sel Spermaid.....	28
4.1.1.5	Diameter Tubulus Seminiferus.....	29
4.1.1.6	Ketebalan Epitel Tubulus Seminiferus.....	33
4.2	Pembahasan	35
4.2.1.	Jumlah sel-sel spermatogenik mencit jantan (<i>Mus musculus L.</i>) ...	35
4.2.1.1	Sel Spermatogonia.....	35
4.2.1.2	Sel Spermatisit Primer.....	37
4.2.1.3	Sel Spermatid.....	38
4.3.2.4	Diameter Tubulus Seminiferus.....	40
4.2.1.5	Ketebalan Epitel Tubulus Seminiferus.....	41
V.	PENUTUP	43
5.1.	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	45
	LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Rata-rata jumlah sel spermatogonia mencit jantan yang diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong	26
Tabel 2. Rata-rata jumlah sel spermatosit primer mencit jantan yang diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong	27
Tabel 3. Rata-rata jumlah sel spermatid mencit jantan yang diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong.....	28
Tabel 4. Diameter tubulus seminiferus mencit jantan yang diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong	29
Tabel 5. Ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit jantan yang diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tubulus Seminiferus	10
2. Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>).....	11
3. Struktur Kimia Aloksan.	13
4. Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	15
5. Potongan melintang Diameter tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok K0 (Tanpa Perlakuan).....	30
6. Potongan melintang Diameter tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok P1 dengan dosis 25 mg/gr BB.....	31
7. Potongan melintang Diameter tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok P2 dengan dosis 50 mg/gr BB.....	31
8. Potongan melintang Diamtertubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok P3 dengan dosis 75 mg/grBB.....	32
9. Potongan melintang Ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok K0 (Tanpa Perlakuan)..	33
10. Potongan melintang Ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok P1 dengan dosis 25 mg/grBB.....	34
11. Potongan melintang Ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok P1 dengan dosis 50 mg/grBB.....	34
12. Potongan melintang Ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit (<i>Mus musculus L.</i>) yang diinduksi aloksan pada kelompok P1 dengan dosis 50 mg/grBB.....	35

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperglikemia merupakan salah satu kondisi dimana kadar glukosa darah meningkat melebihi 200 mg/dl. Sel tidak dapat menggunakan insulin dengan baik dapat menyebabkan terjadinya hiperglikemia, mengakibatkan adanya glukosa yang menumpuk di dalam darah (Yuniastuti *et al.*, 2018). Hiperglikemia dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan kronis, termasuk penyakit kardiovaskular seperti iskemik miokard dan kardiomiopati, gangguan yang mengakibatkan kerusakan jaringan, kegagalan ginjal kronis, serta kerusakan mata seperti retinopati dan gangguan sistem saraf seperti neuropati. Hiperglikemia dapat menjadi faktor penyebab terjadinya infertilitas yang berkaitan dengan sulitnya mempunyai keturunan bagi banyak pasangan. Kondisi hiperglikemia, yang ditandai oleh peningkatan kadar glukosa dalam darah, dapat memiliki dampak yang serius pada sistem reproduksi pria. Hiperglikemia dapat mengakibatkan degadasi atau kerusakan pada epididimis, yang mempunyai bagian penting dalam sistem reproduksi pria. Hal ini dapat mengganggu migrasi normal sel sperma, sehingga berdampak negatif pada proses reproduksi. Selain itu, hiperglikemia juga dapat menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonium, yang merupakan sel-sel awal dalam proses pembentukan sperma (Kianifard, 2012).

Kadar gula darah tinggi (hiperglikemia) dapat menurunkan produksi insulin. Jika tidak terkontrol, hal ini dapat menimbulkan komplikasi di berbagai organ, termasuk testis (organ reproduksi pria) (Singh *et al.*,

2012). Hiperglikemia meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang memicu stres oksidatif pada jaringan dan membuatnya rentan terhadap radikal hidroksil. Peningkatan ROS ini merusak sel melalui peroksidasi lipid dan kerusakan oksidatif protein dan DNA (Arundani *et al.*, 2021).

Pengobatan hiperglikemia dapat dilakukan dengan beberapa mekanisme seperti menekan produksi glukosa hati (biguanida), merangsang sekresi insulin (sulfonilurea dan glinida), menunda pencernaan dan penyerapan karbohidrat usus untuk mempertahankan kadar glukosa postprandial (α -glukosidase dan amilase inhibitor). Berbagai upaya pencegahan dan pengobatan terus dilakukan karena sebagian besar obat antihiperglikemia oral memberikan efek samping yang tidak diinginkan seperti kembung, diare, dan kram perut, oleh karena itu perlu dilakukan salah satu pengobatan penyakit hiperglikemia dengan mencari sumber pengobatan dengan menggunakan bahan-bahan alami yang relatif aman, termasuk menggunakan tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat seperti daun binahong (Djamil *et al.*, 2017).

Berdasarkan beberapa penelitian, daun binahong (*Anredera cordifolia*) merupakan tanaman obat yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar gula darah. Untuk hal tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap daun binahong yang dapat dimanfaatkan sebagai antihiperglikemia. Binahong merupakan tanaman merambat yang berasal dari keluarga Basellaceae. Daun binahong biasanya dimanfaatkan masyarakat sebagai obat luka kulit dan luka pasca operasi, maag, hipertensi, peradangan, dan asam urat. Daun binahong mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain saponin, alkaloid, flavonoid, fenol, triterpenoid, dan sterol (Restykania *et al.*, 2019).

Pengembangan riset mengenai pemanfaatan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai obat antihiperglikemia perlu dilakukan agar dapat memberikan manfaat yang lebih banyak. Penelitian mengenai

ekstrak daun binahong sebagai obat hiperglikemia dan pengaruhnya terhadap sel-sel spermatogenik masih sangat sedikit, sehingga perlu dikembangkan untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun binahong terhadap sel-sel spermatogenik mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Menguji pengaruh ekstrak daun binahong (*Anredera cordofolia*) terhadap jumlah sel spermatogonia mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
2. Menguji pengaruh ekstrak daun binahong (*Anredera cordofolia*) terhadap jumlah sel spermatosit primer mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
3. Menguji pengaruh ekstrak daun binahong (*Anredera cordofolia*) terhadap jumlah sel spermatid mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
4. Mengukur diameter tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
5. Mengukur ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus L.*)

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai pengaruh ekstrak etanol daun binahong terhadap sel-sel spermatogenik mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan untuk meningkatkan fertilitas mencit jantan (*Mus musculus L.*).

1.4 Kerangka Pikir

Hiperglikemia adalah suatu kondisi yang disebabkan oleh kelainan dalam metabolisme pankreas, yang mengakibatkan produksi hormon insulin yang

berkurang serta respons tubuh terhadap insulin yang tidak efektif. Insulin, yang diproduksi oleh pankreas berperan penting dalam mengubah glukosa dari aliran darah menjadi sumber energi yang dapat digunakan oleh sel-sel tubuh. Ketika insulin berkurang atau sel tubuh kehilangan kemampuan untuk meresponnya, maka kadar glukosa dalam darah meningkat melebihi batas normal. Hiperglikemia, jika tidak diatasi dalam jangka waktu yang lama, dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ dalam tubuh. Glukosa dalam darah berasal dari karbohidrat dalam makanan dan disimpan sebagai glikogen di hati dan otot rangka. Penurunan hormon insulin mengakibatkan seluruh glukosa yang dikonsumsi tubuh tidak dapat diproses secara efisien, sehingga menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia). Dalam penelitian ini, untuk menciptakan kondisi hiperglikemik pada hewan uji, aloksan disuntikkan secara *intraperitoneal* (IP). Aloksan adalah senyawa yang umum digunakan untuk menciptakan kondisi hiperglikemik pada hewan percobaan. Aloksan mampu menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif, yang dapat menyebabkan terjadinya hiperglikemik pada hewan coba. Binahong mengandung berbagai senyawa aktif, seperti flavonoid, triterpenoid, steroid, alkaloid, fenol, dan saponin, yang memiliki sifat antibakteri, antiviral, antifungi, analgesik, dan antiinflamasi. Oleh karena itu, senyawa-senyawa metabolit sekunder ini dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan penghambat pertumbuhan bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi.

1.5 Hipotesis

1. Pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dapat meningkatkan jumlah sel spermatogonia mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
2. Pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah sel spermatosit primer mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.

3. Pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dapat meningkatkan jumlah sel spermatid mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
4. Pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) tidak memberikan pengaruh terhadap diameter tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.
5. Pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dapat meningkatkan ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.2 Hiperglikemia

Hiperglikemia adalah suatu kondisi medik berupa peningkatan kadar glukosa. Dalam darah melebihi batas normal (Perkeni, 2015).

Prehiperglikemia merupakan kondisi tingginya gula darah puasa (gula darah puasa 100-125mg/dL) atau gangguan toleransi glukosa (kadar gula darah 140-199mg/dL). Bila kadar gula darah mencapai >200 mg/dL maka pasien ini masuk dalam kelas DM (Rochmah, 2007). Menurut *American Diabetes Association* (ADA), kondisi hiperglikemia adalah kadar glukosa puasa yang lebih tinggi dari 200 mg/dL. Hiperglikemia berhubungan dengan metabolisme kadar glukosa dalam darah karena penyakit ini dapat mengenai semua organ tubuh dan menimbulkan berbagai macam komplikasi dan hingga kini belum tuntas penanganannya (Fatimah, 2015).

Hiperglikemia terjadi akibat kekurangan insulin (defisiensi) atau tubuh tidak peka terhadap insulin (resistensi). Insulin berperan penting dalam mengatur gula darah, sehingga kekurangan atau resistensi insulin menyebabkan gula darah meningkat, dimana kadar glukosa darah diasup tidak dapat dimanfaatkan secara efektif sehingga glukosa dalam darah terlalu tinggi. Ketika insulin menurun, hormon lain yang melawan insulin (seperti glukagon) menjadi lebih aktif. Hal ini menyebabkan gula darah dalam pembuluh darah meningkat. Hiperglikemia kronis dapat merusak berbagai organ tubuh dan menimbulkan komplikasi serius, seperti

penyakit jantung, kerusakan saraf, gagal ginjal, kebutaan, dan masalah reproduksi pria (Vignera et al., 2012).

Tanda dan gejala hiperglikemia menurut *American Diabetes Association* (2020) yaitu : poliuria, polidipsia, penurunan berat badan, terkadang dengan polifagia, penglihatan kabur, penurunan pertumbuhan dan kerentanan terhadap infeksi tertentu juga dapat menyertai hiperglikemia kronis.

2.3 Testis

Testis terletak di dalam kantong skrotum. Setiap testis dikelilingi oleh lapisan tebal jaringan ikat kolagen yang disebut tunika albuginea. Lapisan ini kemudian dilapisi oleh lamina viseralis tunika vaginalis, kecuali pada area di mana epididimis dan funikulus spermatikus terhubung. Tunika vaginalis adalah sebuah kantong peritoneal yang melingkupi testis dan berasal dari *processus vaginalis* yang ada dalam perkembangan embrional. Terdapat cairan dalam rongga tunika vaginalis yang berfungsi untuk memisahkan lamina viseralis dari lamina parietalis, sehingga memungkinkan testis untuk bergerak dengan bebas dalam rongga skrotum (Moore dan Dalley, 2006).

Di dalam testis terdapat struktur yang disebut tubulus seminiferus yang dikelilingi oleh jaringan interstitial. Tubulus seminiferus ini memiliki peran penting dalam proses spermatogenesis. Di dalam tubulus seminiferus, terdapat sel Sertoli yang memiliki fungsi utama dalam nutrisi dan mendukung perkembangan sel-sel spermatozoa (Eroschenko, 2015; Sherwood, 2012).

Testis terbagi menjadi dua kompartemen: tubulus seminiferus, yang berperan dalam produksi sperma, dan kompartemen interstitial, yang menghasilkan hormon testosteron. Sel germinal di tubulus seminiferus menyumbang sebagian besar volume testis, dan ukuran testis yang lebih kecil dapat menunjukkan masalah spermatogenesis. Testis dikelilingi oleh

kapsul fibrosa, tunika albuginea, dan septa fibrosa memisahkan parenkim testis menjadi lobulus. Suplai darah untuk testis berasal dari arteri testis (sperma interna) yang berasal dari aorta abdominalis serta arteri kremaster dan arteri deferential yang memberikan suplai darah kolateral (Matsumoto and Bremner, 2016).

2.4 Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah proses pembentukan sperma menjadi sperma dewasa dari germinal sel atau yang sering disebut sel induk.

Spermatogenesis dimulai dari proses proliferasi dan diferensiasi germinal sel dan diakhiri dengan terbentuknya formasi sperma dewasa.

Spermatogonia berkembang menjadi spermatozoid primer, kemudian perkembangan berlanjut menjadi spermatozoid sekunder. Pematangan spermatozoid sekunder terbentuklah spermatid, tahap akhir spermatogenesis adalah pematangan spermatid menjadi sel sperma (Jungwirth, 2015).

Proses spermatogenesis dimulai dengan berkumpulnya spermatogonia primitif di dekat membran epitel germinal untuk mempertahankan populasi sel germinatif. Spermatogonia ini awalnya memiliki 46 kromosom dan disebut sebagai spermatogonia tipe A. Selanjutnya, spermatogonia tipe A akan mengalami pembelahan menjadi sel spermatogonia tipe B. Sel-sel ini kemudian bergerak dan melakukan pembelahan untuk menghasilkan sel-sel spermatid yang akan berkembang menjadi sperma (spermatozoa) (Guyton dan Hall, 2013).

2.5 Tubulus Seminiferus

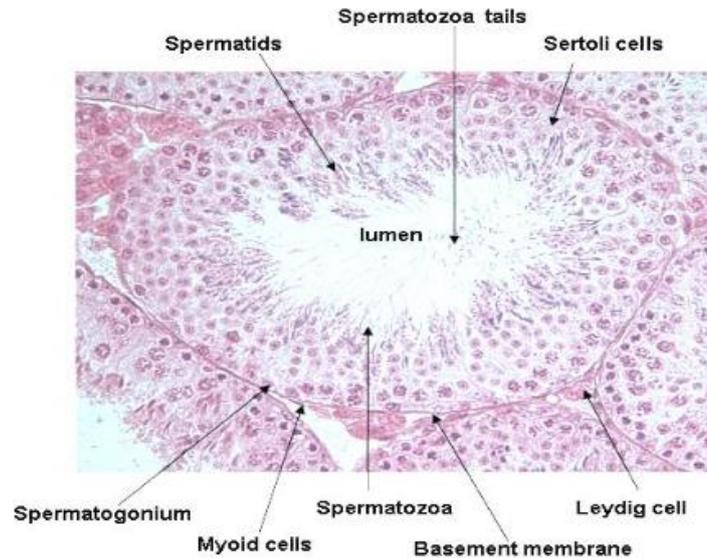
Tubulus seminiferus dilapisi oleh suatu lapisan epitel yang sangat khusus dan kompleks yang dikenal sebagai epitel germinal atau epitel seminiferus. Epitel ini terdiri dari 2 jenis sel utama, yaitu sel penyokong yang juga dikenal sebagai sel Sertoli, dan sel-sel yang berasal dari keturunan spermatogenik. Sel-sel yang berasal dari keturunan spermatogenik ini membentuk lapisan-lapisan berjumlah 4-8 yang tersusun secara berurutan.

Lapisan-lapisan ini memiliki peran penting dalam proses pembentukan sperma. Dengan kerjasama antara sel penyokong (sel Sertoli) dan sel-sel spermatogenik, tubulus seminiferus ini menjadi lingkungan yang mendukung dan memfasilitasi pembentukan sperma (Mescher, 2015).

Tubulus seminiferus merupakan struktur kunci yang berperan sebagai tempat utama pembentukan sperma dalam testis. Tubulus ini terdiri dari dua jenis sel utama, yaitu sel germinativum yang sebagian besar berada dalam tahap pembentukan sperma, serta sel Sertoli yang berfungsi sebagai penunjang dalam proses spermatogenesis (Sherwood, 2014).

Sebagian besar sel epitel dalam tubulus seminiferus adalah sel spermatogenik yang mengikuti tiga tahapan penting dalam proses pembentukan sperma. Tahap pertama adalah spermatositogenesis, yang melibatkan pembentukan spermatosit dari sel-sel spermatogenik. Tahap berikutnya adalah meiosis, di mana spermatid haploid terbentuk dari spermatosit primer yang bersifat diploid. Tahap terakhir adalah spermiogenesis, yang merupakan proses transformasi spermatid menjadi sperma dewasa atau spermatozoa (Gartner, 2007).

Pada histologi preparat tubulus seminiferus (Gambar 1) menunjukkan struktur tubulus seminiferus yang terdiri dari dua lapisan, yaitu lapisan dalam dan lapisan luar. Lapisan dalam terdiri dari sel spermatogenik dan sel Sertoli, sedangkan lapisan luar terdiri dari jaringan interstisial. Sel spermatogenik dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu spermatogonia, spermatocytes, dan spermatid. Spermatogonia adalah sel induk dari sperma. Spermatocytes adalah sel sperma yang sedang mengalami pembelahan meiosis. Spermatid adalah sel sperma yang belum matang (Eroschenko, 2015).



Gambar 1. Tubulus seminiferus (Singh, 2011).

2.6 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)

Klasifikasi binahong menurut Mus (2008) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Species	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis

Daun binahong (*Anredera cordifolia*) dapat dilihat pada gambar 2 memiliki bentuk bulat telur dengan ujung yang oval. Daun binahong memiliki tekstur yang liat dan permukaan yang halus. Permukaan daun binahong memiliki banyak urat daun yang berwarna hijau tua. Binahong adalah tanaman asli Cina yang juga dikenal sebagai Dhengshan chi. Binahong merupakan makanan pokok bagi orang Vietnam. Tanaman ini bersifat abadi dan merambat, dengan panjang hingga 5 meter. Batangnya lunak, berbentuk silindris, saling membelit, berwarna merah, dan bagian

dalamnya padat. Permukaan batangnya halus, terkadang membentuk umbi di ketiak daun yang bertekstur kasar. Daunnya tunggal, bertangkai pendek, berselang-seling, berwarna hijau, dan berbentuk jantung. Panjang daunnya antara 5-10 cm, lebarnya antara 3-7 cm, helaian daunnya tipis dan lemas, ujungnya runcing, pangkalnya berlekuk, tepinya rata, dan permukaannya halus (Kardinan, 2009).



Gambar 2. Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (BPOM, 2008).

Binahong termasuk tanaman herbal yang paling sering digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit di sejumlah negara asia, seperti Vietnam, Taiwan, Cina, Korea dan Indonesia. Kandungan dalam tanaman ini, terutama daunnya, sering digunakan sebagai obat herbal. Para ahli kesehatan di Indonesia membuktikan bahwa tanaman ini dapat mengobati hiperglikemia, TBC, rematik, asam urat, asma, tifoid, hipertensi, wasir, dan digunakan sebagai diuretic, pemulihan pasca persalinan, penyembuhan luka dan operasi pasca khitan, gastritis, kolitis, dan kanker (Lukiswanto, 2017).

Binahong mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antiviral, antifungi, analgesic, dan anti inflamasi. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada binahong yaitu flavonoid, triterpenoid, steroid, alkaloid, 4 fenol, dan saponin. Senyawa ini dapat dimanfaatkan sebagai anti inflamasi dan penghambat bakteri yang bersifat patogen dan menginfeksi. Senyawa-senyawa ini sangat jelas terkandung pada daun

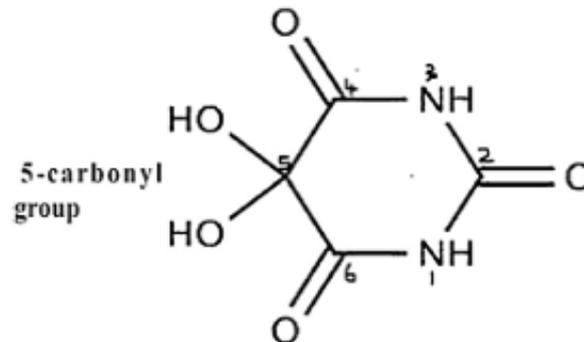
binahong dengan cara dibuktikan menggunakan uji golongan. Uji senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid dilakukan pada ekstrak dan ditetesi pereaksi dragendorff pada plat tetes sehingga terbentuk endapan coklat muda yang dikatakan positif mengandung alkaloid. (Hasri,2017).

Daun binahong (*Anredera cordifolia*) mengandung asam askorbat, oleanolic saponin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, protein, vitamin C, dan fitoestrogen. Daun binahong jenis tanaman yang hidup dengan cara merambat dengan batang yang ramping, melilit dan berwarna hijau (Sakti, et al., 2019).

2.7 Aloksan

Aloksan adalah larutan encer yang memiliki suatu substrat yang secara struktur adalah derivat dari pirimidin sederhana. Aloksan merupakan analog dari glukosa yang dapat terakumulasi di sel β pankreas melalui transporter glukosa (GLUT 2) dapat menyebabkan hiperglikemia. Nama aloksan berasal dari kata allantoinin dan oksalurea (asam oksalurik). Nama lain dari aloksan adalah 2,4,5,6 tetrahydropirimidin, 2,4,5,6-pirimidinetetron dengan rumus kimia adalah $C_4H_2N_2O_4$. Aloksan berasal dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan adalah senyawa yang tidak stabil dan bersifat hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37o C adalah 1,5 menit. Aloksan memiliki dua cincin pirimidin yang saling terhubung oleh gugus karbonil. Aloksan memiliki beberapa sifat kimia yang menarik seperti aloksan bersifat oksidator dan dapat mengoksidasi berbagai senyawa organik, aloksan bersifat reaktif dan dapat bereaksi

dengan berbagai senyawa kimia, aloksan bersifat hidrofilik dan mudah larut dalam air



Gambar 3. Struktur Kimia Aloksan (Ighodaro *et al.*, 2017).

Aloksan telah digunakan pada penelitian untuk menginduksi hipeerglikemia secara selektif dengan merusak sel beta pankreas yang memproduksi insulin. Aloksan memiliki bentuk molekul yang mirip dengan glukosa. Sehingga ketika aloksan diinduksikan ke tubuh tikus, maka glukosa transporter GLUT 2 pada sel β pankreas akan mengenali aloksan sebagai glukosa dan aloksan akan dibawa menuju ke sitosol (Lenzen, 2008). Aloksan yang diinduksikan berespon menyebabkan perubahan pada konsentrasi insulin plasma dengan diikuti perubahan struktural sel beta yang mengarah pada kematian sel.

Aloksan dapat menginduksi hiperglikemia dalam beberapa fase. Fase pertama terjadi beberapa menit setelah induksi aloksan maksimal hingga menit ke-30 yang menyebabkan kondisi hipoglikemia akut. Karena struktur aloksan yang mirip dengan glukosa menyebabkan meningkatnya konsentrasi insulin plasma dan peningkatan ATP yang dapat menghambat proses glukosinase. Fase kedua terjadi setelah 1 jam induksi aloksan dan akan berlangsung 2-4 jam yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa dan penurunan sekresi insulin plasma. Fase ketiga terjadi hipoglikemi 4-8 jam setelah induksi aloksan. Banyaknya insulin di sirkulasi terajadi akibat induksi aloksan mengakibatkan ruptur membrane

sel pada kondisi hipoglikemia. Perubahan tersebut bersifat irreversible dengan ditandai kematian sel pankreas. Fase keempat merupakan fase akhir terjadinya hiperglikemi permanen ditandai dengan degranulasi komplisit dan hilangnya integritas dari sel beta setelah 24-48 jam induksi aloksan (Rohilla *et al.*, 2012).

2.8 Mencit (*Mus musculus L.*)

Mencit (*Mus musculus L.*) merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan uji pada penelitian. Mencit tergabung satu famili dengan mencit liar. Mencit aktif pada malam hari. Saat mencit berumur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 g (Kusumawati, 2004). Mencit memiliki tubuh kecil dan ramping, dengan rambut yang lembut dan lebat. Kaki mencit pendek dan ekornya panjang, ditutupi bulu tipis. Mencit harus dipelihara di tempat yang tenang dan bersih, dengan suhu ruangan 18-19°C dan kelembaban udara antara 30-70%. Mencit jantan dewasa memiliki berat badan sekitar 18-35 g dan berumur 35-60 hari. Mencit dapat hidup selama 1-2 tahun, dengan masa reproduksi 1,5 tahun (Akbar, 2010). Klasifikasi mencit menurut Sialla (2016) :

Kingdom	: Animalia
Divisi	: Chordata
Classis	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus L.</i>



Gambar 4. Mencit (*Mus musculus L.*) (Priambodo, 2003).

Mencit seringkali menjadi pilihan utama sebagai hewan percobaan di laboratorium. Hal ini dikarenakan mencit memiliki sejumlah keunggulan, seperti siklus hidup yang relatif singkat, jumlah anak yang banyak setiap kelahiran, kemudahan dalam penanganan, serta karakteristik reproduksi yang serupa dengan hewan mamalia lainnya. Selain itu, struktur anatomi, fisiologi, dan genetika mencit juga mirip dengan manusia (Fianti, 2017; Herrman *et al.*, 2019).

Mencit termasuk dalam kelas mamalia karena memiliki ciri-ciri khas mamalia. Mereka memiliki tulang belakang, tubuh yang ditutupi oleh rambut, betina mencit melahirkan dan menyusui anaknya, jantung mereka terdiri dari empat ruang, memiliki daun telinga (pinna), tengkorak yang bersendi pada tulang atlas melalui dua *condyles occipitalis*, memiliki lima jari yang dilengkapi cakar, serta gigi seri pada rahang atas mereka hanya berjumlah satu pasang dan memiliki bentuk seperti pahat yang terus tumbuh (Nugoho, 2018).

Mencit memiliki beberapa sifat yang khas, termasuk penakut, fotofobik (takut terhadap cahaya), dan cenderung untuk bersembunyi. Mereka lebih aktif pada malam hari atau memiliki perilaku nokturnal. Umur mencit berkisar antara 1 hingga 3 tahun. Mencit dapat ditemukan di berbagai habitat, termasuk daerah beriklim dingin, sedang, maupun panas, dan mereka dapat hidup baik dalam keadaan bebas di alam atau dalam kandang. Mencit juga dikenal sangat adaptif terhadap perubahan lingkungan yang diinduksi oleh manusia, dan banyak di antara mereka yang dapat hidup liar di hutan (Phifer-Rixey and Nachman, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2024 di Laboratorium Zoologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Lampung. Untuk pembuatan ekstrak etanol daun binahong dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dan Laboratorium SMTI Bandar Lampung. Untuk pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang mencit sebanyak 25 beserta penutup untuk menampung dan melindungi mencit selama penelitian, rak kandang mencit sebagai tempat taruh kandang mencit, wadah pakan mencit, botol minum mencit, penyaring dan pompa *vacuum* untuk memisahkan zat padat dari zat cair atau gas, gelas ukur 500 ml untuk mengukur pelarut yang digunakan melarutkan aloksan, gelas beaker 25 ml untuk pelarutan aloksan, jarum suntik untuk penginduksian aloksan, jarum sonde untuk pengekokan ekstrak etanol daun binahong, gelas ukur, tabung reaksi, *rotary* evaporator, strip glucose, alat ukur gula darah, mikroskop binokuler, oven digunakan untuk penegeringan daun binahong, seperangkat alat bedah yang digunakan untuk

membedah mencit, tisu, kertas label sebagai penanda, sarung tangan, alumunium foil, jas laboratorium, masker, kamera sebagai alat dokumentasi, dan alat tulis untuk mencatat setiap hasil yang didapatkan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 20 ekor mencit (*Mus musculus* L.) jantan yang didapatkan dari Mouse Rabb House Jl. Cendana 2 Jatimulyo, Lampung Selatan dengan berat sekitar 20-40 g berumur 3-4 bulan, pelet, Aloksan, minum mencit, sekam padi, *aqua pro injection* yang digunakan untuk melarutkan aloksan, alkohol, kloroform, aquabides yang digunakan sebagai pelarut pada saat perlakuan, buffer formalin 10%, NaCl 0,9%, etanol 96%, alkohol absolut, xylol, parafin (titik didih 56 – 80oC), zat warna Hematoksin-Eosin (HE), canada balsam, dan daun binahong.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan karena unit eksperimental bersifat homogen. Perlakuan dilakukan secara acak dengan 4 perlakuan dan 5 kali ulangan. Kelompok kontrol tanpa perlakuan (K0) hanya diberi pakan standar dan minum, kelompok perlakuan pertama (P1) diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong dengan dosis 25 mg/20 g BB selama 35 hari, perlakuan kedua (P2) diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol daun binahong dengan dosis 50 mg/20 g BB selama 35 hari, perlakuan ketiga (P3) diinduksi aloksan dan ekstrak etanol daun binahong 75 mg/20 g BB (Robert & Brown, 2004).

Menurut rumus Frederer (Hartono *et al.*, 2017)., Jumlah perlakuan dan ulangan dibuat sebagai berikut :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

Keterangan :

n : jumlah sampel tiap kelompok

t : jumlah perlakuan

Pada penelitian ini digunakan 5 kelompok perlakuan maka jumlah sampel dalam setiap kelompok adalah:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) 4 \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/4$$

$$n = 5$$

Satuan percobaan : $5 \times 4 = 20$ mencit jantan yang homogen. Maka jumlah mencit yang digunakan adalah 20 ekor mencit

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Daun binahong diambil dari hasil tanaman sendiri, untuk memperoleh daun binahong yang homogen. Tempat penanaman di desa Masgar, kecamatan Tegineneng, kabupaten Pesawaran. Bibit daun binahong diperoleh dari kelurahan Kacang Pedang, Kecamatan Gerunggang, kota Pangkalpinang.

Hewan mencit didapatkan dari Mouse Rabb House Jl. Cendana 2 Jatimulyo, Lampung Selatan dengan kategori berat 20-40 g.

3.4.2 Preparasi Sampel

Daun binahong dibersihkan dari kotoran dan debu, dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada daun. Setelah dicuci kemudian ditiriskan dan dikeringanginkan selama ± 24 jam, kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 40°C selama 24 jam. Setelah daun dikeringkan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Daun yang dipetik memiliki warna dan tekstur yang hampir sama. Pemetikan daun dilakukan pada pukul 16.00 WIB dengan tujuan untuk mengurangi laju penguapan, sehingga diperoleh sifat fisik dan kimia yang optimal pada daun.

Kandang mencit disiapkan dengan menyiapkan rak besi sebagai tempat kandang mencit. Menyiapkan kandang dari kotak plastik dengan tutup terbuat dari kawat dan di dalamnya diberi sekam. Menyiapkan tempat minum mencit. Mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu. Setiap hari diberikan makanan berupa pellet dan minum air putih. Setelah itu mencit dipuasakan selama 16-18 jam kemudian dilakukan pemeriksaan kadar gula darah awal (Hariyanti *et al.*, 2017).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong

Serbuk daun binahong dimaserasi dengan etanol 96% selama 3×24 jam hingga diperoleh maserat. Selanjutnya, dilakukan penyaringan maserat hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* di suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak, kemudian ditaruh ke dalam wadah (Dewi, 2019).

3.4.4 Pembuatan Larutan Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan sebanyak 150 mg/kg BB . Aloksan sebanyak 6 mg dilarutkan dalam Aquabides dalam 0,3 ml. Pengecekan pH larutan menggunakan kertas pH; jika pH larutan 4,5 maka larutan dapat langsung disimpan, namun jika pH lebih dari 4,5 digunakan asam sitrat 0,1

M hingga mencapai pH 4,5. Kemudian tambahkan CMC 1% (Rosyadi *et al.*, 2018).

3.4.5 Penginduksian Aloksan

Induksi aloksan diberikan sebanyak 3 kali selama 6 hari dengan tujuan menciptakan keadaan hiperglikemik pada hewan uji. Setiap mencit diinduksi aloksan dengan dosis sebanyak 6 mg dilarutkan dalam Aquabides dalam 0,3 ml dan syringe 1 ml. Pada setiap kelompok perlakuan kecuali (K0) diinduksi aloksan dengan menyuntikkan aloksan secara *intraperitoneal* (IP). Sebelum dilakukan injeksi aloksan mencit dipuasakan selama 8-12 jam namun tetap diberikan air minum secukupnya. Kemudian, dilakukan pengukuran kadar glukosa. Larutan aloksan digunakan setelah semua alat dan bahan disiapkan. Injeksikan larutan aloksan secara *intraperitoneal* (IP) dengan menggunakan jarum suntik. Setelah selesai di injeksi, mencit harus dipastikan pulih dari sebelum dikembalikan ke kandang atau ruang pemeliharaan. Setelah di injeksi aloksan, mencit di amati apakah menimbulkan gejala ,seperti peningkatan konsumsi air dan makanan, peningkatan buang air kecil, dan penurunan berat badan. Pengukuran glukosa darah dilakukan dengan interval tertentu untuk memantau perkembangan hiperglikemia dapat dilakukan dengan menggunakan alat pengukur glukosa darah (glukometer) dengan sampel darah dari sayatan kecil di telinga atau ekor mencit. Mencit dikatakan diabetik jika kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dl. Selama pemberian perlakuan diberi suplay larutan dextrose 5% setiap harinya secara oral untuk mencegah terjadinya hipoglikemia yang fatal (Rosyadi *et al.*, 2018).

3.4.6 Penginduksian Ekstrak Daun Binahong

Pemberian ekstrak etanol daun binahong dilakukan pada hari ke 4 setelah induksi aloksan. Pemberian ekstrak daun binahong dilakukan selama 21 hari. Selama pemberian perlakuan diberi suplay larutan dextrose 5% setiap harinya. Mencit diambil darahnya pada kondisi sebelum induksi

aloksan, hari ke-0, ke-14 dan ke-21 post induksi aloksan untuk dilakukan pengecekan (Yasaroh *et al.*, 2021). Kadar glukosa darah diukur dengan menggunakan alat glukometer merk easy touch (Fatonah *et al.*, 2021). Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan dengan berat sekitar 20 g, sehingga rumus perhitungan volume penggunaan Aquabides yaitu sebagai berikut :

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

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

- a. Kontrol 0 (K0) tanpa diberi perlakuan (hari ke-0 – ke-35)
- b. Perlakuan 1 (P1) diinduksi aloksan 6 mg/20 g BB dan diberi dosis 25 mg/20 g BB dalam 0,3 ml Aquabides
- c. Perlakuan 2 (P2) diinduksi aloksan 6 mg/20 g BB dan diberi dosis 50 mg/20 mg BB dalam 0,3 ml Aquabides
- d. Perlakuan 3 (P3) diinduksi aloksan 6 mg/20 g BB dan diberi dosis 75 mg /20 mg BB dalam 0,3 ml Aquabides.

3.4.7 Pengamatan Populasi Sel Spermatogenik

Sampel testis mencit diambil dan segera difiksasi dalam larutan fiksatif formalin untuk mempertahankan struktur sel dan mencegah degradasi. Sampel testis mencit kemudian diproses melalui dehidrasi, pemberian zat pengemas, dan pengentalan dalam parafin. Sayatan tipis dibuat dari blok parafin yang dihasilkan. Blok parafin dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Sayatan tipis ditempatkan pada slide kaca. Struktur sel disorot dengan pewarnaan yang sesuai, seperti pewarnaan hematoxylin dan eosin (H&E). Warna biru inti sel yang diberikan oleh hematoxylin membantu dalam mengidentifikasi sel sperma dan stadia

perkembangannya. Sayatan tipis diamati di bawah berbagai tingkat pembesaran menggunakan mikroskop. Tubulus seminiferus diidentifikasi dan sel sperma difokuskan. Berbagai stadia perkembangan sel sperma, termasuk spermatogonia, spermatisit primer, dan spermatid, ditinjau. Jumlah sel sperma pada area tertentu dihitung menggunakan mikroskop. Stadia perkembangan sel sperma yang ditemukan dikarakterisasi. Data yang diperoleh dari pengamatan, termasuk distribusi dan jumlah sel sperma di berbagai stadia perkembangan, dianalisis. Hasil diinterpretasikan untuk mendapatkan pemahaman tentang perkembangan spermatogenesis dalam testis mencit. Perhitungan jumlah sel-sel tersebut dilakukan pada setiap tubulus seminiferus yang telah dipilih dan dihitung dengan cara menghitung satu bidang dari tubulus seminiferus yang telah dibagi empat bagian lalu hasil dikalikan empat sesuai dengan pembagian bidang tubulus seminiferus. Perhitungan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x dengan menghitung jumlah sel-sel meliputi sel spermatogonia, sel spermatisit primer, dan sel spermatid secara manual. Pengamatan dilakukan pada potongan melintang tubulus seminiferus yang diambil secara random.

3.4.8 Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus

Testis mencit adalah sampel yang diperlukan. Testis mencit dibersihkan dari kotoran dan lemak. Kemudian, testis mencit difiksasi dalam larutan fiksatif formalin selama 24 jam. Fiksasi bertujuan untuk mempertahankan struktur jaringan testis dan mencegah degradasi. Setelah difiksasi, testis mencit didehidrasi dengan menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi yang meningkat. Tujuannya adalah untuk menghilangkan air dari jaringan testis. Selanjutnya, testis mencit diimpregnasi dengan zat pengemas agar tidak pecah saat dipotong. Zat pengemas yang umum digunakan adalah parafin. Testis mencit dipotong menjadi sayatan tipis dengan ketebalan sekitar 5 mikrometer menggunakan alat pemotong mikrotom. Sayatan tipis testis kemudian diwarnai dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (H&E). Pewarnaan hematoxylin-eosin (H&E)

bertujuan untuk memperjelas struktur jaringan testis, termasuk tubulus seminiferus. Sayatan tipis testis yang telah diwarnai diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Tubulus seminiferus diidentifikasi pada gambar mikroskopis. Diameter tubulus seminiferus diukur dengan cara menghitung jarak dari satu sisi ke sisi yang berlawanan dari tabung pada beberapa tubulus seminiferus yang dipilih secara random. Hasil pengukuran kemudian dirata-ratakan.

3.4.9 Pengamatan Tebal Epitel tubulus Seminiferus

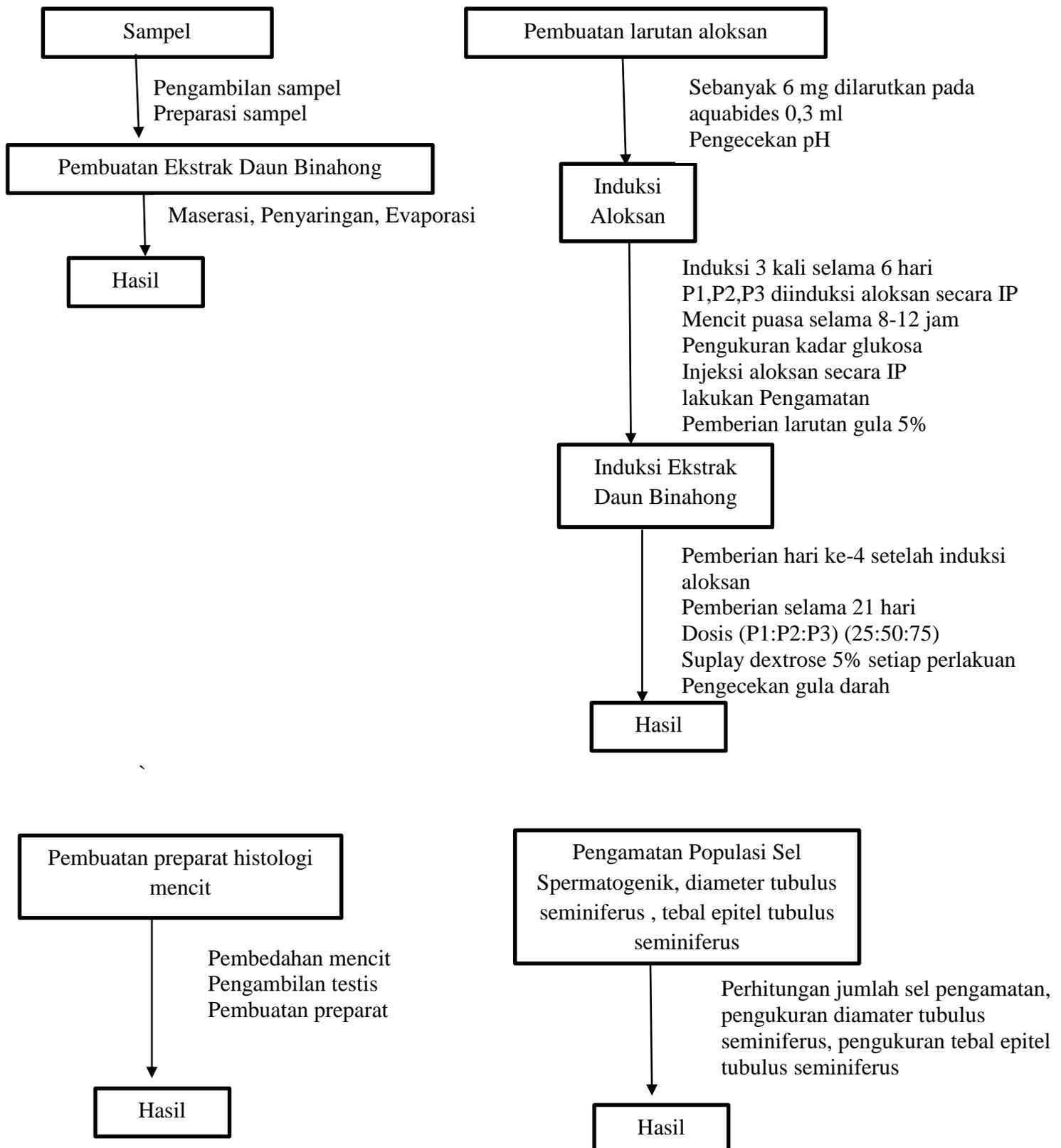
Testis mencit dibersihkan dari kotoran dan lemak menggunakan air mengalir dan sabun. Kotoran dan lemak dapat mengganggu proses fiksasi dan pewarnaan. Kemudian, testis mencit difiksasi dalam larutan fiksatif formalin selama 24 jam. Fiksasi dilakukan untuk mempertahankan struktur jaringan dan mencegah degradasi. Setelah difiksasi, testis mencit didehidrasi dengan menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi yang meningkat hingga absolut. Dehidrasi dilakukan untuk menghilangkan air dari jaringan testis. Selanjutnya, testis mencit diimpregnasi dengan parafin. Impregnasi dilakukan untuk membuat jaringan testis lebih keras dan mudah dipotong. Testis mencit dipotong menjadi sayatan tipis dengan ketebalan 5 mikrometer menggunakan alat pemotong mikrotom. Sayatan tipis dengan ketebalan yang tepat akan memudahkan pengamatan di bawah mikroskop dengan menggunakan mikrometer dengan mikroskop perbesaran 400x pada lensa okuler. Sayatan tipis testis diwarnai dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (H&E). Pewarnaan hematoxylin-eosin (H&E) digunakan untuk menyoroti struktur jaringan, termasuk tubulus seminiferus. Hematoxylin memberikan warna biru pada inti sel, sedangkan eosin memberikan warna merah pada sitoplasma. Ketebalan epitel tubulus seminiferus diukur dengan cara menghitung jarak dari basal hingga lumen tubulus seminiferus pada beberapa tubulus seminiferus yang dipilih secara random. Pengukuran dilakukan pada beberapa tubulus seminiferus untuk mendapatkan hasil yang representatif. Hasil pengukuran kemudian dirata-

ratakan untuk mendapatkan ketebalan epitel tubulus seminiferus yang akurat.

3.5 Analisis Data

Data dianalisis secara statistik menggunakan program *IBM SPSS Statistics*. Analisis data dimulai dengan melakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk* $\alpha=0,05$. Jika hasil uji normalitas menunjukkan $p < \alpha$ maka data tersebut diujikan lagi dengan uji normalitas dengan transformasi. Jika p masih $< 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas dan uji non parametric *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon-Mann-Whitney*. Jika $p > 0,05$ pada uji normalitas, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene statistic* dan uji parametrik menggunakan metode statistik *One Way Analysis of Variance* (ANOVA). Jika nilai p -value dari Anova $< \alpha$, maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf signifikansi 5% sebagai pembandingan dari masing-masing perlakuan, dan jika $p > \alpha$ menunjukkan data tidak signifikan sehingga tidak diperlukan uji lanjut.

3.6 Diagram Alir



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang mengalami hiperglikemik dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun binahong (*Anredera codifolia*) terhadap sel-sel Spermatogenik :

1. Dapat meningkatkan rata-rata jumlah sel spermatogonia.
2. Tidak memberikan pengaruh terhadap rata-rata jumlah sel spermatosit primer.
3. Dapat meningkatkan rata-rata jumlah sel spermatid.
4. Tidak memberikan pengaruh terhadap Diameter tubulus seminiferus.
5. Dapat meningkatkan ketebalan epitel sel-sel spermatogenik.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kombinasi variasi dosis ekstrak etanol daun binahong (*Anredera codifolia*) sebagai senyawa antioksidan terhadap struktur histologi tubulus seminiferus mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan sehingga mendapatkan dosis yang lebih efektif.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Anti Fertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- American Diabetes Association. 2020. Introduction: Standars of Medical Care in Diabetes. Retrieved from [https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement_1/S1#:~:text=The%](https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement_1/S1#:~:text=The%20standards%20of%20medical%20care%20in%20diabetes%20disease,standards%20of%20medical%20care%20in%20diabetes%20disease)
- Aghazarian, A., Mohammadi, S., and Tavalaei, S. 2022. The Role of Spermatoocyte Primary in Diagnosis of Male Infertility. *Journal of Andrology*, 43(2), 241-248.
- Agarwal, R. 2014. Hyperglycemia and male infertility. *Andrology*, 52(5), 692-701.
- Arundani, P., I'tishom, R., dan Purwanto, B. 2021. Pemberian ekstrak rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotszch) terhadap viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) diabetes melitus. *Oceana Biomedicina Journal*. 4 (1): 26-37.
- Atlas, I. D. F. D.2019. International Diabetes Federation. In *The Lancet* (Vol. 266, Issue 6881).
- Avycena, S., A. J. Sitasiwi, dan S. M. Mardiaty. 2019. Struktur Tubulus Seminiferus

Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A.Juss). *Jurnal Pro-Life*. 1(7): 42-48.

BPOM RI.2008. *Direktorat Obat Asli Indonesia*. Jakarta : DepKes RI

Carolina, I. 2014. *pengaruh pemberian royal jelly peroral terhadap jumlah sel-sel spermatosit primer dan sel-sel spermatid pada testis hamster jantan*. Prosiding SNIT,hal D-9.

Chauhan, N. S., and Dixit, V. K. 2008. Original Article Spermatogenic Activity of Rhizomes of *Curculigo orchoides* Gaertn in Male Rat. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. Vol. 1(2): 26-31.

Cuypers, A., and Clerc, J. 2010. Oxidative stress, inflammation, and gene expression in chronic inflammatory diseases. *F1000 Research*, 2(1), 18.

Dewi, P. S. 2019. Efektifitas Gel Ekstrak Daun Binahong Terhadap Jumlah Makrofag Pada Penyembuhan Luka Insisi Mencit Yang Diinduksi Aloksan. *B-Dent: Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 8(3), 235–241.

Dewi, E. R. S. 2011. Pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu terhadap histopatologi testis tikus putih setelah menghirup asap rokok. *Bioma*. 1(2):113-122.

Diana, A. N., I'tishom, R., Sudjarwo, S. A. 2017. Nigella sativa Extract Improves Seminiferous Tubule Epithelial Thickness Inlead Acetate-Exposed Balb/C Mice. *Folia Medica Indonesiana*.53(3): 180-184.

Djamil, R., Winarti, W., Zaidan, S., dan Abdillah, S. 2017. Antidiabetic Activity of Flavonoid from Binahong Leaves (*Anredera cordifolia*) Extract in Alloxan

Induced Mice. *Journal of Pharmacognosy & Natural Products*, 03(02), 2–5.

Eroschenko, V. P. 2015. *Atlas Histologi di Fiore*. Jakarta: EGC.

Endang Purwaningsih. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Hibiscus rosa sinensis L terhadap Proses Spermatogenesis Mencit Jantan Strain AJ*. YARSI, 2010, 2 Mei – Agustus : 1 (Vol.9).

Fitriani, E. Kartini, and E. Widya. 2010. The effect of cigarettes smoke exposed causes fertility of male mice (*Mus musculus*). *J. Natural*. 10(2):12-17.

Fatimah, N. 2015. Diabetes mellitus: Definisi, klasifikasi, etiologi, patofisiologi, diagnosis, penatalaksanaan, dan komplikasi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30(2), 135-142.

Fatonah, R., Mulyaningsih, S., dan Ardiana, C. 2021. Penentuan Kadar Total Tanin dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*). *Jurnal Life Science: Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 3(2), 38–46.

Fianti, L. L. 2017. *Efektivitas perasan daun Afrika (Vernonia amygdalina Del) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit (Mus musculus)*. [Disertasi]. Bandung, Universitas Pasundan.

Gartner, L. P. 2007. *Concise Histology*. Jakarta : Philadelphia.

Guyton, A. C., J. E., Hall. 2013. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi kedua belas. Jakarta. EGC

Guerriero, G., and Paradisi, E. 2014. Oxidative stress and male infertility. *Andrology*, 52(6), 818-825.

- Hariyanti, L. P. D., Wardhana, A. A. N. W., Indriyani, N. K. S., Putri, I. A. P. Y., Farmasi, J., Matematika, F., Ilmu, D., Alam, P., Udayana, U., Farmasi, J., Matematika, F., Ilmu, D., Alam, P., Udayana, U., & Unud-jimbaran, J. K. 2017. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun binahong* . 39–42.
- Hasri, A. 2017. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Farmasi Klinik*, 2(1), 28-35.
- Hayati, Alfiah., B., Yunaida., I. B. R. Pidada., W. Darmanto., D. Winarni. 2004. *Efek 2-Methoxyethanol terhadap Struktur Histologi Testis Mencit (Mus musculus)*. Berkas Penelelitian Hayati. Vol (10): 7 12.
- Herrmann, K., Pistollato, F., Stephens, M. L. 2019. *Beyond the 3Rs: expanding the use of humanrelevant replacement methods in biomedical research*. ALTEX 36(3): 343-352.
- Hummel, B. R., and Dixson, A. F. 2015. *The effects of diabetes on male reproductive function*. Current diabetes reports, 15(10), 1-10.
- Ighodaro, O. M., Adeosun, A. M., and Akinloye, O. A. 2017. *Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies*. Medicina, 53: 365-374.
- International Diabetes Federation (IDF)*. 2015. *IDF Diabetes Atlas Seventh Edition*. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.
- Hartono, B., and Setyawan, A. D. 2017. Analisis Data Eksperimen dengan Desain Rancangan Acak Bertingkat (Split-Plot Design). *Jurnal Pendidikan Biologi*, 16(2), 237-244.

- Izzati, R., dan Nirmala, E. 2015. Efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap jumlah sel spermatogonia mencit jantan (*Mus musculus L.*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(1), 1-6.
- Jungwirth, A., Giwercman, A., Tournaye, H., Diemer, T., Kopacsi, P., Kruger, T. F and European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). 2015. *European guideline for male infertility diagnosis and treatment. Human Reproduction*, 30(1), 152-180.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., and Berton, R. L. 2013. *Basic histology: Text and atlas* (12th ed.). New York: McGraw-Hill Education.
- Wu, J., Li, J., & Li, Y. 2017. Effect of ethanol extract of binahong leaves on spermatogenesis in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 198, 404-411.
- Kardinan, A. 2009. *Binahong (Anredera cordifolia) sebagai Obat*. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* Vol. 15 (1).
- Kianifard. R. J, S. 2012. The ultrastructural changes of the Sertoli and Leydig cells following streptozotocin induced diabetes. *Iran J Basic Med Sci*, 15(1), 623–635.)
- Kusumawati. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*, 10–23.
- Lenzen, S. 2008. *The mechanism of action of alloxan: selective destruction of pancreatic β cells*. *Diabetologia*, 51(11), 2195-2204.
- Lukiswanto, A. 2017. Manfaat Tanaman Obat Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan Efek Farmakologisnya. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(2), 1-12.

- Jofter Julian Longdong, Edwin De Queljoe, Adithya Yudistira. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi - UNSRAT*, 6(3), 120-127.
- Mardiana, L. I., Deswita, H., dan Isharyadi, R. 2020. Pengaruh Model Pembelajaran Kooperatif Tipe STAD Berbantuan Media Poster Terhadap Hasil Belajar Peserta Didik. *Jurnal Ilmiah Sekolah Dasar*, 2(2), 1-10.
- Matsumoto, A.M., and Bremner, W. J. 2016. *Chapter 19-Testicular Disorders Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)*. Elsevier.
- Meivy, I., Derek. 2017. *Hubungan Tingkat Stres Dengan Kadar Gula Darah Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe II Di Rumah Sakit Pancaran Kasih Gmim Manado*. Prog Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mescher, A. L. 2015. *Terjemahan Histologi Dasar Junqueira, Teks dan Atlas*, Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Modak, M., Dixit, P., Londhe, J., Ghaskadbi, S., and Devasagayam, T. P. A. 2007. *Recent Advances in Indian Herbal Drug Research Guest Editor : Thomas Paul Asir Devasagayam*. May, 163–173.
- Mohammad MA, Mohammad, M. M. J., Dradka, H. 2009. Effects of black seeds (*Nigella sativa*) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. *J Med Med Sci* 4(2):386-390.
- Moore, K. L., Dalley, A. F. 2006. *Clinically Oriented Anatomy. Edisi ke-5*. USA: Philadelphia. Hlm: 922.

- Mus, S. B. 2008. *Khasiat dan Manfaat Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Nugoho, R. A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Mulawarman University Press*. Samarinda.
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (Perkeni). 2015. *Pengelolaan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia.
- Priyambodo, S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu Seri Agikat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Poojar, B., Ommurugan, B., Adiga, S., Thomas, H., Sori, R. K., Poojar, B., Hodlur, N., Tilak, A., Korde, R., Gandigawad, P., In, M., Sleep, R., Albino, D., Rats, W., Article, O., Schedule, P., Injury, C. C., Sori, R. K., Poojar, B., Gandigawad, P. 2017. Methodology Used in the Study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(10), 1–5.
- Phifer-Rixey, M., and M.W. Nachman. 2015. *Insights into mammalian biology from the wild house mouse Mus musculus*. eLife (4): 1-13.
- Restykania, Suratman, Pitoyo, A., & Suranto. 2019. Morphology and isozyme variation among madeira vine (*Anredera cordifolia*) accessions from southeastern part of Central Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(10), 3024–3032.
- R.C. Ruhe.2001. “Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of type 2 diabetes,” *J Am Coll Nutrition*, Vol.20.363 369
- Robert, B., and Brown, E. B. 2004. *No Covariance Structure Analysis of Health-Related Indices Focusing on Subjective Feelings of Health in the Elderly at Home Title. 1*, 1–14.

- Rochmah, S. 2007. *Diabetes Melitus: Diagnosis dan Penatalaksanaan*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Rohilla, A., and Ali, M. 2012. Aloksan-induced diabetes: A review. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 32(4), 312-322
- Rosyadi, I., Romadhona, E., Utami, A. T., Hijrati, Y. N., dan Santosa, C. M. 2018. Gambaran kadar gula darah tikus wistar diabetes hasil induksi streptozotocin dosis tunggal. *ARSHI Veterinary Letters*, 2(3), 41-42.
- Sakti, P. P., Rahayu, A. W., dan Astiti, L. P. 2019. *Potensi Kombinasi Saffron dan Binahong sebagai Wound Healing Stimulator Pasca Ekstraksi Gigi*. Prosiding Seminar Nasional X Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, 12(1).
- Sari, R. D., Utami, R., dan Wulandari, R. 2018. Efek Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Jumlah Sel Spermatogonia Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Ilmiah Farmasi dan Sains*, 4(1), 1-8.
- Singh, A., Milton, P. E., Nanaiah, A., Samuel, P. and Thomas, N. 2012. Awareness and attitude toward diabetes in the rural population of aranuchal pradesh, Northeast India. *Indian Journal Of Endocrinology and Metabolism*, 16 (1):83-86.
- Singh, S., Burnichka-Turek, O., Chauhan, C., and Hou, S. 2011. Spermatogonial stem cells, infertility, and testicular cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 15 (3): 468-483.
- Sherwood, L. 2012. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem (Edisi ke-6)*. Jakarta: EGC.

- Sherwood L. 2014. *Fisiologi manusia Dari Sel ke Sistem Edisi 8*. Jakarta: EGC.
- Sukmaningsih, A. A. S. A. 2009. Penurunan jumlah spermatosit pakiten dan spermatid tubulus seminiferus testis pada mencit (*Mus musculus*) yang dipaparkan asap rokok. *J. Biologi*. XIII(2):31-35.
- Sutyarso, M. Kanedi, Hendri Busman, Nuning Nurcahyani. 2020. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale Roscoe.*) dan Zinc (Zn) Pada Fungsi Testis Mencit (*Mus muculus* Linn.) Yang Mengalami Penuaan. *Jurnal Biologi*. Universitas Lampung.
- Tiwani, A. K., J.M. Rao. 2011. *Diabetes Melitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals: Present status dan future prospect*. current science. vol. 83, 1 (30-38).
- Utami, R., Sari, R. D., dan Wulandari, R. 2019. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Morfologi Testis dan Jumlah Sel Spermatogonia Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 22(1), 44-51.
- Vignera, L. S., Condorelli, R., Vicari, E., D'Agata, R., Calogero, A. 2012. Diabetes melitus and sperm parameters. *Journal of Andrology*. 33(2): 145-152.
- Yama, O.E. 2011. Sperm qoutient in Sprague dawley rats fed graded doses of seed extract. of *Momordica charantia*. *J Middle East Fertility Society*.16:151–8.
- Yasaroh, S., Christijanti, W., Lisdiana, dan Iswari, S. R. 2021. Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Diabetes Induksi Aloksan. *Prosiding Semnas Biologi Ke-9 Tahun 2021 FMIPA*, 224–229.