

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* Linn) TERHADAP JUMLAH SEL
SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**



Oleh :
EUNIKE ABIGAIL OKTAVIANNE
NIM. 061511133085

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* Linn) TERHADAP JUMLAH SEL
SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**



Oleh :
EUNIKE ABIGAIL OKTAVIANNE
NIM. 061511133085

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* Linn) TERHADAP JUMLAH SEL
SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

oleh:

EUNIKE ABIGAIL OKTAVIANNE

NIM. 061511133085

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



(Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.)
Pembimbing utama



(Prof. Dr. Wurlina, drh., M.Si.)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn) TERHADAP JUMLAH SEL SPERMATOGENIK MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 16 Mei 2022



Eunike Abigail Oktavianne
NIM 061511133085

Telah diuji pada Seminar Proposal

Tanggal : 7 Juni 2022

KOMISI PENGUJI SEMINAR PROPOSAL

Ketua : Dr. Nove Hidajati, drh., M.Kes.

Sekretaris : Dr. Epy Muhammad Luqman, drh., M.Si.

Anggota : Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si.

Pembimbing I : Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.

Pembimbing II : Prof. Dr. Wurlina, drh., M.Si.

Telah diuji pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 14 Juli 2022

KOMISI PENGUJI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Nove Hidajati, drh., M.Kes.

Sekretaris : Dr. Epy Muhammad Luqman, drh., M.Si.

Anggota : Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si.

Pembimbing I : Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.

Pembimbing II : Prof. Dr. Wurlina, drh., M.Si.

Telah diuji pada

Tanggal : 26 Juli 2022

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Nove Hidajati, drh., M.Kes.

Sekretaris : Dr. Epy Muhammad Luqman, drh., M.Si.

Anggota : Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si.

Pembimbing I : Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.

Pembimbing II : Prof. Dr. Wurlina, drh., M.Si.

Surabaya, 26 Juli 2022

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan



Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P.

NIP. 19620118199203200

RINGKASAN

Eunike Abigail Oktavianne. Pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana. Linn*) terhadap jumlah sel spermatogenik mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok. Penelitian ini dilaksanakan dibawah bimbingan Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si., selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. Wurlina, drh., M.Si., selaku pembimbing serta.

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis terhadap jumlah sel spermatogenik mencit jantan yang dipapar asap rokok. Penelitian dilaksanakan di Kandang Hewan Coba dan Devisi Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Sejumlah 30 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) digunakan dalam penelitian ini. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terbagi atas lima perlakuan dan enam ulangan, terdiri dari K- (tanpa dipapar asap rokok dan diberi CMC Na 1%), K+ (hanya dipapar asap rokok dan diberi CMC Na 1%), P1 (dipapar asap rokok satu batang dan diberi ekstrak kulit manggis dosis 6,045 mg/ gram bb), P2 (dipapar asap rokok satu batang dan diberi ekstrak kulit manggis dosis 12,09 mg/ gram bb) dan P3 (dipapar asap rokok satu batang dan diberi ekstrak kulit manggis dosis 24,18 mg/ gram bb).

Mencit dinekropsi setelah perlakuan hari ke-45. Organ testis diambil kemudian dibuat sediaan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE untuk dilakukan pengamatan dan penghitungan jumlah sel spermatogenik. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA kemudian dilanjutkan dengan Uji Jarak *Duncan's*

(*Duncan's Multiple Range Test*) dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil pengamatan terhadap jumlah sel spermatogonium antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) yaitu (K-) $56,08^e \pm 3,97$; (K+) $28,2^a \pm 1,75$; (P1) $40,48^c \pm 2,51$; (P2) $49,88^d \pm 3,94$; dan (P3) $33,92^b \pm 0,76$. Hasil pengamatan terhadap jumlah sel spermatosit primer antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) yaitu (K-) $76,83^e \pm 1,57$; (K+) $30,32^a \pm 3,97$; (P1) $53,20^c \pm 3,46$; (P2) $62,68^d \pm 3,34$; dan (P3) $47,68^b \pm 4,27$. Hasil pengamatan terhadap jumlah sel spermatid antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) yaitu (K-) $82,84^e \pm 2,63$; (K+) $44,28^a \pm 4,72$; (P1) $66,84^c \pm 5,97$; (P2) $76,80^d \pm 1,81$; dan (P3) $55,56^b \pm 4,02$.

Kesimpulan yang diperoleh adalah pemberian ekstrak kulit manggis berpengaruh positif yakni dapat mempertahankan jumlah sel spermatogenik pada testis mencit yang dipapar asap rokok.

THE EFFECTS OF THE MANGOSTEEN EXTRACT (*Garcinia mangostana* Linn) TO THE AMOUNT OF SPERMATOGENIC CELLS OF MICE (*Mus musculus*) EXPOSED BY CIGARETTE SMOKE

Eunike Abigail Oktavianne

ABSTRACT

The purpose of this research was to prove the effects of the mangosteen extract to the amount of spermatogenic cells of cigarette smoke exposed mice. 30 mice aged 8 to 12 weeks was randomly divided to 5 groups. Group of negative control (K-) was given CMC Na 1% /head, positive control (K+) was exposed with smoke and CMC Na 1%/head, Treatment 1 (P1) was exposed with smoke and had been given mangosteen extract 6,045 mg/head, Treatment 2 (P2) was exposed with smoke and had been given mangosteen extract 12.09 mg/head, Treatment 3 (P3) was exposed with smoke and had been given mangosteen extract 24.18 mg/head. Exposure cigarette smoke had been given one piece of cigarette per group each day, and treatments had been given one hour after the exposure of cigarette smoke. All Treatment and exposure cigarette smoke was given about 45 days. Necropsy was done after final day of treatment, then histopathological slides of the testis were processed and stained under light microscope. Observed parameter was spermatogenic cell count. The data were analyzed by *Analysis of Variance* (ANOVA) method based on *Completely Randomized Design*, and further analyzed by Duncan's multiple range. In the result, the effect of mangosteen extract has been showed significant difference ($p < 0.05$) to increase spermatogonium cell count on mice's testis with cigarette smoke exposed with mean $\pm$ SD as follows: (K-) $56.08^e \pm 3.97$; (K+) $28.2^a \pm 1.75$; (P1) $40.48^e \pm 2.51$; (P2) $49.88^d \pm 3.94$; and (P3) $33.92^b \pm 0.76$. Primary spermatocytes cell showed significant difference with (K-) $76.83^e \pm 1.57$; (K+) $30.32^a \pm 3.97$; (P1) $53.20^c \pm 3.46$; (P2) $62.68^d \pm 3.34$; and (P3) $47.68^b \pm 4.27$. Spermatid cell showed significant difference with (K-) $82.84^e \pm 2.63$; (K+) $44.28^a \pm 4.72$; (P1) $66.84^c \pm 5.97$; (P2) $76.80^d \pm 1.81$; and (P3) $55.56^b \pm 4.02$.

Keywords : Cigarette smoke, mangosteen extract, spermatogenic cell, mice.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat tuhan atas limpahan rahmat, karunia, serta anugerah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana. Linn*) terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Dipapar Asap Rokok. Penulis menyadari Skripsi ini tidak akan selesai tanpa doa, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Adapun dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P. yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan Sarjana di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Dr. Rimayanti, drh., M.Kes. selaku Wakil Dekan I, Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M.Si. selaku Wakil Dekan II, serta Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH selaku Wakil Dekan III. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si., selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. Wurlina, drh., M.Si., selaku pembimbing serta atas saran, kritik, arahan, serta kesabaran dalam membimbing penulis. Panitia penguji Dr. Nove Hidajati, drh., M.Kes., Dr. Epy Muhammad Luqman, drh., M.Si., dan Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M.Si., atas kesediaan dan bimbingannya.

Orang tua penulis yang tercinta dan tersayang, ibu Rr. Christiana B. Hariarmadani, dan ayah Robyanto Santoso. Saudara kandung penulis, suami penulis Egi Januar Ardiansyah dan anak penulis Eleora Priscilla Gabrielle yang senantiasa

mendoakan dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan pendidikan sarjana dengan baik.

Rekan penelitian penulis, drh. Inara Putri Prahandita atas kerja sama, ilmu dan pengalamannya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan. Sahabat karib penulis Chici Ayu Paramita, drh., M.Si., Evania Haris Chandra, drh., M.Si., drh. Kurnia Rizky Ismail, drh. Yemima Anggun Y., dan drh. Gusniasti Nurina I., yang selalu membantu kesulitan penulis, menghibur penulis saat sedih serta mengingatkan penulis saat kehilangan semangat dalam menempuh pendidikan.

Penulis menyadari bahwa terdapat kesalahan dan kekurangan pada penulisan Skripsi, untuk itu diharapkan kritik dan saran untuk kebaikan dan kesempurnaan penulisan mendatang. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis dan semua pihak yang membutuhkan demi kemajuan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Kedokteran Hewan.

Surabaya, 26 Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	ii
HALAMAN JUDUL.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN IDENTITAS	v
RINGKASAN	viii
ABSTRACT	x
UCAPAN TERIMA KASIH.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xix
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	4
1.3 Landasan Teori.....	5
1.4 Tujuan Penelitian	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.5.1 Manfaat Teoritis	8
1.5.2 Manfaat Praktis.....	9
1.6 Hipotesis.....	9

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Rokok	10
2.1.1 Pengaruh Asap Rokok Terhadap Kerusakan Tubulus Seminiferus ..	11
2.2 Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> Linn).....	12
2.2.1 Kandungan Manggis.....	13
2.2.2 Antioksidan dalam Kulit Manggis	14
2.3 Testis	16
2.3.1 Tubulus Seminiferus.....	17
2.3.2 Spermatogenesis	18
2.4 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	20
2.4.1 Klasifikasi Mencit	20
2.5 Ekstrak.....	22
2.6 Ekstraksi.....	22
2.6.1 Metode Ekstraksi	22
2.6.1.1 Metode Ekstraksi Dingin.....	22
2.6.1.2 Metode Ekstraksi Panas.....	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	25
3.1 Rencana Penelitian	25
3.2 Sampel Penelitian	25
3.3 Variabel Penelitian	27
3.4 Definisi Variabel Operasional.....	27
3.5 Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.6 Alat dan Bahan	28
3.6.1 Hewan Percobaan	28
3.6.2 Bahan Penelitian.....	28
3.6.3 Alat Penelitian.....	28
3.7 Prosedur Penelitian.....	29
3.7.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis.....	29
3.7.2 Persiapan Terhadap Hewan Coba.....	30
3.7.3 Tahap Pengambilan Sampel	31

3.7.4 Tahap Penelitian	32
3.8 Analisis Data	32
3.9 Bagan Alir Penelitian	33
BAB IV HASIL PENELITIAN	33
BAB V PEMBAHASAN	38
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
6.1 Kesimpulan	43
6.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi buah manggis	13
2.2 Struktur kimia senyawa turunan xanthon.....	15
2.3 Struktur anatomi testis	16
2.4 Struktur membran tubulus seminiferus	17
2.5 Proses spermatogenesis	19
2.6 Mencit jantan.....	21
3.1 Diagram Alur Penelitian	33
4.1 Histopatologi tubulus seminiferus mencit	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rata-rata sel spermatogenik	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan dosis	52
2. Pembuatan sediaan	53
3. Teknik pembuatan preparat histopatologi	55
4. Perhitungan statistik jumlah sel spermatogenik	57
5. Sertifikat uji etik	63
6. Dokumentasi	64

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ABP	: <i>Androgen Binding Protein</i>
AIF	: <i>Apoptosis Induction Factor</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
B-a-P	: <i>Benzo-a-Pyrene</i>
Ca ²⁺	: <i>Calcium</i>
CMC Na	: <i>Carboxy Methyl Cellulose</i>
CO	: <i>Carbon Monoksida</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EKM	: <i>Ekstrak Kulit Manggis</i>
e-NOS	: <i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
Fe ²⁺	: <i>Iron</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GATS	: <i>Global Adults Tobacco Survey</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
GSH	: <i>Glutathione Stimulating Hormone</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hidrogen peroksida</i>
HE	: <i>Haematoxylin Eosin</i>
K(-)	: <i>Kontrol negatif</i>
K(+)	: <i>Kontrol positif</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
NaCl	: <i>Natrium klorida</i>

NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine-Dinukleotida Phosphate</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NTRM	: <i>Nontobacco Related Material</i>
O ₂ ⁻	: <i>Superoxide</i>
OH ⁻	: Hidroksil
ORAC	: <i>Radical Absorbance Capacity</i>
P1	: Perlakuan 1
P2	: Perlakuan 2
P3	: Perlakuan 3
PAHs	: <i>Polynuclear Aromatic Hydrocarbons</i>
ppm	: <i>parts per million</i>
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: <i>revolutions per minute</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
SPSS	: <i>Statistical for Social Science</i>
TSNA	: <i>Tobacco Spesific Nitrosamine</i>
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Merokok merupakan perilaku adiktif yang sudah menjadi gaya hidup manusia (Singh and Kahiresan 2015). Indonesia memiliki jumlah perokok aktif terbanyak dengan prevalensi 62,9% laki-laki dan 4,8% pada wanita (Riskesdas, 2018). Paparan asap rokok mengakibatkan dampak buruk pada kesehatan hingga mengakibatkan kematian. Merokok merupakan suatu pola hidup tidak sehat yang masih sering dilakukan dan menjadi penyebab kematian utama terbesar di dunia sebesar 22.000 jiwa setiap harinya (WHO, 2019).

Rokok mengandung lebih dari 4.000 senyawa aktif yang dapat mengakibatkan terjadinya berbagai penyakit kanker, penyakit jantung, penyakit sistem pernapasan, penyakit gangguan reproduksi (Riskesdas, 2010). Senyawa yang terkandung dalam rokok adalah nikotin, tar, karbon monoksida (CO), nitrosamin, nitrogen oksida (NO), dan senyawa *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons* (PAHs) (Tirtosastro, 2010).

Perokok aktif yang menghisap asap rokok secara konstan dapat meningkatkan kadar nikotin dalam sirkulasi darah. Nikotin akan menyebar di beberapa sistem tubuh seperti sistem reproduksi yang akan mengakibatkan mutasi sel somatik dan bersifat karsinogen yang berdampak langsung pada kesehatan reproduksi jantan (Vine *et al.*, 1996). Sebanyak 60-65% laki-laki memiliki kualitas sperma yang rendah akibat merokok (Ramlau *et al.*, 2008). Paparan asap rokok dapat menghambat

spermatogenesis ditandai dengan menurunnya jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, spermatid dan viabilitas spermatozoa (Aina, 2005). Selain itu, terjadi penurunan diameter tubulus seminiferus pada tikus jantan yang dipapar nikotin 4 mg/ kg (Primarizky *et al.*, 2020).

Paparan asap rokok dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Peningkatan ROS akibat paparan asap rokok diimbangi dengan sistem pertahanan antioksidan. Konsentrasi ROS meningkat melebihi sistem pertahanan antioksidan mengakibatkan stres oksidatif (Rahayu dkk., 2013). Target utama aktivitas ROS adalah *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) atau asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat dalam membran sel. ROS diperkuat dengan interaksi hidrogen peroksida dan superoksida sehingga meningkatkan peroksidasi lipid yang mengakibatkan stres oksidatif. Hasil peroksidasi lipid berdampak negatif pada fosforilasi oksidatif dalam mitokondria, peroksidasi lipid pada membran plasma dan membran intraseluler mengakibatkan enzim protease rusak dan mengganggu pengeluaran Ca^{2+} ke sitosol yang selanjutnya dapat menyebabkan nekrosis (Vanlangenakker *et al.*, 2008).

Tubulus seminiferus merupakan tempat terjadinya spermatogenesis yang merupakan proses perkembangan sel spermatogenik dimulai dari proliferasi sel germinal dan pematangan spermatogonium hingga menjadi spermatozoa. Kerusakan tubulus seminiferus akibat paparan asap rokok dapat mempengaruhi proses spermatogenesis yaitu adanya hambatan pembelahan sel untuk berdeferensiasi sehingga berpengaruh pada jumlah sel-sel spermatogenik serta kualitas spermatozoa

(Wuisan *et al.*, 2016). Menurut Andriawati (2009), terjadinya gangguan pada sistem reproduksi tubulus seminiferus testis dapat dilihat dari perubahan struktur mikroanatomiya meliputi penurunan jumlah sel spermatogenik yaitu spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, spermatid dan spermatozoa, serta ukuran diameter tubulus seminiferus.

Kerusakan tubulus seminiferus dapat diminimalisir menggunakan antioksidan. Antioksidan alami dari ekstrak tumbuhan dipilih sebagai alternatif pengobatan karena manfaatnya bagi kesehatan manusia dan timbulnya kekhawatiran konsumen tentang keamanan antioksidan sintesis dalam makanan (Sun dan Ho, 2005; Suhaj, 2006). Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah manggis berpotensi sebagai antioksidan dengan kandungan senyawa *xanthone*. Senyawa antioksidan dalam kulit buah manggis memiliki kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibanding vitamin C dan vitamin E yang dikenal sebagai antioksidan potensial (Miryanti dkk., 2011). Hasil penelitian ilmiah menyebutkan bahwa terdapat senyawa yang terkandung dalam kulit buah manggis yaitu *xanthone* yang meliputi *mangostin*, *mangosterol*, *mangostinon* α dan β , *trapezifolixanthone*, *toverophyllin* β , *garcinon* β , *mangostanol*, *flavonoid epikatekin*, dan *gartanin*.

Menurut Noverina (2011), *xanthone* dalam kulit manggis berjumlah sekitar 17.000–20.000 *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC). Nilai ORAC manggis yang tinggi menggambarkan kemampuan *xanthone* dalam menyerap radikal bebas. *Xanthone* dapat menangkal radikal bebas di antaranya yaitu hidroksil ($\text{OH}^\cdot$), superoxide ($\text{O}_2^\cdot$) dan penurunan kapasitas ion Fe^{+2} melalui reaksi fenton yaitu kombinasi antara

H_2O_2 dan Fe^{+2} yang memiliki kemampuan oksidasi tinggi, sehingga mampu mengurangi atau menghilangkan oksidan yang dihasilkan (Kosem *et al.*, 2007). Senyawa *xanthone* mampu mengikat elektron tidak berpasangan dari ROS, sehingga ROS tidak akan menarik elektron dari komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan di antaranya adalah molekul penyusun membran sel, enzim dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA). Senyawa ROS sangat reaktif karena mempunyai kecenderungan untuk menarik elektron di lingkungannya serta dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas yang baru (Hayati, 2011). Selain itu, *xanthone* dapat meningkatkan jumlah spermatozoa, dan meningkatkan jumlah sel *Leydig* penghasil testosteron yang merupakan hormon penting dalam proses spermatogenesis di tubulus seminiferus testis mencit Swiss-Webster yang diberi paparan asap rokok (Prawira *et al.*, 2015; dan Permatasari dkk., 2014).

Aktivitas *xanthone* dalam kulit manggis diharapkan dapat mencegah kerusakan tubulus seminiferus akibat paparan asap rokok. Berdasarkan uraian tersebut dapat menjadi dasar penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis terhadap jumlah sel spermatogenik mencit jantan yang dipapar asap rokok.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut terdapat rumusan masalah yaitu apakah ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* Linn) dapat mempertahankan jumlah sel spermatogenik mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok?

1.3 Landasan Teori

Kandungan kimia tembakau yang sudah teridentifikasi jumlahnya mencapai 2.500 komponen, sedangkan dalam asap terdapat 4.800 macam komponen. Dari komponen kimia ini telah diidentifikasi yang membahayakan kesehatan adalah tar, nikotin, gas CO, dan NO yang dihasilkan oleh tanaman tembakau, dan beberapa bahan-bahan residu yang terbentuk saat penanaman, pengolahan, dan penyajian dalam perdagangan yaitu residu pupuk dan pestisida, *Tobacco Specific Nitrosamine* (TSNA), *Benzo-a-Pyrene* (B-a-P), dan *Nontobacco Related Material* (NTRM) (Tirtosastro, 2010).

Asap rokok yang dihirup oleh perokok aktif maupun perokok pasif, mengandung komponen gas dan partikel. Komponen gas terdiri dari nitrogen dan senyawa hidrokarbon, sedangkan komponen partikel terdiri tiga komponen toksik utama yang terdapat dalam asap rokok, yaitu karbonmonoksida, tar, dan nikotin (Karim, 2011). Karbon monoksida merupakan gas racun yang tidak berwarna dan tidak berbau. Karbonmonoksida dapat menyebabkan berkurangnya pengiriman dan pemanfaatan oksigen pada jaringan tubuh (hipoksia) (Aina, 2005). Tar merupakan bahan karsinogenik yang tidak sederhana, tetapi merupakan campuran yang sangat kompleks yang dapat menyebabkan berbagai penyakit gangguan reproduksi (Aina, 2005). Nikotin dalam asap rokok yang dapat menstimulasi medulla adrenal untuk melepaskan katekolamin. Katekolamin dapat mempengaruhi sistem saraf pusat sehingga dapat mengganggu proses spermatogenesis (Fitriani, 2010).

Masuknya bahan yang bersifat toksik seperti asap rokok ke dalam tubuh dapat mengakibatkan peningkatan kadar ROS. Senyawa ROS diproduksi oleh berbagai enzim oksidase, termasuk *Nicotinamide Adenine-Dinukleotida Fosfat* (NADPH), *xantinoksidase*, *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (e-NOS), *cyclooxygenase*, dan *lipoxygenase*. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan berpotensi menyebabkan kerusakan yang dikenal “ stres oksidatif”. Stres oksidatif merupakan suatu kondisi dimana metabolisme sel, organ, atau seluruh organisme ditandai dengan oksidatif yang berlebihan. ROS dapat menginduksi kerusakan oksidatif pada beberapa jaringan dengan cara meningkatkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang terjadi mengakibatkan kerusakan pada fungsi seluler melalui dua mekanisme yakni dengan merusak fungsi membran, dan membentuk aldehida reaktif. Kerusakan membran sel mengakibatkan pergeseran muatan sel, perubahan tekanan osmotik, timbulnya pembengkakan dan akhirnya kematian sel (Soewono dan Khaerunisa, 2016).

Reactive Oxygen Species (ROS) terbukti dapat merusak tubulus seminiferus seperti mengurangi diameter tubulus seminiferus, menurunkan indeks dari sel sertoli pada tikus, dan mengakibatkan penurunan jumlah sel spermatogenik (Ahmadnia, 2007). Selain itu, ROS dapat menyebabkan kematian sel spermatozoa dengan merusak DNA transport dan membrane sel (Kleeman *et al.*, 2016). Membran sel yang rusak dapat menyebabkan ion Ca^{2+} dari ekstraselular masuk ke dalam intraselular yang menyebabkan kadar ion Ca^{2+} meningkat dalam sitoplasma. Meningkatnya kadar ion Ca^{2+} dalam sitoplasma akan mengaktifkan enzim-enzim intraselular seperti *phospholipase*, *protease*, *endonuclease* dan *Adenosine Triphosphatase*. Enzim

phospholipase dan *protease* yang aktif akan menyebabkan kerusakan pada membran sel sedangkan enzim *endonuclease* akan menyebabkan kematian pada inti sel. Penurunan ATP juga disebabkan oleh kegagalan mitokondria dalam proses fosforilasi oksidatif, yang akhirnya membuat sel tersebut akan mati (Mitchell *et al.*, 2008)

Senyawa yang dapat menangkal stres oksidatif oleh radikal bebas dinamakan antioksidan (Werdhasari, 2014). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberi atom hydrogen secara cepat ke radikal lipida ($R\cdot ROO\cdot$) atau mengubahnya ke bentuk stabil, sementara turunan radikal antioksidan ($A\cdot$) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai oksidan dengan mengubah radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan ($A\cdot$) yang terbentuk pada reaksi tersebut stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru. Radikal-radikal antioksidan dapat saling membentuk produk non radikal (Richa, 2009).

Kulit buah manggis mengandung antioksidan golongan *xanthone*. *Alfa-mangostin* dan *gamma-mangostin* merupakan kandungan yang paling banyak dalam senyawa *xanthone* (Mardiana, 2011). *Xanthone* mampu mengikat oksigen bebas yang

tidak stabil yaitu radikal bebas merusak sel di dalam tubuh sehingga *xanthone* dapat menghambat proses kerusakan sel. *Xanthone* juga merangsang regenerasi sel tubuh yang rusak dengan cepat. Senyawa ini dilaporkan dapat bereaksi dengan senyawa oksigen reaktif, hal ini disebabkan satu atau dua gugus hidroksi pada cincin aromatik yang bisa berperan sebagai donor hidrogen. Proses penangkalan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Senyawa *xanthone* mampu mengikat oksigen bebas yang tidak stabil yaitu radikal bebas merusak sel di dalam tubuh sehingga *xanthone* dapat menghambat proses degenerasi sel (Miryanti dkk., 2011).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana Linn*) dalam mempertahankan jumlah sel spermatogenik mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah mengenai manfaat ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana Linn*) terhadap jumlah sel spermatogenik mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

1.5.2 Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemanfaatan dan pengembangan kulit manggis (*Garcinia mangostana Linn*) sebagai antioksidan.

1.6 Hipotesis

Pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana Linn*) dapat mempertahankan jumlah sel spermatogenik mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok

Rokok adalah salah satu olahan dari tembakau dengan menggunakan bahan ataupun tanpa menggunakan bahan tambahan. Rokok yang diberi bahan tambahan berupa cengkeh disebut rokok kretek, sedangkan rokok yang tidak menggunakan bahan tambahan cengkeh disebut sebagai rokok putih (Batubara dkk., 2013).

Asap rokok terdiri atas campuran substansi kimia dalam bentuk gas dan partikel yang larut didalamnya. Sampai kini, telah berhasil diisolasi berbagai macam zat kimia hingga mencapai lebih dari 4.000 senyawa pada asap rokok. Dari komponen kimia ini telah diidentifikasi yang membahayakan kesehatan adalah tar, nikotin, gas CO, dan NO yang dihasilkan oleh tanaman tembakau, dan beberapa bahan-bahan residu yang terbentuk saat penanaman, pengolahan, dan penyajian dalam perdagangan yaitu residu pupuk dan pestisida, *Tobacco Specific Nitrosamine* (TSNA), *benzo-a-pyrene* (B-a-P), dan *Nontobacco Related Material* (NTRM) (Tirtosastro, 2010).

Asap rokok dapat dibedakan menjadi dua, yaitu asap utama (*mainstream smoke*) atau asap yang dihisap oleh perokok dan asap samping (*sidestream smoke*) yaitu asap yang terus menerus keluar dari ujung rokok. Asap rokok mengandung tiga komponen toksik utama, yaitu karbonmonoksida, nikotin, dan tar. Karbonmonoksida adalah gas racun yang tidak memiliki warna dan juga tidak berbau. Karbonmonoksida dapat menyebabkan berkurangnya pengiriman dan pemanfaatan oksigen pada jaringan

di dalam tubuh. Nikotin merupakan senyawa yang diserap ke dalam sistem pembuluh darah melalui paru dan selanjutnya akan disirkulasikan ke otak dalam waktu yang sangat cepat. Tar merupakan suatu bahan karsinogenik yang tidak sederhana, tetapi merupakan campuran yang sangat kompleks yang dapat menyebabkan berbagai penyakit berbahaya diantaranya kanker, penyakit jantung, bronchitis, gangguan kehamilan, dan impotensi (Batubara dkk., 2013).

Absorpsi asap rokok dalam tubuh akan berinteraksi dengan sel dan zat-zat aktif dalam rokok dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas yaitu *Nitric Oxide* (NO) dan ROS. Masuknya radikal bebas ke dalam tubuh disebabkan adanya hasil samping dari proses oksidasi saat terpapar oleh asap rokok. Radikal bebas yang terbentuk akan menyebabkan peroksidasi lipid membran sel sehingga akan merusak organisasi membran sel (Alvi dkk., 2013).

2.1.1 Pengaruh Asap Rokok Terhadap Kerusakan Tubulus Seminiferus

Merokok dapat meningkatkan radikal bebas dan menurunkan antioksidan pada semen (nekrosis) serta dapat menimbulkan kerusakan DNA (apoptosis) melalui fragmentasi DNA seluler dan abnormalitas morfologi (kepala, leher dan ekor) spermatozoa (Sukmaningsih, 2009).

Pemaparan asap rokok dengan dosis 10 batang rokok/ekor/hari selama 20, 40, dan 60 hari menyebabkan penurunan konsentrasi spermatozoa, viabilitas spermatozoa, peningkatan presentase abnormalitas spermatozoa dan penurunan jumlah sel-sel spermatogenik tikus yang tidak kembali ke kondisi normal setelah proses penyembuhan (*recovery*) (Unitly, 2014).

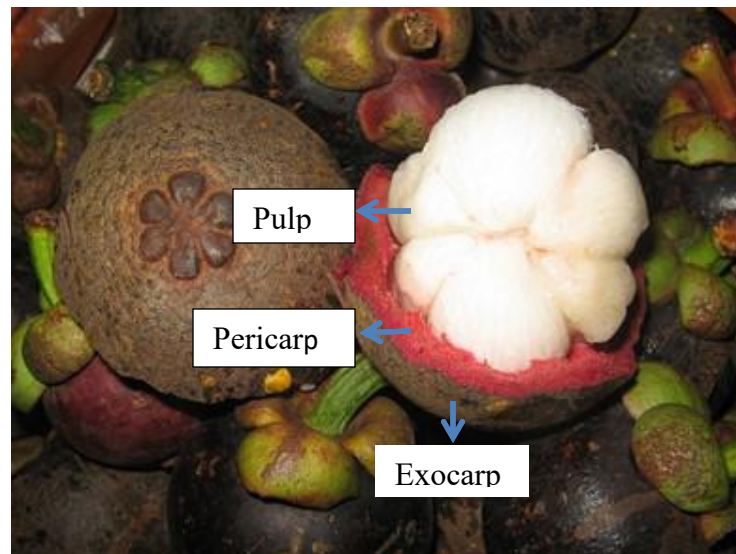
Lebih dari 90% jaringan testis terdiri dari tubulus seminiferus yang merupakan tempat terjadinya proses spermatogenesis, sehingga kerusakan pada tubulus seminiferus dapat mempengaruhi proses spermatogenesis (Intania, 2006). Senyawa oksigen reaktif juga berperan dalam kapasitas spermatozoa sehingga keberadaannya sangat berfungsi dalam fertilisasi. Secara *in vitro* senyawa oksigen reaktif juga bersifat mitogenik pada berbagai sel. Tentunya radikal bebas menjadi berbahaya jika jumlahnya berlebihan dan lebih banyak dari antioksidan yang berada dalam tubuh (Fitria *et al.*, 2013)

2.2 Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Manggis berasal dari hutan tropis teduh pada kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Indonesia atau Malaysia (Prihatman, 2000). Buah manggis merupakan spesies terbaik dari genus *Garcinia*. Berikut klasifikasi dari buah manggis (Miryanti dkk., 2011).

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Famili : Clusiaceae
Genus : *Garcinia*
Species : *Garcinia mangostana* Linn

Komponen buah manggis didominasi oleh kulit (*pericarp*) sebesar 70-75%, sedangkan daging buahnya (*pulp*) hanya 10- 15% dan bijinya (*seed*) 15-20%. Kulit buah manggis bagian luar (*exocarp*) memiliki permukaan yang licin dan keras. Sedangkan kulit manggis bagian dalam (*pericarp*) memiliki ukuran yang lebih tebal dan tekstur yang lebih lunak seperti Gambar 2.1 (Verheij, 1997).



Gambar 2.1 Morfologi buah manggis, exocarp atau kulit buah manggis bagian luar (A), pericarp atau kulit buah manggis bagian dalam (B), pulp atau isi buah (C) (Akao *et al.*, 2008).

2.2.1 Kandungan Manggis

Manggis merupakan tanaman tropis dari negara Asia Tenggara khususnya Indonesia yang memiliki khasiat untuk kesehatan, terutama kandungan pada bagian kulit buahnya. Hasil skrining fitokimia telah diketahui setelah proses ekstraksi untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak fraksi kulit buah manggis. Golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol yang merupakan pelarut polar

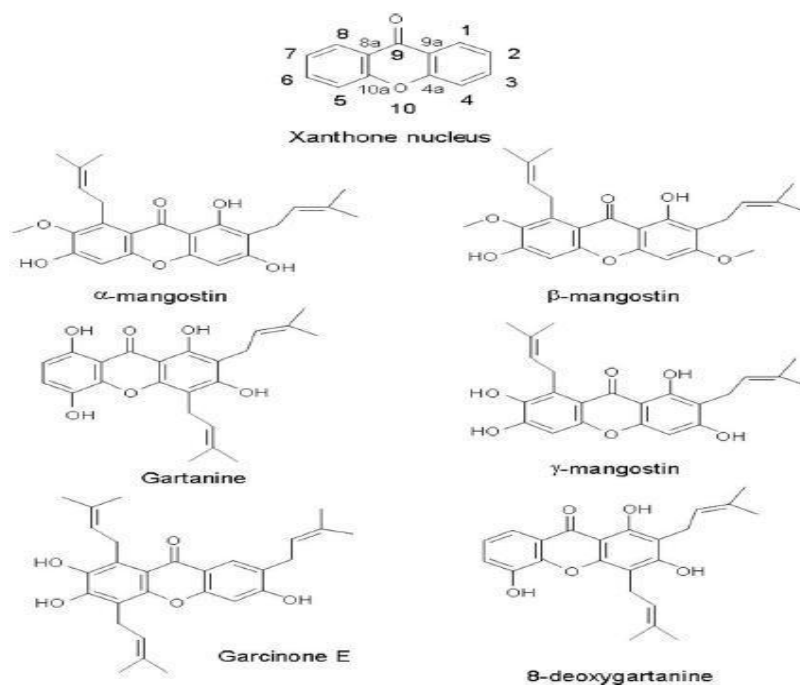
meliputi senyawa flavonoida sebagai antioksidan dan antitumor (Agarwal, 2011), tanin sebagai antimikroba (Min *et al.*, 2008), saponin sebagai antifungi (Barile *et al.*, 2007), triterpenoid sebagai antiinflamasi (Wu *et al.*, 2011) dan *xanthone* sebagai antioksidan (Sugito, 2003). Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan kulit buah manggis mempunyai aktivitas antialergi dan antivirus (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008).

Manggis memiliki banyak manfaat, diantaranya kulit buah manggis sudah lama digunakan sebagai ramuan tradisional untuk mengobati infeksi kulit, luka, dan diare. Studi fitokimia menunjukkan bahwa kulit buah manggis mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti tanin, isoflavon, flavonoid, triterpen, antosianin, *xanthone* (sekitar 95%), polisakarida, senyawa fenol, vitamin B1, B2, C, dan substansi bioaktif lainnya (Priya *et al.*, 2010).

2.2.2 Antioksidan dalam Kulit Manggis

Kulit buah manggis (pericarp) mengandung air sebanyak 62,05%, lemak 0,63%, protein 0,71%, dan karbohidrat sebanyak 35,61%. Kulit buah manggis juga mengandung beberapa unsur seperti natrium, kalium, magnesium, kalsium, besi, zink, dan tembaga. Senyawa-senyawa yang tergolong dalam kelompok *xanthone* meliputi *mangostine*, *mangostenole A*, *mangostinone A*, *mangostinone B*, *trapezefoli xanthone*, *tovophylline B*, *alfa mangostine*, *beta mangostine*, *garcinone B*, *mangostanole*, *flavonoid*, *epicatechin* dan *gartanine*. Senyawa-senyawa tersebut sangat bermanfaat untuk kesehatan (Mardawati dkk., 2008). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *xanthone* memiliki manfaat sebagai antioksidan, antitumoral, anti-inflamasi, antialergi, antibakteri, antifungi dan antivirus. Senyawa xanthon yang paling banyak terkandung

dalam buah manggis adalah α -mangostine dan γ -mangostine. Senyawa turunan *xanthone* lainnya yang sering dijadikan bahan penelitian antara lain β -mangostine, gartanine, garcinone-E, dan 8-deoxygartanine (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008). Struktur kimia senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2.

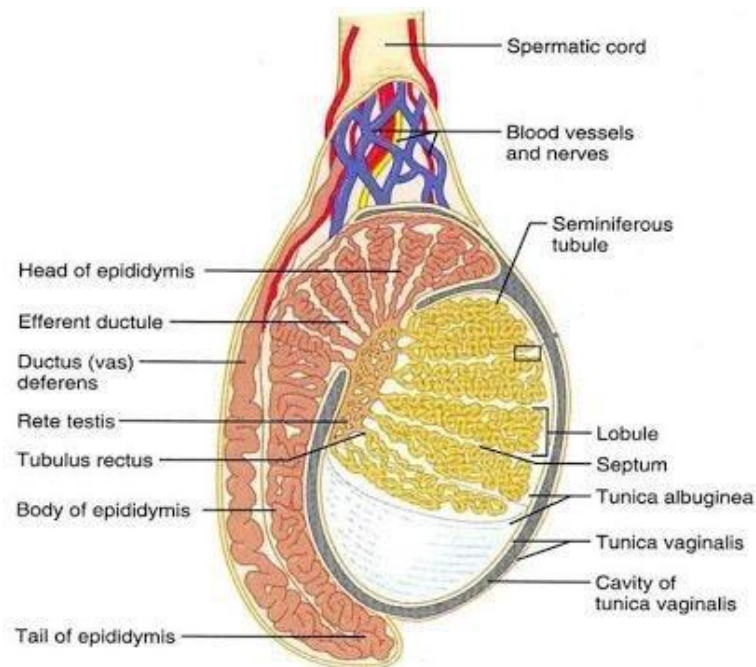


Gambar 2.2 Struktur kimia senyawa turunan *xanthone* yang sering diteliti (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Robert *et al.*, 2003).

2.3 Testis

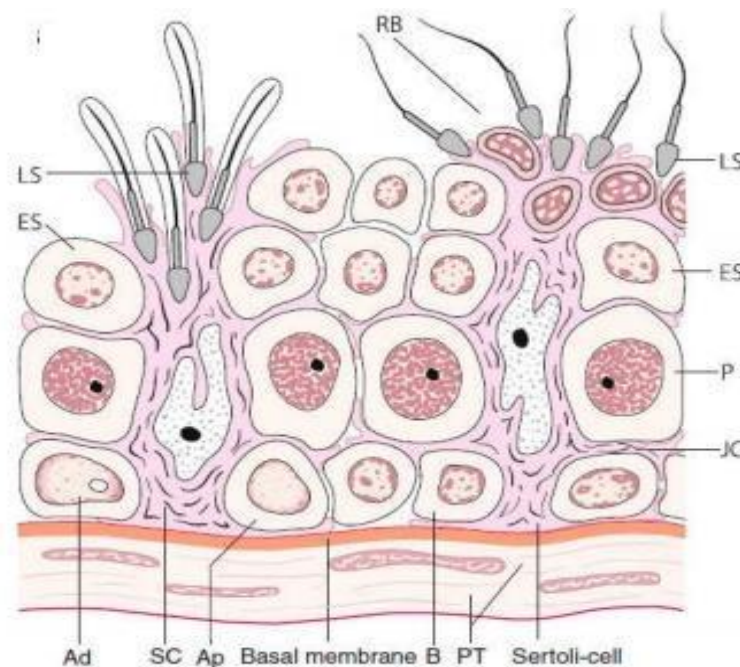
Sistem organ reproduksi jantan terdiri atas organ genital primer dan sekunder. Organ genital primer adalah testis yang mempunyai dua fungsi utama, yaitu untuk menghasilkan sel gamet jantan berupa spermatozoa dan hormon reproduksi. Organ genital sekunder berupa saluran-saluran reproduksi meliputi tubulus rektus, rete testis, vas eferen, epididimis, vas deferens, uretra, dan penis dengan beberapa kelenjar asesoris yang meliputi kelenjar prostat, bulbouretalis, dan vesikula seminalis. Kelenjar-kelenjar asesoris tersebut terletak di antara vas deferens dan uretra, tepatnya di bagian pangkal uretra (Hayati, 2011). Struktur organ reproduksi jantan yang terdiri dari testis dan beberapa organ reproduksi sekunder yang berupa saluran-saluran ditampilkan pada Gambar 2.3 (Bearden dan Fuquay, 1992).



Gambar 2.3 Struktur anatomi testis (Marieb, 2001).

2.3.1 Tubulus Seminiferus

Testis memproduksi gamet jantan (spermatozoa) dimana proses produksinya dinamakan spermatogenesis dan hormon reproduksi jantan berupa androgen (testosteron) yang proses pembentukannya melibatkan reaksi enzimatik untuk menjadi hormon steroid jantan disebut steroidogenesis. Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus, di dalam tubulus seminiferus terdapat sel Sertoli yang berfungsi sebagai penyedia nutrisi bagi perkembangan sel sperma, sedangkan steroidogenesis terjadi di dalam sel *Leydig* yang berada di dalam kompartemen interstitial di antara tubulus seminiferus (Weinbauer *et al.*, 2010). Struktur tubulus seminiferus dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur membran tubulus seminiferus. LS = spermatid panjang, ES = spermatid oval, P = spermatosit, JC = *Blood Testis Barrier*, Ap = *pale spermatogonia*, Ad = *dark spermatogonia*, SC = sel Sertoli, RB = *Residual body*, PT = sel peritubular (Weinbauer *et al.*, 2010).

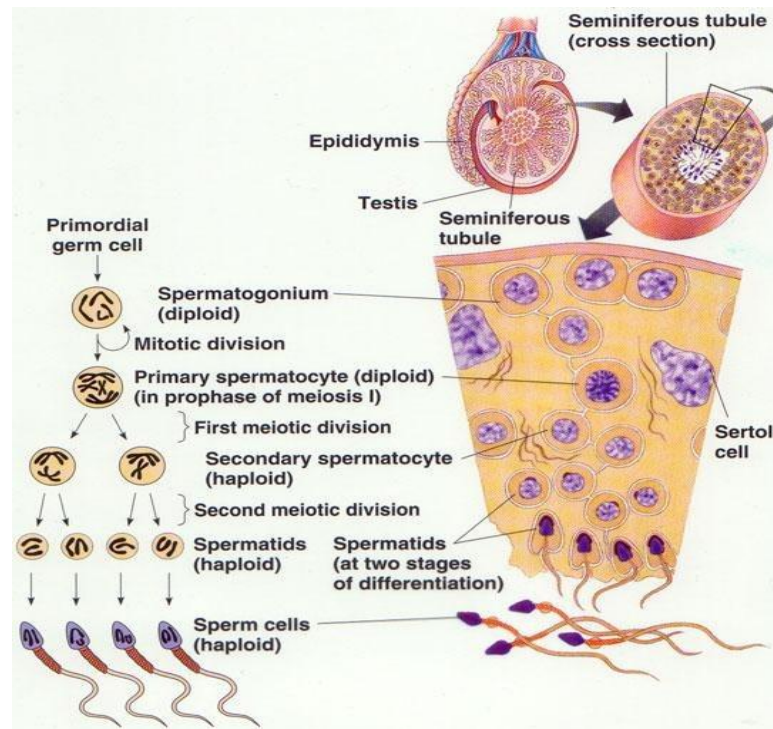
Testis tersusun dari beberapa ruangan yang disebut testicular lobulus (lobulus testis) yang dipisahkan oleh septa. Di dalam lobulus tersebut terdapat tubulus seminiferus. Di dalam tubulus seminiferus inilah merupakan tempat terjadinya spermatogenesis (pembentukan spermatozoa) tepatnya di dalam epitel tubulus seminiferus karena dilapisi oleh lapisan epitel germinal yang mengandung sel-sel spermatogenik, sedangkan di bagian lumen (rongga) tubulus seminiferus terdapat sel-sel spermatozoa hasil dari proses spermatogenesis (Hayati, 2011).

2.3.2 Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses perkembangan sel spermatogonia menjadi sel spermatozoa matang. Pada mamalia, proses ini terjadi di dalam tubulus seminiferus (Costanzo, 2006). Spermatogenesis dibagi menjadi dua tahap, yaitu spermatositogenesis dan spermiogenesis. Proses spermatogenesis dimulai saat organisme masuk masa puber dan secara kuantitatif jumlah spermatozoa yang dihasilkan melalui proses spermatogenesis mengalami penurunan sejalan dengan peningkatan usia dan berakhir ketika organisme itu mati. Spermatogenesis yang terjadi pada tubulus seminiferus mencit berlangsung selama 35 hari dengan empat kali siklus epitel seminiferus. Satu kali siklus epitel seminiferus berlangsung selama 207 ± 6 jam (Hess dan Luiz, 2008).

Sel spermatogenik membentuk lapisan epitel berlapis yang terdiri atas 4-8 lapis sel. Sel-sel ini berkembang secara progresif dari basal ke arah lumen tubulus seminiferus seperti Gambar 2.5. Spermatogonium terletak dalam lamina basalis tubulus

seminiferus, berukuran diameter sekitar 12 μm . Spermatosit primer merupakan sel benih yang terbesar di dalam tubulus seminiferus dengan diameter 17-19 μm , menempati daerah bagian tengah dari epitelium. Spermatosit sekunder terletak lebih ke arah lumen, besarnya lebih kurang setengah dari spermatosit primer. Spermatid merupakan sel-sel yang ukurannya jauh lebih kecil. Dengan nukleus yang mengandung granula kromatin halus dan besar, umumnya terletak dalam kelompok-kelompok dekat lumen dan sel sertoli. Spermatozoa mempunyai bentuk yang ramping, ukuran panjang sekitar 55-65 μm , kepala spermatozoa yang kecil tertanam dalam sitoplasma sel-sel sertoli, ekornya menjulur ke dalam lumen tubulus seminiferus (Mariano, 1986).



Gambar 2.5 Proses spermatogenesis yang menunjukkan tahapan perubahan sel spermatogonia menjadi spermatozoa (Junqueira *et al.*, 2007).

2.4 Mencit (*Mus musculus*)

Panjang ekor mencit adalah 60-105 mm, kurang lebih sama dengan panjang tubuh mencit yaitu 65-95 mm. Mencit memiliki mata hitam besar yang menonjol, telinga bulat dan moncong runcing dengan kumis panjang. Berat badan mencit dewasa jantan maupun betina adalah 12-30 g (Lambert, 2007).

2.4.1 Klasifikasi Mencit

Taksonomi mencit menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Mencit memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih ditunjukkan pada Gambar 2.6. Mencit memiliki siklus estrus teratur yaitu 4-5 hari.

Kondisi ruang untuk pemeliharaan mencit harus senantiasa bersih, kering dan jauh dari kebisingan. Suhu ruang pemeliharaan juga harus dijaga kisarannya antara 18-19°C serta kelembaban udara antara 30- 70% (Akbar, 2010).



Gambar 2.6 Mencit jantan (Akbar, 2010).

Panjang ekor mencit adalah 60-105 mm, kurang lebih sama dengan panjang tubuh mencit yaitu 65-95 mm. Mencit memiliki mata hitam besar yang menonjol, telinga bulat dan moncong runcing dengan kumis panjang. Berat badan mencit dewasa jantan maupun betina adalah 12-30 g (Lambert, 2007).

Menurut Kusumawati (2004), mencit adalah hewan coba yang paling umum digunakan dalam penelitian biomedis yaitu kurang lebih sebanyak (60% - 80%). Berbeda dari hewan coba lainnya, Mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pertumbuhan dalam waktu 4 minggu, mencit dapat mencapai berat badan sekitar 18-

20 gram. Sistem kardiovaskular dibagi menjadi 4 ruang sama dengan mamalia lainnya. Peningkatan suhu tubuh tidak mengubah tekanan darah. Frekuensi jantung dan cardio output berkorelasi dengan ukuran tubuh.

2.5 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan padat, kental, atau cair yang terbuat dari bahan aktif tumbuhan atau produk hewan dengan mengekstraksinya menggunakan pelarut yang paling sesuai. Setelah itu, seluruh atau sebagian besar pelarut akan diperlakukan secara menyeluruh sampai menjadi zat yang ditentukan (Badan POM RI, 2005).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah suatu cara penarikan kandungan kimia dari campuran cair atau padat dengan memakai pelarut yang cocok agar kandungan kimia yang dapat larut terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut dalam bentuk cair. Terdapat dua model ekstraksi, yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin meliputi maserasi, dan perkolasi. Sedangkan cara panas meliputi reflux, soxhlet, digest, infusa, dekokta (Farmakope Indonesia III, 1979).

2.6.1 Metode Ekstraksi

2.6.1.1 Metode Ekstraksi Dingin

Metode ekstraksi dingin terdapat dua macam yaitu maserasi dan perlokasi. Maserasi merupakan proses perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut pada temperatur ruangan dalam waktu 24-48 jam, selanjutnya disaring. Filtrat di pekatkan dengan rotavor, sehingga diperoleh ekstrak kental.

Pemilihan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Handa *et al.*, 2008).

Perkolasi adalah proses ekstraksi dingin dengan mengalirkan pelarut secara kontinyu dalam waktu tertentu pada suhu ruangan. Selanjutnya diuapkan dengan rotafavor sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali volume bahan (Handa *et al.*, 2008).

2.6.1.2 Metode Ekstraksi Panas

Metode ekstraksi panas terdapat lima macam yaitu reflux, digest, soxhlet, infusa, dan dekokta. Reflux adalah prosedur ekstraksi panas dengan teknik penyulingan (destilasi), bahan simplisia direndam dalam sulven air, kemudian direbus sampai titik didih dalam waktu yang ditentukan. Proses ini biasanya diulang 3 hingga 5 kali untuk mendapatkan hasil yang terbaik (Handa *et al.*, 2008).

Merupakan metode ekstraksi dengan cara maserasi kinetik (pengadukan secara kontinyu) menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40°-50°C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan (Handa *et al.*, 2008).

Soxhlet merupakan metode ekstraksi untuk bahan yang tahan panas dengan cara meletakkan bahan yang akan di ekstraksi ke dalam alat ekstraktor Soxhlet. Dalam Soxhlet akan digunakan pelarut yang berfungsi melarutkan senyawa yang akan

diekstraksi. Pelarut ini biasanya adalah larutan yang bersifat non polar seperti metanol, etanol, dan asam asetat. Pelarut tersebut akan diuapkan kemudian dembunkan. Embun hangat yang mengenai material padat akan menyebabkan senyawa yang dikandungnya larut bersama larutan tersebut (Handa *et al.*, 2008).

Infusa adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif dari bahan-bahan nabati yang larut dalam air. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air, pada suhu 90°C selama 15 menit (Handa *et al.*, 2008).

Dekokta adalah proses penyarian yang hampir sama dengan infusa . perbedaannya pada dekokta, sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan pelarut air dipanaskan selama 30 menit dihitung ketika suhu mulai mencapai 90°C (Handa *et al.*, 2008).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rencana Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan melakukan percobaan pemberian ekstrak kulit manggis pada mencit jantan secara per-oral menggunakan sonde. Pola rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Mencit jantan sebanyak 30 ekor diambil secara acak dalam 5 kelompok yaitu K(-) sebagai kelompok kontrol negatif, K(+) sebagai kelompok kontrol positif, P1, P2 dan P3 sebagai kelompok perlakuan dengan 6 kali pengulangan.

3.2 Sampel Penelitian

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan rumus Federer, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu:

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

$$\text{Perhitungan} = (t-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$= 4n-4 \geq 15$$

$$= 4n \geq 19$$

$$= n \geq 5$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan

Hasil dari perhitungan, jumlah minimum pengulangan adalah lima kali pada setiap perlakuan. Maka pada penelitian ini menggunakan lima sampel mencit jantan dengan lima kali pengulangan pada setiap perlakuan dengan seluruh ukuran sampel adalah 30 sampel.

Untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen maka dilakukan koreksi dengan:

$$N = n/(1-f)$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi drop out sebesar 10%

Sehingga,

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 5/(1-10\%)$$

$$N = 5/(1-0,1)$$

$$N = 5/0,9$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6$$

3.3 Variabel Penelitian

Ada tiga variabel yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel bebas dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak kulit manggis dengan berbagai dosis perlakuan. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah jumlah sel spermatogenik dari testis mencit jantan. Variabel kendali dari penelitian ini adalah cara pengenceran ekstrak kulit manggis, cara pemberian perlakuan, cara pengambilan sampel, waktu pemberian perlakuan.

3.4 Definisi Variabel Operasional

Ada tiga definisi variable operasional yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu:

Asap rokok	Asap yang dikeluarkan dari pembakaran rokok kretek yang mengandung komponen toksik utama yaitu karbonmonoksida, nikotin, dan tar.
Ekstrak etanol kulit manggis	Hasil ekstraksi dari kulit buah manggis yang diperoleh melalui metode maserasi dengan menggunakan larutan etanol 96%.
Sel spermatogenik	Merupakan sel spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid mencit yang dihitung menggunakan preparat histopatologis testis dengan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE) dengan perbesaran 100x, kemudian dilanjutkan perbesaran 400x (Legowo dkk., 1996).

3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian pembuatan ekstrak kulit manggis dibuat di divisi Farmakologi, Departemen Kedokteran Dasar Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hewan coba mencit jantan dipelihara di kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Preparat histologi testis dibuat di divisi Patologi, Departemen Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini dimulai pada bulan November-Desember 2018.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan mencit jantan berumur sekitar 2-3 bulan dengan kisaran berat 20 gram sejumlah 30 ekor.

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : rokok kretek, alkohol 70 %, NaCl 0.9 %, formalin 10 %, dan bahan yang digunakan untuk ekstrak kulit manggis antara lain : serbuk kulit manggis, pelarut etanol 96% teknis, suspensator *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC Na) 1%, *aquadest* steril Lampiran 2.

3.6.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain boks papar asap rokok berukuran 40 x 25 x 20 cm dan dibuatkan dua lubang, satu lubang untuk memasukkan rokok ke dalam kandang dan lubang satunya sebagai ventilasi. Kandang mencit,

gunting bedah, *blade*, *scalpel*, pinset, sonde, pot organ, mikroskop.

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak kulit manggis antara lain oven, mesin penggiling, rangkaian ekstraktor batch, termostat, *waterbath*, evaporator vakum, neraca analitik, *moisture analyzer*, kertas saring, korek, rak kaki tiga, api bunsen.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis

Kulit buah manggis yang masih segar dicuci hingga bersih kemudian dipotong tipis lalu dikeringkan kemudian di angin-anginkan. Kulit yang sudah kering tersebut dihaluskan dengan alat penggiling hingga menjadi serbuk, kemudian serbuk tersebut disaring guna mendapatkan serbuk yang lebih halus. Setelah didapatkan serbuk halus maka dilakukan proses ekstraksi.

Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut etanol 96% karena pelarut etanol memiliki sifat yang dapat melarutkan seluruh bahan aktif yang terkandung dalam bahan alami, baik bahan aktif yang bersifat polar, semipolar, maupun non polar (Tiwari *et al.*, 2011). Bubuk kulit manggis ditimbang kemudian dimaserasi dengan etanol 96% selama tiga hari pada suhu kamar, kemudian disaring dan filtratnya dikumpulkan. Maserasi dilakukan tiga kali. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 40 rpm hingga diperoleh ekstrak kental (Padmasari dkk., 2013). Setelah menjadi ekstrak dilakukan pembuatan suspensi ekstrak kulit manggis dengan menggunakan CMC Na 1% sebagai suspensor.

3.7.2 Persiapan Terhadap Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan mencit jantan yang masih hidup. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi lima kelompok, yang terdiri dari dua kelompok kontrol (K+) dan (K-) dan tiga kelompok perlakuan (P1), (P2), (P3) yang akan diberi ekstrak kulit manggis. Pertama tama mencit diadaptasikan dalam kandang dan diberi pakan dan air minum pada pagi dan sore selama tujuh hari. Setelah fase adaptasi selama tujuh hari selesai, selanjutnya dilakukan fase perlakuan pemaparan asap rokok selama 45 hari.

Dosis ekstrak kulit manggis yang digunakan sebagai antioksidan dalam bentuk serbuk yaitu 500 mg dipakai dalam 3 kali sehari, atau 1.500 mg/hari. Suatu bahan obat yang berasal dari serbuk kering yang akan dibuat menjadi ekstrak untuk memisahkan bahan aktif yang diduga berkhasiat obat, pada umumnya didapatkan sejumlah $\pm 10\%$ dari serbuk kering (Meles dkk., 2005). Dosis obat yang dipakai pada manusia (bb 70 kg) dikonversikan pada hewan coba mencit (bb 20 gram) sebesar 0,0026, sehingga dosis ekstrak kulit manggis pada mencit dengan bb 20 gram = $1500 \text{ mg} \times 0,0026 = 3,9 \text{ mg/hari}$ dengan rincian pada Lampiran 1.

K (-) : kelompok kontrol negatif tanpa paparan asap rokok dan diberikan CMC Na 1%.

K(+) : kelompok kontrol positif dengan paparan asap 1 batang rokok selama 1 jam tanpa pemberian ekstrak kulit manggis dan diberi CMC Na 1%.

P1 : kelompok perlakuan dengan paparan asap 1 batang rokok selama 1 jam dengan pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 6,045 mg/gram bb dalam CMC Na 1%.

P2 : kelompok perlakuan dengan paparan asap 1 batang rokok selama 1 jam dengan pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 12,09 mg/gram bb dalam CMC Na 1%.

P3 : kelompok perlakuan dengan paparan asap 1 batang rokok selama 1 jam dengan pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 24,18 mg/gram bb dalam CMC Na 1%.

Masing-masing dosis ekstrak diencerkan dengan menggunakan CMC Na 1% hingga mencapai volume 0,5 ml. Pemberian ekstrak kulit manggis menggunakan sonde lambung ukuran 1 ml satu kali pemberian sehari selama 45 hari berturut-turut.

Paparan asap rokok pada mencit jantan menggunakan asap dari rokok kretek. Setelah dilakukan pemaparan selama 1 jam, kemudian mencit diistirahatkan, lalu semua mencit disonde dengan ekstrak kulit manggis sesuai dosis yang sudah ditentukan untuk P1, P2 dan P3 dalam CMC Na 1% hingga volume 0,5 ml. Untuk K(-) dan K(+) diberi CMC Na 1% sebanyak 0,5 ml/ekor/hari.

3.7.3 Tahap Pengambilan Sampel

Setelah 45 hari perlakuan, semua mencit dikorbankan terlebih dahulu dengan cara dieuthanasi dengan menggunakan ether, setelah itu mencit dipreparasi, kemudian testis diambil dengan cara pembedahan, dan dimasukkan ke dalam pot plastik berisi formalin 10%. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Departemen Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, dengan menggunakan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE) Lampiran 3.

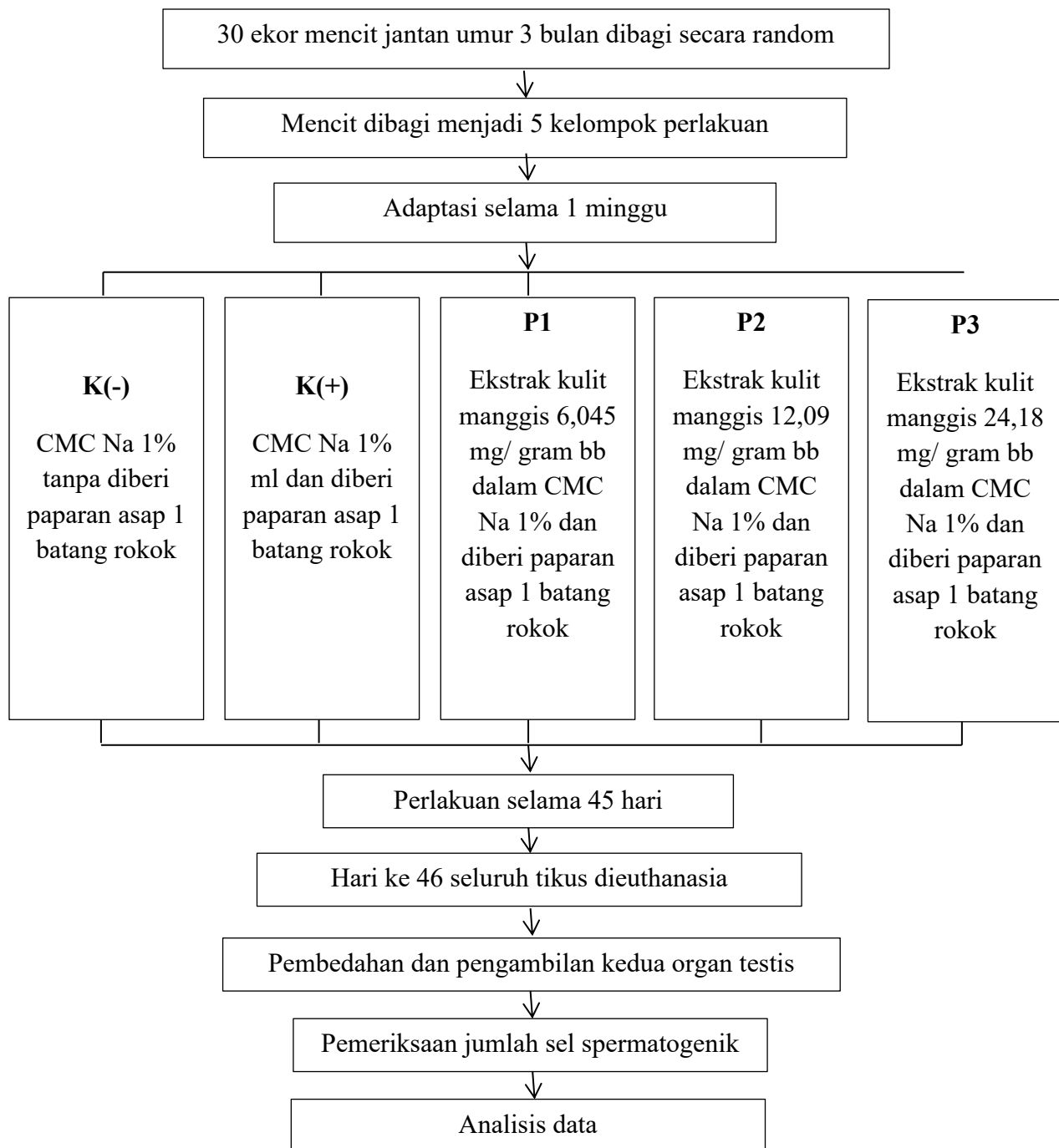
3.7.4 Tahap Penelitian

Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop *Olympus* didukung *Opticlab viewer* dengan menggunakan perbesaran 100x, kemudian dilanjutkan perbesaran 400x. Jumlah sel spermatogenik dihitung pada semua lapang pandang yang tubulus seminiferusnya utuh. Cara penilaiannya dengan melakukan perhitungan pada lima lapang pandang yang berbeda dalam satu preparat histologi testis dimulai dari sudut kiri, kanan, bagian atas, bagian bawah serta bagian tengah (Legowo dkk., 1996). Setiap lapang pandang difoto dan dilakukan perhitungan terhadap jumlah sel spermatogenik.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh akan disusun dalam tabel yang selanjutnya jumlah sel spermatogenik akan dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada tingkat signifikansi 5%, apabila terdapat perbedaan yang bermakna maka dilakukan dengan uji jarak dengan Duncan dengan menggunakan *Statistical for Social Science* (SPSS) for *Windows* tingkat signifikansi 5%. Berdasarkan hasil penghitungan dilakukan analisis terhadap jumlah sel spermatogenik (Kusriningrum, 2011).

3.9 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

BAB IV HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil analisis statistik rerata sel spermatogenik pada penelitian yang dilakukan tentang pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis terhadap jumlah sel spermatogenik mencit jantan sebanyak 30 ekor yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok dengan 6 ulangan yaitu yakni kelompok K(-) tanpa paparan asap rokok dan diberikan CMC Na 1%, K(+) hanya dipapar asap rokok satu batang per hari dan diberi CMC Na 1%, (P1) dipapar asap rokok satu batang dilanjutkan diberi ekstrak kulit manggis dosis 6,045 mg per hari, (P2) dipapar asap rokok satu batang dilanjutkan diberi ekstrak kulit manggis dosis 12,09 mg per hari dan (P3) dipapar asap rokok satu batang dilanjutkan diberi ekstrak kulit manggis dosis 24,18 mg per hari dilakukan penghitungan jumlah sel spermatogenik mencit jantan secara mikroskopis menggunakan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE. Pengamatan dilakukan pada lima lapang pandang dimulai dari kiri ke kanan, kemudian kebawah dimulai dari kiri lagi lalu ke kanan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

Hasil uji statistik menggunakan ANOVA, data berdistribusi normal dan memiliki varian yang homogen dengan signifikansi ($p < 0,05$). Hasil uji normalitas, homogenitas, uji data statistik dengan ANOVA serta Uji Jarak Berganda Duncan untuk pengamatan jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid) dapat dilihat pada Lampiran 4.

Pada uji ANOVA, hasil jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada tiap kelompok dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan Uji Jarak Berganda

Duncan. Uji Jarak Berganda Duncan digunakan untuk uji lanjut dalam membandingkan rata-rata jumlah spermatogonium, spermatosit primer, spermatid antar perlakuan dalam penelitian ini. Selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rata-rata sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid) mencit jantan pada semua perlakuan.

No	Perlakuan	Spermatogonium	Spermatosit Primer	Spermatid
1	K-	56,08 ^e ± 3,97	76,83 ^e ± 1,57	82,84 ^e ± 2,63
2	K+	28,2 ^a ± 1,75	30,32 ^a ± 3,97	44,28 ^a ± 4,72
3	P1	40,48 ^c ± 2,51	53,20 ^c ± 3,46	66,84 ^c ± 5,97
4	P2	49,88 ^d ± 3,94	62,68 ^d ± 3,34	76,80 ^d ± 1,81
5	P3	33,92 ^b ± 0,76	47,68 ^b ± 4,27	55,56 ^b ± 4,02

Keterangan: Superskrip yang berbeda^(a,b,c,d,e) dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$).

K- : tidak dipapar asap rokok, diberi CMC Na 1%.

K+ : dipapar asap rokok, diberi CMC Na 1%.

P1 : dipapar asap rokok dan diberi ekstrak kulit manggis dengan dosis 6,045 mg/gram bb.

P2 : dipapar asap rokok dan diberi ekstrak kulit manggis dengan dosis 12,09 mg/gram bb.

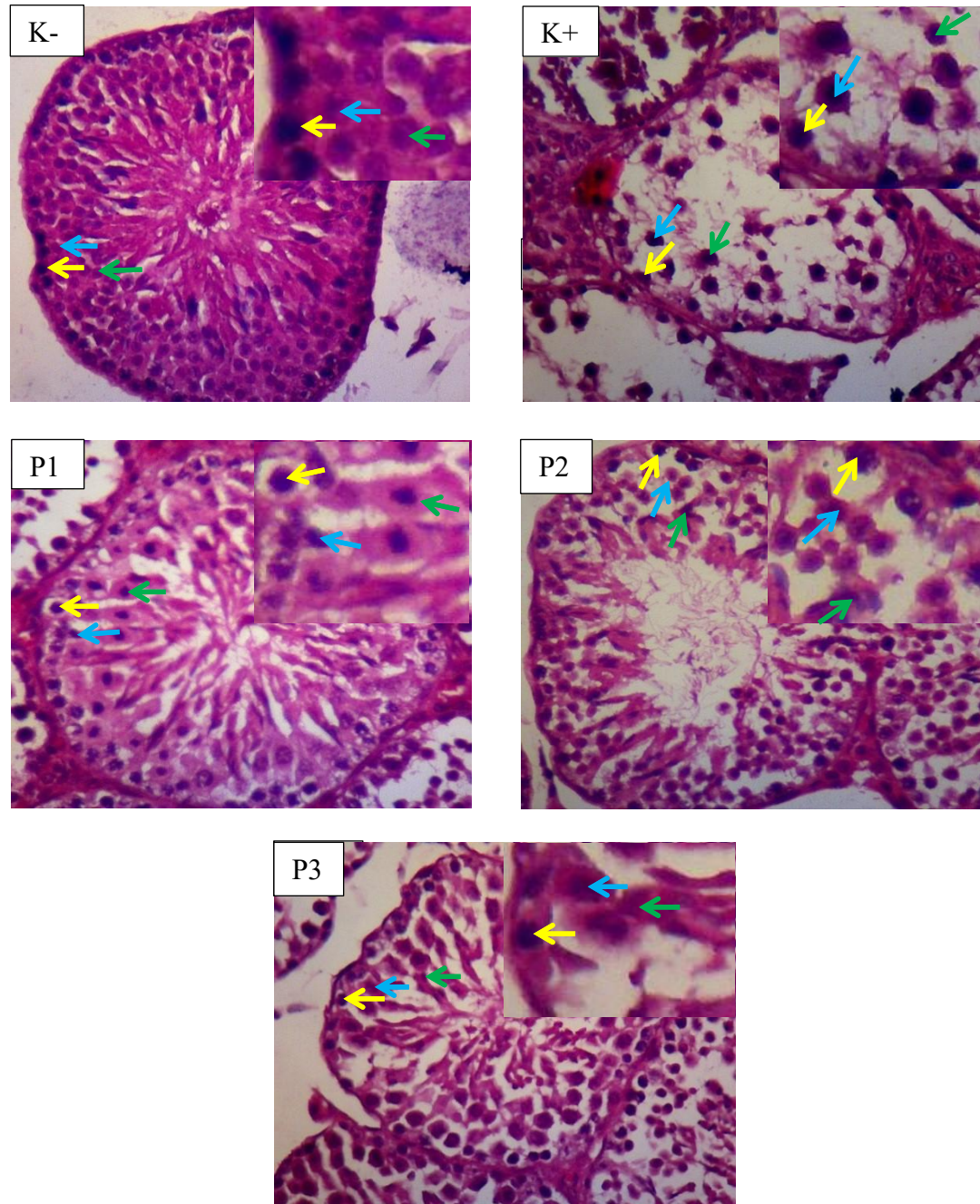
P3 : dipapar asap rokok dan diberi ekstrak kulit manggis dengan dosis 24,18 mg/gram bb.

Rerata jumlah sel spermatogonium menunjukkan K+ berbeda nyata terhadap kelompok P1, P3, P2, hasil terbesar ditunjukkan pada kelompok K-. Urutan jumlah sel spermatogonium dari yang terkecil yaitu K+, P1, P3, P2 dan K-. Jumlah sel spermatosit primer terkecil didapatkan pada kelompok K+, hal ini menunjukkan hasil yang nyata

dengan kelompok P1, P2 dan P3.. Jumlah sel spermatosit primer terbesar diperoleh K- kemudian kelompok P2, P1, P3.

Hasil uji statistik menunjukkan rata-rata sel spermatid pada mencit jantan terkecil didapatkan pada kelompok K+, data tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata pada kelompok K- dan kelompok perlakuan, baik P1, P2 maupun P3. Pada kelompok P3 mengalami penurunan rerata sel spermatid yang signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok P2. Rata-rata sel spermatid mencit jantan tertinggi diperoleh pada kelompok K-. Urutan rata-rata sel spermatid mencit jantan dari terkecil yaitu K+, P1, P3, P2, dan K-.

Berikut merupakan gambaran histopatologi testis mencit yang dipapar oleh asap rokok dengan pemberian ekstrak kulit manggis.



Gambar 4.1 Histopatologis tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*). Tanda panah kuning menunjukkan sel spermatogonium, biru menunjukkan sel spermatosit primer, dan hijau menunjukkan sel spermatid.

BAB V PEMBAHASAN

Penelitian yang bertujuan untuk membuktikan efek ekstrak kulit manggis terhadap jumlah sel spermatogenik mencit jantan yang dipapar asap rokok. Hasil analisis rerata jumlah sel spermatogenik secara kuantitatif membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis yang berbeda mampu mempertahankan dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik mencit jantan yang dipapar asap rokok.

Asap rokok berpotensi meningkatkan radikal bebas berupa ROS di dalam tubuh seperti Superoksida (O_2^-), radikal Hidroksil ($OH^\cdot$) dan radikal Peroksil (H_2O_2). Radikal bebas dalam jumlah berlebih akan menyebabkan stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif yang berlangsung lama akan menyebabkan sel nekrosis. Radikal bebas merusak sel dengan cara merusak membran sel terlebih dahulu dengan cara radikal bebas berikatan secara kovalen dengan enzim atau reseptor di membran sel sehingga mengubah aktivitas komponen membran sel. Kerusakan sel menyebabkan perubahan struktur dari membran serta menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel (Muliarta dkk., 2009).

Testis merupakan tempat berlangsungnya proses spermatogenesis yang bersifat sangat rentan terhadap proses oksidasi dan radikal bebas karena memiliki *Superoxide Dismutase* (SOD) dalam jumlah yang sedikit. Radikal bebas ini akan menimbulkan gangguan pada spermatogenesis dan membran sel spermatogenik. Membran sel spermatogenik mengandung sejumlah besar asam lemak tak jenuh rantai ganda (Sukmaningsih dkk., 2011).

ROS akan berikatan dengan asam lemak tak jenuh rantai ganda dalam membran sel dan akan terjadi reaksi peroksidasi lipid dari membran sel tersebut, menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA) yang merupakan salah satu tanda terjadinya stres oksidatif dalam tubuh (Samik dan Safitri, 2017). Akibat lain dari peningkatan produksi radikal bebas adalah terjadinya penurunan enzim antioksidan seperti *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Glutathione* (GSH) yang mengakibatkan produksi dari superoxide anion dan radikal hidroksil yang tidak terkendali. Berbagai kerusakan oksidatif yang dialami oleh mitokondria dari berbagai sel-sel di organ testis ini dapat memicu mitokondria melepaskan cytochrome-c dan *Apoptosis Induction Factor* (AIF) dari mitokondria ke sitoplasma sel, sehingga memicu terjadinya apoptosis dan nekrosis pada sel-sel spermatogenik mencit jantan sehingga juga menyebabkan penurunan sel spermatogenik (Herr dan Debatin, 2011).

Berdasarkan paparan diatas sejalan dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan jumlah hitung terkecil sel spermatogenik di dapatkan pada kelompok mencit yang dipapar asap rokok tanpa pemberian terapi ekstrak kulit manggis. Data tersebut membuktikan bahwa asap rokok menyebabkan toksisitas pada sel spermatogenik dengan menurunkan jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid pada testis mencit.

Pembentukan radikal bebas dalam jaringan sel tubuh merupakan aktivitas normal, namun kehadirannya dapat merugikan fungsi sel termasuk fungsi spermatozoa. Untuk menanggulangi hal tersebut, maka sel akan memproduksi antioksidan sebagai enzim penangkalnya. Dalam keadaan normal, keseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan tetap dipertahankan. Kurangnya antioksidan dalam tubuh

dengan jumlah radikal bebas yang meningkat dapat mengakibatkan gangguan infertilitas (Lewis dan Aitken, 2005). Kemampuan fraksi pericarp manggis sebagai antioksi dan akan mampu menetralsir radikal bebas. Moongkarndi *et al.*, (2004) melaporkan bahwa pada dosis tertentu, kulit buah manggis mampu bersifat sebagai antioksidan.

Secara alamiah terdapat antioksidan endogen seperti SOD yang dapat melindungi sel dari radikal bebas (Dietrich, 2016; Meles *et al.*, 2022). Terdapat beberapa enzim di dalam sel yang berasal dari sistem non-enzimatik yang berfungsi menonaktifkan radikal bebas. SOD, katalase dan GSH merupakan enzim yang berfungsi melindungi sel dari cedera radikal bebas. Enzim katalase dalam peroksida mengubah H_2O_2 menjadi $O_2 + 2H_2O$. Selain itu, antioksidan eksogen meliputi vitamin E, A dan C dan β karoten, juga dapat menghambat aktivitas radikal bebas (Arimbi dkk., 2015).

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak kulit manggis dapat mempertahankan dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik yang dipapar oleh asap rokok ditunjukkan dengan hasil rerata jumlah sel spermatogenik kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok K+. Asap rokok yang menginduksi terjadinya stres oksidatif dapat dihambat oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak kulit manggis.

Kulit manggis mengandung *xanthone* yang dapat menstimulasi enzim SOD yang merupakan antioksidan primer dalam tubuh dan juga berperan dalam menghambat peroksidasi lipid (El-Segaey *et al.*, 2007; Lingga, 2012). SOD berfungsi mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi rantai dengan

cara memberi satu elektron dan mengubahnya menjadi senyawa yang lebih stabil sehingga radikal bebas yang diakibatkan asap rokok dapat dihambat oleh *xanthone*. SOD berfungsi melindungi hancurnya sel-sel di dalam tubuh (Yomes, 2006; Riady, 2014). Pada penelitian yang dilakukan Arsana (2014) menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis berpengaruh signifikan meningkatkan kadar SOD.

Mekanisme kerja *xanthone* melalui 3 jalur yaitu, sebagai pemberi atom hidrogen, menghambat peroksidasi lipid, dan menangkap radikal bebas. Diketahui dari penelitian Kurniawati (2011) bahwa potensi antioksidan pada kulit manggis relatif tinggi sebagai penangkap radikal bebas (*radikal scavenger*) dengan nilai IC₅₀ (11-21 ppm). Sifat antioksidan di dalam ekstrak kulit manggis melebihi vitamin E dan vitamin C, sehingga *xanthone* sangat dibutuhkan di dalam tubuh untuk menyeimbangkan peroksidasi dan menghambat kerusakan sel (Miryanti dkk., 2011; Arsana, 2014). Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Puspitasari (2013) yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit manggis dapat meningkatkan kadar SOD sehingga dapat meningkatkan jumlah sel spermatogenik pada mencit jantan yang dipaparkan asap rokok selama 32 hari.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa kelompok P2 dengan dosis 12,09 mg/ gram bb merupakan dosis optimum antioksidan ekstrak kulit manggis dalam mempertahankan dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik akibat paparan asap rokok jika dibandingkan dengan kelompok P3 dan P1. Pemberian ekstrak kulit manggis pada kelompok P3 dengan dosis 24,18 mg/hari terjadi penurunan jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid jika dibandingkan dengan kelompok P1, dan P2. Hal ini terjadi karena antioksidan pada ekstrak kulit manggis diduga memproduksi prooksidan (Bouayed dan Bohn, 2010).

Menurut penelitian Hayati *et al.*, (2014) senyawa *xanthone* dalam kadar yang tinggi berfungsi sebagai oksidan dengan menghambat fungsi aromatase menggunakan γ -mangostin. Aromatase adalah enzim yang mengkatalisis testosteron menjadi estrogen. Oleh sebab itu, dosis yang tinggi dari ekstrak kulit buah manggis akan meningkatkan testosteron. Testosteron yang terlalu tinggi dapat mengganggu fungsi testis yang menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogenik sehingga dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana. Linn*) dapat mempertahankan jumlah sel spermatogenik mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok.

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat beberapa saran diantaranya:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana. Linn*) dengan dosis yang sama terhadap kadar hormon testosteron pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok, sehingga manfaat yang diperoleh dapat lebih maksimal dan komprehensif.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur konsentrasi enzim antioksidan seperti SOD dan GSH untuk melihat mekanisme hambatan antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana. Linn*) terhadap paparan asap rokok.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A. 2011. Pharmacological activities of flavonoid. Int Journal Pharmacology SCL Nanotech 4(2), 1394
- Agrawal, A. 2011. Pharmacological Activities of Flavonoids: A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. Vol. 4(2) :1394-1398.
- Ahmadnia, H., Ghanbari, M., Moradi, M.H., and Khajee-Doulee, M. 2007. Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats. Jurnal Urology 4 (1): 59-63.
- Aina N. Effect of exposure to cigarette smoke on spermatogenesis and quality of spermatozoa of mice. Makara Kesehatan. 2005; 12:1-10.
- Aina, N. 2005. Pengaruh paparan Asap Rokok Terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) galur Swiss [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. Hal 1-2, 60-61.
- Akao, Y., Nakagawa, Y., Munekazu Iinuma, dan Yoshinori Nozawa. 2008. Anti-Cancer Effects of Xanthones from Pericarps of Mangosteen. International journal of Molecular Sciences. 9: 355-370.
- Akbar. B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Adabia Press UIN Jakarta. Jakarta. Ed 1,-7.
- Alvi B. P. D. F., Aulanni'am, Wuragil ,D. K. 2013. Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linn*) terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histopatologi Bronkus pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar Asap Rokok. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang.
- Andriawati, F. 2009. Efek Amfetamin Terhadap Spermatogenesis Mencit. http://biologyonly.com/2009/09/efekamfetaminterhadapspermatogenesis_02.html. [21 Desember 2021].
- Arimbi, Azmijah, A., Darsono, R., Plumerastuti, H., Widiyatno, T.V., dan Legowo, D. 2015. Buku Ajar Patologi Umum Veteriner. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press.

- Arsana, I.N. 2014. Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) dan Pelatihan Fisik Menurunkan Stress Oksidatif pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Selama Aktivitas Fisik Maksimal. Disertasi. Universitas Udayana. Denpasar.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI, 2013, Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2010), Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI, 2013, Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2018), Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2005. Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. Info POM. 6:1-12.
- Barile, E. Bonanomi, G., Antignani, V., Zolfaghari, B., Sajjadi, S., Scala, F., Lanzotti, V. 2007. Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. *Phytochemistry* 68, 596 – 603.
- Batubara, I. V. D., Wantouw, B., Tendean, L. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, Volume 1 (1) : 330-337.
- Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1992. *Applied Animal Reproduction*. 3rd edition. Prentice-Hall Inc : New Jersey.
- Bouayed, J., and T. Bohn. 2010. Exogenous antioxidant double edge swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 4: 228-237.
- Costanzo, L.S. 2006. *Physiology in Reproductive Physiology*. 3rd edition. Saunders. pp 441-449.
- El-Segaey, O., A. Ab-Allah and S.A. Al-Nooman. 2007. Experimental Study of Antioxydant and Hepatoprotective Effects of Clove and Cardamom in Ethanol Induced Hepatotoxicity. *Tanta Medical Science Journal*. 2(1):27-36.
- En, Y., Primarizky, H., Widjiati, W. and Luqman, E., 2020. The effect of nicotine per inhalation on the diameter and epithelium thickness of the seminiferous tubules of rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 34(1), pp.209-215.
- Farmakope Indonesia 1979, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal:74.

- Fitria, R.I.N., R Triandini, Jubhar C.M, dan Ferry F.K. 2013. Merokok dan oksidasi DNA. *Sains Medika* 5(2): 113-120.
- Fitriani, E., Kartini, E., dan Widya. 2010. The effect of cigarettes smoke exposed causes fertility of male mice (*Mus musculus*). *Jurnal Natural*. 10(2):12-17.
- Gunawan, P.P., Turalaki, G.L.A., Tendean, L.E.N., 2017. Pengaruh pemberian pasta tomat (*Slonaum lycopersicum*) terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok. *Jurnal e Biomedik* 5(4):1-14.
- Gunawan, P.P., Turalaki, G.L.A., Tendean, L.E.N., 2017. Pengaruh pemberian pasta tomat (*Slonaum lycopersicum*) terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok. *Jurnal e Biomedik* 5(4):1-14.
- Handa, S.S., Singh Khanuja, S.P., Longo, G., Rakesh, D.D. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology. Trieste.
- Hayati, A. 2011. Spermatologi. Airlangga University Press. Surabaya
- Hayati, A., Karolina, L., Subani, N. D., and Yudiwati, R. 2014. The potencial of *Garcinia mangostana* pericarp extract on spermatogenesis and sperm quality of mice (*Mus musculus*) after 2-methoxyethanol exposure. *Journal Applied Environmental Biology Science*. 4(4)47-51.
- Herr, I., and K. M. Debatin. 2011. Cellular Stress Response and Apoptosis in Cancer Therapy. *Blood Reviews*. 98(9):2603-2614.
- Hess, R.A. and Luiz, R.D.F. 2008. Molecular mechanisms in spermatogenesis, chapter I spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. Landes Bioscience and Springer Science Business Media.
- Karim, D. 2011. Pengaruh Paparan Asap Rokok Elektrik Terhadap Motilitas, Jumlah Sperma dan Kadar MDA Testis Mencit (*Mus musculus L.*) [Tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara. Hal 1, 60-61.
- Kleeman, M.J., Robert, M.A., Riddle, S.G., Fine, O.M., Hays, M.D., Schauer, J.J. and Hanningan, M.P. 2008. Size distribution of trace organic spesies emitted from biomass combustion and meat charbroiling. *Athmospheric Environment*. 42(13):3059-3075.
- Kosem, N., Han, Y.H. and Moongkarndi, P. 2007. Antioxidant and Cytoprotective Activities of Methanolic Extract from *Garcinia Mangostana Hulls*. *Science Asia. Journal Agriculture Food Chemistry*. 33: 283-292.

- Kurniawati, A. 2011. Evaluasi Biomassa, Kadar dan Profil Derivat Xanthone Serta Potensi Antioksidan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dari Beberapa Tipe Agroekologi Sentra Produksi Manggis [Disertasi Pascasarjana]. Institut Pertanian Bogor. Hal. 62.
- Kusriningrum, R.S. 2011. Buku Ajar Perancangan Percobaan Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 31-52.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Halaman 9.
- Lambert, E., Straznicky, N., Schlaich, M., Esler, M., Dawood, T., Hotchkin, E., and Lambert, G. 2007, Differing Pattern of Sympathoexcitation in Normal- Weight and Obesity Related Hypertension.
- Legowo, D., S.A. Sujarwoda I.S. Hamid. 1996. Dampak Penggunaan Estrogen Jangka Lama pada Gambaran Histopatologi Sel Hati dan Ginjal Serta Berat Badan Mencit Betina. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga . Surabaya.
- Lewis, and Aitken, 2005. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. Reproductive BioMedicine Journal 322 (1), 33-41.
- Lingga, L. 2012. The Healing Power of Anti-Oxidant. PT Elex Media Komputindo. Jakarta. 1-288.
- Mardawati E, Achyar, C.S., dan Marta H. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Laporan Akhir Penelitian. Bandung. Fakultas Teknologi Industri Pertanian UNPAD. hlm 2-3.
- Mardiana, L. 2011. Ramuan dan Khasiat Kulit Manggis. Jakarta: Penebar Swadaya. Halaman 6
- Mariano, S. H. 1986. Histologi Manusia. Edisi V. EGC : Jakarta. Junqueira, L. C., Carneiro, J., and Robert. 2007. Histologi Dasar Edisi ke-8. EGC : Jakarta. Hal 419-432.
- Marieb, E.N. 2001. Human Anatomy and Physiology. San Fransisco : Benjamin Cummings Imprint of Addison Wesley Longman Inc.
- Meles, D., Rachmawati, K., Hamid, I., Mustofa, I., Wurlina, W., Suwasanti, N., Putri, D. and Utama, S., 2022. α -Tocopherol Prevents Sperm Apoptosis and Necrosis in Rats Exposed to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Veterinary Medicine International*, 2022, pp.1-9.

- Min, B.R., Pinchak, W.E., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G., dan Anderson, R. 2008. Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay*. 3(2), 66-73.
- Miryanti, Y., S. Lanny., B. Kurniawan., dan I. Stephen. 2011. Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). Universitas Katolik Parahyangan. Bandung.
- Mitchell, R. N., V. Kumar., A. K. Abbas and N. Fausto. 2008. Robbins & Cotran Buku Saku Dasar Patologis Penyakit. ECG. Jakarta. Edisi 7
- Moongkarndi, P., Kosema, N., Kaslungka, S., Luanratana, O., Pongpan, N., dan Neungton, N. 2004. Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (Mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *Journal of Ethnopharmacol* 90, 161-166
- Moongkarndi, P., N. Kosem, S. Kaslungka, O. Luanratan, N. Pongpan, N. Neungton. 2004. Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *Journal of Ethnopharmacology*. 90: 161–166.
- Muliarta, I Ketut G., Siwahyuni, E., dan Yulawati. 2009. Pemberian kombinasi vitamin c dan e peroral memperbaiki kerusakan hepar akibat paparan asap rokok kretek sub kronik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 25(1):23-27
- Noverina, A. 2011. Kasiat Fantastis Kulit Manggis, Anti Kanker, Anti Diabetes, Anti Kolesterol. Ed. Cetakan 1. Gramedia Widiasarana Indonesia. Jakara.
- Padmasari. 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum Roxb.*). Bali, Farmasi FMIPA Universitas Udayana.
- Pedraza-Chaverri, J., N. Cárdenas-Rodríguez, M. Orozco-Ibarra, Jazmin M. Pérez-Rojas. 2008. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*. 46: 3227–3239.
- Permatasari FR, Marhendra APW, Aulanni'am. Studi Terapi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) terhadap Penurunan Kadar Malondialdehyde (MDA) pada Organ Testis dan Jumlah Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) Hasil Induksi Paparan Asap Rokok. Malang: Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, 2014; p. 2-6.
- Powers, S.K., and Jackson, M.J. 2008. Exercise- Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Journal NIH Public Access*. 88 (4): 1243-1276.

- Prawira A, ST, Soeng S. The Effect of Mangosteen Peel Extract on Sperm Motility and Sperm Count of Swiss Webster Mice Induce by Hard Physical Exercise. *Journal of Medicine and Health*. 2015 February; 1.
- Prihatman, K. 2000. Manggis (*Garcinia mangostana L.*). Kantor Deputy Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi BPP Teknologi. Jakarta.
- Priya, Vishnu, Mallika Jainu, Surapaneni Krishna Mohan, Karthik B, Saraswathi P., Chandra Sada Gopan V. S. 2010. Toxicity Study of *Garcinia Mangostana* Linn. Pericarp Extract in Rats. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*. 1(3): 633-637.
- Puspitasari, I. 2013. Pengaruh Pemberian Teh Cengkih (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Gambaran Histopatologi Testis Mencit (*Mus musculus*) Yang Dipapar Asap Rokok [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 30.
- Rahayu, I.D., B. Prijadi dan A.N.D. Lovita. 2013. Pengaruh Pemberian Vitamin E terhadap Kadar Hemoglobin Maternal Tikus Bunting yang Dipapar Asap Rokok Subakut. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya.
- Rajpurkar A, Jiang Y, Dhabuwala CB, Dunbar JC, Li H. 2002. Cigarette smoking induces apoptosis in rat testis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. Hal:21:243-8
- Ramlau HCH, Thulstrup AM, Olsen J, Bonde JP. Parental subfecundity and risk of decreased semen quality in the male offspring: A follow-up study. *Am J Epidemiol*. 2008;167(12):1458-64.
- Riady, W.A. 2014. Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana*) Menghambat Peningkatan F2 Isoprostano Urin Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Dipapar Asap Rokok. Tesis. Universitas Udayana. Denpasar. 73-74.
- Richa, Y. 2009. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Rhizoma Binahong (*Anredera cordifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.: Surakarta.
- Robert, K.M. 2003. Sel Darah Merah dan Putih. In: Anna, P.B., dan Tiara, M.N. (editor). *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC. Halaman. 730.
- Samik. A. and Safitri, E. 2017. Potency of mycotoxin binders on MDA level, expressions of caspase 9 and caspase 3 in the uterus of mice exposed to zearalenone. *Iraqi J.Vet Sci*. 31(1):29-33.

- Singh, C.R., and Kathiresan, K., 2015. Effect of cigarette smoking on human health and promising remedy by mangroves. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 5 (2),162–167.
- Slater, T.F. 1984. Free Radical Mechanisms In Tissue Injury. *Journal Biochem.* 222: 1.
- Smith dan Mangkoewidjojo. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: UI Press. Halaman: 276.
- Soewono S, dan Khaerunisa S, 2016. Flavonoid. Ed 1. Airlangga University Press (AUP) Surabaya. pp: 9-15
- Sugito, J. 2003. Kamus Pertanian Umum. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suhaj, M. 2006. Spice Antioxidants Isolation and Their Antiradical Activity: A Review. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 531-537.
- Sukmaningsih, A.A.S.A. 2009. Penurunan jumlah spermatosit pakiten dan spermatid tubulus seminiferus testis pada mencit (*Mus musculus*) yang dipaparkan asap rokok. *Jurnal Biologi* 13(2):31-35.
- Sukmaningsih. A. A. Sg. A., I G. A. M. Ermayanti, N. I. Wiratmini, N. W. Sudatri. 2011. Gangguan Spermatogenesis Setelah Pemberian Monosodium Glutamat pada Mencit (*Mus musculus L.*). *Jurnal Biologi*. XV. (2):49-52.
- Sun, T. and Ho, C.T. 2005. Antioxidant Activities of Buckwheat Extracts. *Food Chemistry* 90: 743-749.
- Taib, I.S., Budin, S.B., Ghazali, A.R., Jayusmas, P.A., Louis, S.R., and Mohamed, J. 2012. Fenitrothion induced oxidative stress and morphological alterations of sperm and testes in male sprague-dawles rats. *Clinics* 68 (1): 93-100
- Tirtosastro, S. 2010. Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok. *Buletin tanaman tembakau, serat & minyak industri* 2(1):33-43.
- Unitly, A. J. A., Kusumorini, N., Agungpriyono, S., Satyaningtijas, A.S, dan Boediono, A. 2014. Perubahan kualitas spermatozoa dan jumlah sel-sel spermatogenik tikus yang terpapar asap rokok. *Jurnal Kedokteran Hewan* 8(2):116-119.
- Vanlangenakker, N., Berghe, V. T., Krishko, D. V., Fetjens N. and Vandernabeele, P. 2008. Molecular Mechanisms and Pathophysiology of Necrotic Cell Death: *Current Molecular Medicine*. Pages: 207-220.

- Verheij, E.W.M. 1997. *Garcinia mangostana* L. E.W.M. Verheij and R.E. Coronel (Eds). Edible Fruits and Nuts. *Plant Resources of SouthEast Asia, Bogor*. Page: 220-225.
- Vine MF. Smoking and male reproduction: A Review. *Int J Androl*. 1996;19(6):323-37.
- Weinbauer, G.F., Craig, M.L., Manuela, S., and Eberhard, N. 2010. Physiology of testicular function. *Journal of Andrology* Vol. 17: 11-59. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* . Volume 3. No.2. Halaman: 59-68.
- WHO. 2019. World Health Organization (WHO) <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/324846/WHO-NMH-PND-19.1-ind.pdf> [20 Januari 2022].
- Wu, C., You-Cheng, H., Jin-Cherng, L., Li-Wei, L., Yung-Ta, L., Hui Ching. 2011. Triterpenoid contents and anti-inflammatory properties of the methanol extracts of *ligustrum* species leaves. *Molecules* 16, 1-15.
- Wuisan, M., Tendean, L., Rumbajan, J.M., 2016. Pengaruh ekstrak kulit buah manggis *Garcinia mangostana* L. terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapari asap rokok. *Jurnal e Biomedik* 1(4):193-198.
- Yomes, A.T. 2006. Sifat Prooksidan dan Antioksidan Vitamin C dan Teh Hijau pada Sel Khamir *Candida* sp. Berdasarkan Peroksidasi Lipid [Skripsi].

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Dosis

a) Perlakuan 1 (P1)

Dosis ekstrak kulit manggis pada manusia = 1500 mg

Dosis perlakuan I x nilai konversi (manusia ke mencit) = $1500 \text{ mg} \times 0,0026 =$
 $3,9 \text{ mg}/20\text{g}$

Dosis ekstrak kulit manggis untuk mencit = $31/20 \text{ g} \times 3,9 \text{ mg} = 6,045 \text{ mg}$

b) Perlakuan 2 (P2)

Dosis ekstrak kulit manggis pada manusia = 3000 mg

Dosis perlakuan II x nilai konversi (manusia ke mencit) = $3000 \text{ mg} \times 0,0026 =$
 $7,8 \text{ mg}/20\text{g}$

Dosis ekstrak kulit manggis untuk mencit = $31/20 \text{ g} \times 7,8 \text{ mg} = 12,09 \text{ mg}$

c) Perlakuan 3 (P3)

Dosis ekstrak kulit manggis pada manusia = 6000 mg

Dosis perlakuan III x nilai konversi (manusia ke mencit) = $6000 \text{ mg} \times 0,0026 =$
 $15,6 \text{ mg}/20 \text{ g}$

Dosis ekstrak kulit manggis untuk mencit = $31/20 \text{ g} \times 15,6 \text{ mg} = 24,18 \text{ mg}$

Lampiran 2. Pembuatan Sediaan

a) Pembuatan pelarut obat

CMCNa 1% = 1 g/100 mL aquadest

Pemberian pelarut obat 0,5 mL/ekor (tiap perlakuan) = 0,5 mL x 5 ekor = 2,5

mL Berat CMC Na yang dibutuhkan tiap perlakuan = 2,5 mL/100 mL x 1 gram
= 0,02 gram = 25 mg

b) Pembuatan suspensi CMC Na 1% :

- Kalibrasi botol 2,5mL
- Masukkan 0,5 mL air panas (20 x berat CMC Na) dalam cawan
- Taburkan diatasnya CMC Na 2,5 mg
- Aduk sampai mengembang sampai terbentuk mucilage CMC Na
- Tambahkan sisa aquades 2 mL, aduk sampai homogen.

c) Pembuatan suspensi ekstrak kulit manggis

- Dosis P1 = 6,045 mg x 5 ekor = 30,225 mg
- Dosis P2 = 12,09 mg x 5 ekor = 60,45 mg
- Dosis P3 = 24,18 mg x 5 ekor = 120,9 mg

Volume pemberian tiap ekor = 0,5 mL

Jadi volume pemberian untuk 5 ekor = 0,5 mL x 5 ekor = 2,5 mL

d) Pembuatan suspensi ekstrak kulit manggis tiap perlakuan :

- Kalibrasi botol 2,5 mL, masukkan 0,5 mL air panas (20 x berat CMC Na) dalam cawan, taburkan diatasnya CMC Na 25 mg, aduk sampai

mengembang sampai terbentuk mucilage CMC Na.

- Masukkan ekstrak kulit manggis, gerus dalam mortir, masukkan mucilage CMC Na dalam mortar, gerus sampai homogen. Masukkan semua campuran ke dalam botol, tambahkan sisa aquades 2 mL, aduk sampai homogen. Lakukan cara yang sama selama 30 hari untuk membuat suspensi tiap dosis perlakuan.

Lampiran 3. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Bahan Padat Keras di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

1. Pendahuluan

- a. Fiksasi dilakukan seperti halnya pada bahan padat lunak lainnya.
- b. Dekalsifikasi menggunakan larutan dekalsifikasi yaitu asam nitrat 3-5% dalam formalin 10%.

- Resep:

Asam nitrat pekat 3ml

Laruran formalin 97 ml

- Cara kerja dekalsifikasi

- Masukkan bahan padat keras ke dalam larutan dekalsifikasi volume 30-60 bahan tersebut.
- Larutan dekalsifikasi tiap hari harus diganti agar larutan dekalsifikasi afinitasnya tetap baik untuk mengetahui kelunakan bahan padat keras tersebut, dites dengan jarum dan ditusuk pada beberapa tempat.
- Apabila bahan padat keras sudah lunak diambil dan dicuci dengan air mengalir.
- Bahan tersebut siap diproses lebih lanjut.

2. Memproses bahan atau jaringan

- a. Dehidrasi yaitu penarikan air secara bertahap menggunakan alat auto technicon selama 20 jam.

- i. Alkohol 70 % selama 1 jam
- ii. Alkohol 80% selama 2 jam
- iii. Alkohol 90 % selama 2 jam
- iv. Alkohol 96 % selama 2 jam
- v. Alkohol absolut selama 2 jam
- vi. Alkohol absolut selama 2 jam

3. Clearing (penjernihan)

- a. Tujuan :Mentransparankan dan menggantikan larutan alkohol dari jaringan.
 - i. Xylol I selama 1 jam
 - ii. Xylol II selama 2 jam
 - iii. Xylol III selama 2 jam

4. Impregnasi

- a. Tujuan :Menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan tabung.
 - i. Parafin cair (56-60°C) selama 2 jam
 - ii. Parafin cair (56-60°C) selama 2 jam

5. Embedding (pengeblokan)

- a. Tujuan : Mempermudah penyayatan dengan mikrotom.

6. Penyayatan bahan yang sudah di blok

- a. Hasil sayatan dimasukkan ke dalam *water bath* (suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$).
- b. Pilih hasil sayatan yang terbaik, ambil dengan *cover*
- c. Keringkan dengan oven pada suhu $50-60^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit.

Lampiran 4. Perhitungan Statistik Jumlah Sel Spermatogenik

Tests of Normality							
	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sel_Spermatogonium	K-	.212	5	.200*	.963	5	.827
	K+	.247	5	.200*	.876	5	.294
	P1	.218	5	.200*	.950	5	.738
	P2	.283	5	.200*	.845	5	.180
	P3	.158	5	.200*	.979	5	.928
Sel_Spermatosit_Primier	K-	.304	5	.148	.866	5	.250
	K+	.223	5	.200*	.896	5	.386
	P1	.222	5	.200*	.872	5	.273
	P2	.188	5	.200*	.960	5	.805
	P3	.218	5	.200*	.953	5	.756
Sel_Spermatid	K-	.254	5	.200*	.938	5	.653
	K+	.194	5	.200*	.957	5	.787
	P1	.206	5	.200*	.920	5	.529
	P2	.256	5	.200*	.942	5	.683
	P3	.240	5	.200*	.900	5	.412

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Sel_Spermatogonium	K-	5	56.080	3.9714	1.7761	51.149	61.011	50.2	61.2
	K+	5	28.200	1.7550	.7849	26.021	30.379	26.4	30.4
	P1	5	40.480	2.5163	1.1253	37.356	43.604	37.6	44.4
	P2	5	49.880	3.9487	1.7659	44.977	54.783	46.4	55.0
	P3	5	33.920	.7694	.3441	32.965	34.875	33.0	35.0
	Total	25	41.712	10.7146	2.1429	37.289	46.135	26.4	61.2
Sel_Spermatosit_Primier	K-	5	78.560	1.5710	.7026	76.609	80.511	76.4	80.0
	K+	5	30.320	3.9764	1.7783	25.383	35.257	25.0	34.0
	P1	5	53.200	3.4612	1.5479	48.902	57.498	49.6	57.0
	P2	5	62.680	3.3484	1.4975	58.522	66.838	59.0	67.2
	P3	5	47.680	4.2769	1.9127	42.370	52.990	43.0	53.6
	Total	25	54.488	16.6238	3.3248	47.626	61.350	25.0	80.0
Sel_Spermatid	K-	5	82.840	2.6321	1.1771	79.572	86.108	80.0	86.8

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

	K+	5	44.280	4.7299	2.115 3	38.40 7	50.153	38.0	49.6
	P1	5	66.840	5.9706	2.670 1	59.42 7	74.253	60.0	73.6
	P2	5	76.800	1.8111	.8099	74.55 1	79.049	74.0	79.0
	P3	5	55.560	4.0234	1.799 3	50.56 4	60.556	49.6	59.2
	Tota l	25	65.264	14.7656	2.953 1	59.16 9	71.359	38.0	86.8

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Sel_Spermatogonium	Based on Mean	2.706	4	20	.060
	Based on Median	1.144	4	20	.365
	Based on Median and with adjusted df	1.144	4	12.095	.382
	Based on trimmed mean	2.606	4	20	.067
Sel_Spermatosit_Pri mer	Based on Mean	1.477	4	20	.247
	Based on Median	.869	4	20	.500
	Based on Median and with adjusted df	.869	4	15.541	.504
	Based on trimmed mean	1.420	4	20	.264
Sel_Spermatid	Based on Mean	2.863	4	20	.050
	Based on Median	1.705	4	20	.188
	Based on Median and with adjusted df	1.705	4	16.789	.196
	Based on trimmed mean	2.804	4	20	.054

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Sel_Spermatogonium	Between Groups	2589.814	4	647.454	78.255	.000
	Within Groups	165.472	20	8.274		
	Total	2755.286	24			
Sel_Spermatosit_Pri mer	Between Groups	6393.350	4	1598.338	133.72 1	.000
	Within Groups	239.056	20	11.953		
	Total	6632.406	24			
Sel_Spermatid	Between Groups	4894.874	4	1223.718	72.481	.000
	Within Groups	337.664	20	16.883		
	Total	5232.538	24			

Sel_SpermatogoniumDuncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K+	5	28.200				
P3	5		33.920			
P1	5			40.480		
P2	5				49.880	
K-	5					56.080
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Sel_Spermatisit_Primer

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K+	5	30.320				
P3	5		47.680			
P1	5			53.200		
P2	5				62.680	
K-	5					78.560
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

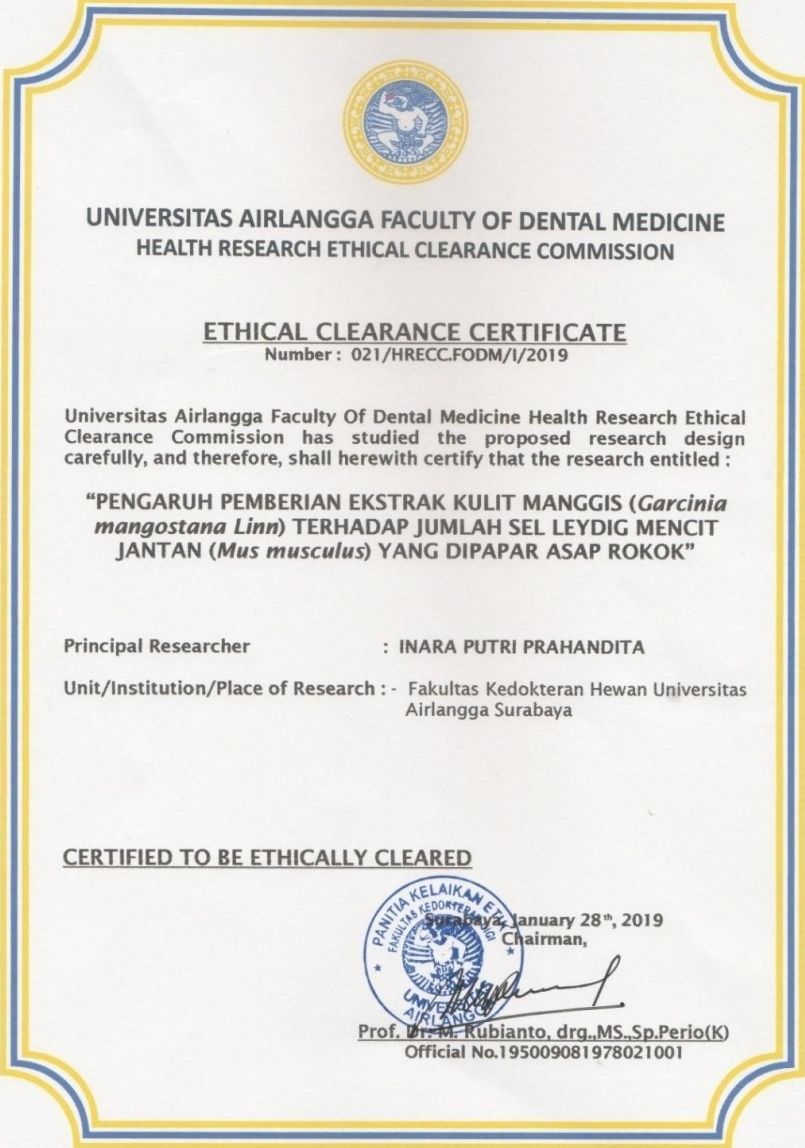
Sel_SpermatidDuncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K+	5	44.280				
P3	5		55.560			
P1	5			66.840		
P2	5				76.800	
K-	5					82.840
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 5. Sertifikat Uji Etik



**UNIVERSITAS AIRLANGGA FACULTY OF DENTAL MEDICINE
HEALTH RESEARCH ETHICAL CLEARANCE COMMISSION**

ETHICAL CLEARANCE CERTIFICATE
Number : 021/HRECC.FODM/1/2019

Universitas Airlangga Faculty Of Dental Medicine Health Research Ethical Clearance Commission has studied the proposed research design carefully, and therefore, shall herewith certify that the research entitled :

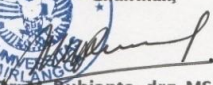
"PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn) TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIPAPAR ASAP ROKOK"

Principal Researcher : INARA PUTRI PRAHANDITA

Unit/Institution/Place of Research : - Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

CERTIFIED TO BE ETHICALLY CLEARED

Surabaya, January 28th, 2019
Chairman,


Prof. Dr. M. Rubianto, drg., MS., Sp.Perio(K)
Official No.195009081978021001

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

Alat pemapar asap rokok



Proses pemaparan asap rokok



Proses pemeliharaan mencit



Pengiriman sampel untuk pembuatan preparat histopatologi