

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

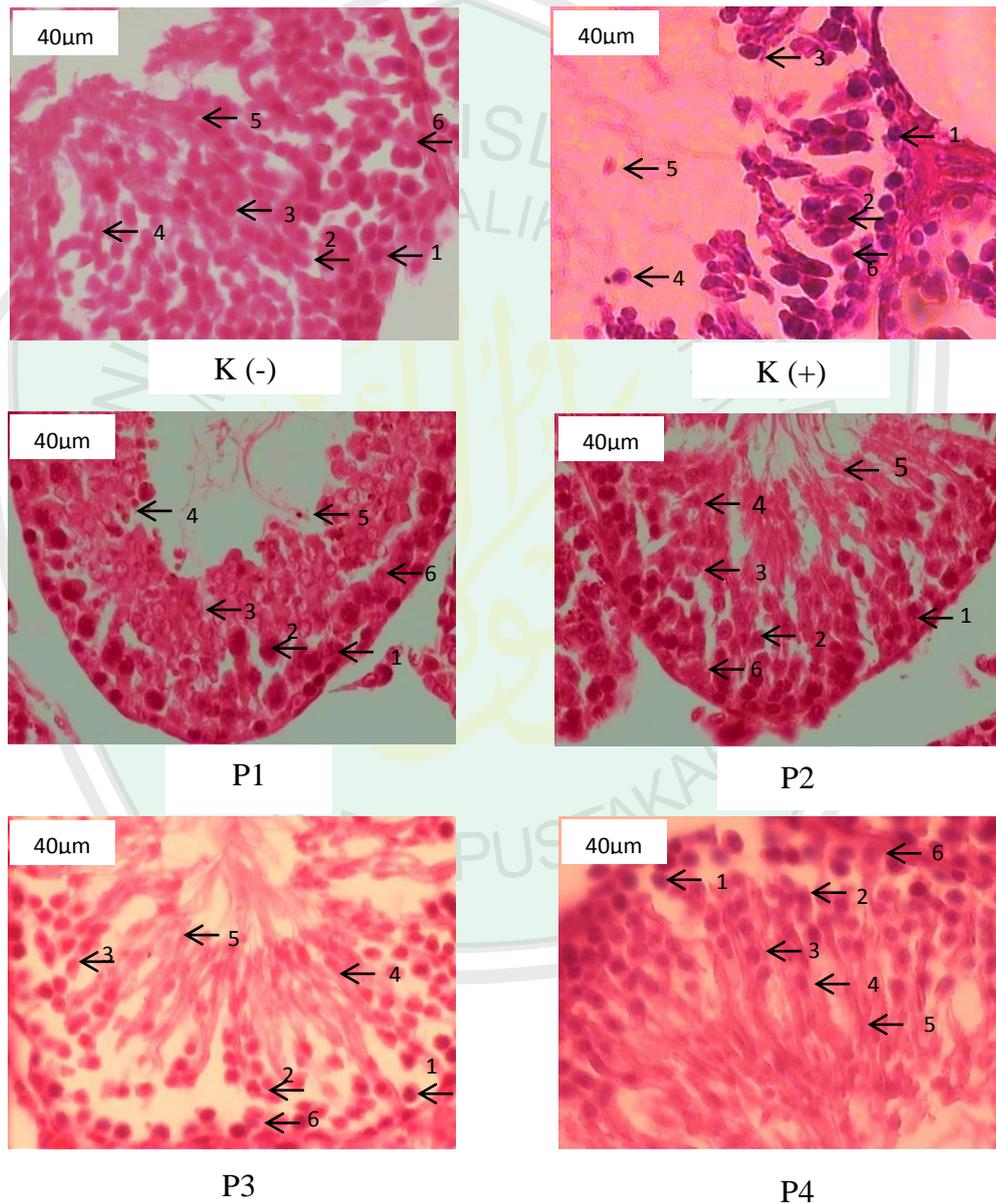
4.1 Pengaruh Infusa Daun Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik dan Sel Sertoli Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Kronik

Hasil pengamatan terhadap gambaran histologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik menggunakan mikroskop komputer dengan perbesaran 400x disajikan pada gambar 4.1, terlihat bahwa gambaran histologi testis pada kelompok K (+), P1, P2, P3, P4, dan K (-) secara berurutan menunjukkan letak dari sel-sel spermatogenik dan sertoli pada tubulus seminiferus semakin rapat, hal ini menunjukkan bahwa semakin rapat letak sel maka semakin baik kondisi sel dan jumlah sel semakin banyak.

Gambaran histologi testis pada kelompok K (+) terlihat sejumlah sel terletak berjauhan dan jumlah sel germinal maupun sel sertoli juga sedikit. Gambaran histologi testis kelompok P1 terlihat sejumlah sel terletak lebih rapat dan jumlah sel germinal serta sel sertoli lebih banyak daripada kelompok K (+). Gambaran histologi testis kelompok P2 terlihat sejumlah sel terletak lebih rapat dan jumlah sel germinal serta sel sertoli lebih banyak daripada kelompok K (+) dan kelompok P1. Gambaran histologi testis kelompok P3 terlihat sejumlah sel terletak lebih rapat dan jumlah sel germinal serta sel sertoli lebih banyak daripada kelompok K (+), P1, dan P2. Gambaran histologi testis kelompok P4 terlihat sejumlah sel terletak lebih rapat dan jumlah sel germinal serta sel sertoli lebih banyak daripada kelompok K (+), P1, P2, dan P3. Gambaran histologi testis

kelompok K (-) terlihat sejumlah sel terletak lebih rapat dan jumlah sel germinal serta sel sertoli lebih banyak daripada kelompok K (+), P1, P2, P3, dan P4.

Gambaran histologi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik kelompok K (+), P1, P2, P3, P4, dan K (-) ditunjukkan pada gambar 4.1:



Gambar 4.1, Gambaran histologi testis tikus kelompok K (-), K (+), (P1), (P2), (P3) dan (P4). (1) sel spermatogonium, (2) sel spermatosit primer, (3) sel spermatosit sekunder, (4) sel spermatid, (5) sel spermatozoa, (6) sel sertoli dengan perbesaran 400x

4.1.1 Pengaruh Infusa Daun Murbei (*Morus alba L.*) Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik dan Sel Sertoli Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Kronik

Hasil pengamatan histologi testis di bawah mikroskop komputer dengan perbesaran 400x, didapatkan rata-rata jumlah sel spermatogenik dan sertoli yang dihitung dengan menggunakan *hand counter*. Rata-rata jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik yang diberi perlakuan infusa daun murbei (*Morus alba L.*) dengan dosis perlakuan P1 (400 mg/kg BB tikus), P2 (600 mg/kg BB tikus), P3 (800 mg/kg BB tikus) dan P4 (1000 mg/kg BB tikus) ditunjukkan pada tabel 4.1 :

Tabel 4.1 Ringkasan rata-rata jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus diabetes mellitus kronik setelah diberi infusa daun murbei (*Morus alba L.*)

Perlakuan	Rata-rata \pm SD pada sel -					
	Spg	Spt 1	Spt 2	sptd	sptz	srt
K (+)	69 \pm 3,37	63,5 \pm 2,52	53,75 \pm 5,5	52,08 \pm 0,82	14,75 \pm 0,5	7,5 \pm 1,73
P 1	79,75 \pm 13,67	83 \pm 18,07	70 \pm 9,42	59,67 \pm 5,60	21,75 \pm 4,11	18,25 \pm 2,06
P 2	85,25 \pm 5,12	90,75 \pm 5,68	79,75 \pm 2,63	67,08 \pm 3,37	36,5 \pm 4,65	35,25 \pm 2,36
P 3	94,25 \pm 7,97	101,58 \pm 2,52	93,83 \pm 3,83	77,42 \pm 1,73	67,75 \pm 5,5	42 \pm 2,83
P 4	148,5 \pm 25,72	132,25 \pm 19,5	115,75 \pm 31,59	118,83 \pm 11,69	87 \pm 10,1	54,5 \pm 5,92
K (-)	168,25 \pm 16,88	174,67 \pm 20,69	175 \pm 26,79	142,25 \pm 21,47	147,25 \pm 24,14	73,75 \pm 11,53

Keterangan : spg = spermatogonium, spt 1 = spermatosit primer, spt 2 = spermatosit sekunder, sptd = spermatid, sptz = spermatozoa, dan srt = sertoli.

Data dari tabel 4.1, diketahui rata-rata jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli pada tubulus seminiferus setelah diberi infusa daun murbei (*Morus alba L.*) mengalami peningkatan. Dosis terkecil sampai dosis terbesar infusa daun murbei (*Morus alba L.*) yang meningkatkan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli adalah P1 (400 mg/kg BB), P2 (600 mg/kg BB), P3 (800 mg/kg BB), dan P4 (1000 mg/kg BB).

Data yang telah didapatkan diuji dengan menggunakan Anova *One Way* dengan taraf signifikansi α 1%. Ringkasan hasil statistik Anova *One Way* pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.2 Ringkasan hasil statistik Anova *One Way* pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Ringkasan Anova *One Way* pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus diabetes mellitus kronik

Jenis Sel	F hitung	F tabel 1%
Spermatogonium	32,329**	4,25
Spermatosit primer	32,510**	4,25
Spermatosit sekunder	27,582**	4,25
Spermatid	48,586**	4,25
Spermatozoa	79,111**	4,25
Sertoli	71,236**	4,25

** Berbeda sangat nyata

Data pada tabel 4.2 diketahui perhitungan Anova *One Way* menunjukkan $F \text{ hitung} > F \text{ tabel } 1\%$ maka infusa daun murbei (*Morus alba* L.) berpengaruh sangat nyata dalam meningkatkan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut Duncan. Berdasarkan uji lanjut Duncan α 1% didapatkan hasil seperti tersaji dalam tabel 4.3 sebagai berikut :

Tabel 4.3 Ringkasan data hasil uji Duncan pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik pada α 1 %

Perlakuan	Rata-rata (buah) \pm SD dan notasi duncan α 1%					
	Spg	Spt 1	Spt 2	Sptd	Sptz	Srt
K (+)	69 \pm 3,37 a	63,5 \pm 2,52 a	53,75 \pm 5,5 a	52,08 \pm 0,82 a	14,75 \pm 0,5 a	7,5 \pm 1,73 a
P1	79,75 \pm 13,6 7 a	83 \pm 18,07 ab	70 \pm 9,42 ab	59,67 \pm 5,60 ab	21,75 \pm 4,11 a	18,25 \pm 2,06 a
P2	85,25 \pm 5,12 a	90,75 \pm 5,68 ab	79,75 \pm 2,63 ab	67,08 \pm 3,37 ab	36,5 \pm 4,65 a	35,25 \pm 2,36 b
P3	94,25 \pm 7,97 a	101,58 \pm 2,5 2 b	93,83 \pm 3,83 b	77,42 \pm 1,73 b	67,75 \pm 5,5 b	42 \pm 2,83 b
P4	148,5 \pm 25,7 2 b	132,25 \pm 19, 5 c	115,75 \pm 31, 59 c	118,83 \pm 11, 69 c	87 \pm 10,1 b	54,5 \pm 5,92 c
K (-)	168,25 \pm 16, 8 b	174,67 \pm 20, 9 d	175 \pm 26,79 d	142,25 \pm 21, 7 d	147,25 \pm 24, 4 c	73,75 \pm 11,5 3 d

Keterangan : spg = spermatogonium, spt 1 = spermatosit primer, spt 2 = spermatosit sekunder, sptd = spermatid, sptz = spermatozoa, dan srt = sertoli ; huruf yang berbeda menunjukkan suatu perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan

Berdasarkan hasil uji duncan pada tabel 4.3 diketahui pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap jumlah spermatogonium pada perlakuan P4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+), P1, P2 dan P3. Sedangkan hasil uji duncan pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap jumlah sel spermatosit primer, sel spermatosit sekunder maupun sel spermatid menunjukkan hasil yang sama yaitu perlakuan P4 pada masing-masing jenis sel menunjukkan perbedaan sangat nyata dengan perlakuan lainnya, kemudian perlakuan P1 dan P2 tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan K (+) dan P3. Sementara itu hasil uji duncan pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap jumlah sel spermatozoa menunjukkan bahwa perlakuan P4 tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P3 tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya. Kemudian hasil uji duncan pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap

jumlah sel sertoli menunjukkan bahwa perlakuan P4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya.

Berdasarkan analisis statistik, diketahui bahwa dengan pemberian infusa daun murbei (*Morus alba* L.) dalam berbagai dosis, ternyata dosis P4 (1000 mg/kg BB tikus) adalah dosis optimal dalam meningkatkan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik.

Tikus yang diinduksi aloksan mengalami penurunan jumlah sel spermatogenik maupun sel sertoli, mekanismenya adalah berawal dari peningkatan radikal bebas akibat kondisi hiperglikemik. Kondisi hiperglikemik menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (Ueno *et al.*, 2002). Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Ueno *et al.*, 2002). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif (Nuttal *et al.*, 1999). Stres oksidatif akan meningkatkan jumlah ROS yang dapat merusak membran sel, menjadi lipid peroksida atau malondialdehyde (MDA), bila berlanjut mengakibatkan kerusakan sistem membran sel dan kematian sel sperma (Yasa *et al.*, 2007). Pasien diabetes mellitus juga mengalami penurunan kadar testosteron secara signifikan dan

mengalami penurunan kadar LH dan FSH akibat gangguan pada sistem hormonal (Remzi *et al.*, 2004).

Satriyasa (2008) menyatakan dalam penelitiannya bahwa penurunan kadar FSH akan menyebabkan terganggunya proses mitosis dan proliferasi spermatogonium. Menurut Ganong (1983) hormon FSH dan LH memiliki peran penting dalam proses spermatogenesis. LH berfungsi menstimulasi sel Leydig untuk memproduksi hormon testosteron di dalam testis. Selanjutnya fungsi FSH untuk memacu proses spermatogenesis, yaitu pembentukan spermatogonia menjadi spermatid. Selain itu FSH juga berfungsi untuk merangsang sel sertoli dalam pembentukan protein pengikat androgen (ABP) dimana protein ini berperan dalam pengangkutan testosteron ke dalam tubulus seminiferus dan epididimis.

Partodiharjo (2002) menjelaskan bahwa hipotalamus mensekresi GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormon) hipofisa anterior untuk mensekresi FSH dan LH. Kedua hormon ini memegang peran utama dalam mengatur fungsi seksual jantan. FSH dibawa melalui darah menuju testis untuk mengawali proses proliferasi spermatogenesis, selanjutnya LH akan mensekresi testosteron untuk menyelesaikan proses pematangan dan pembentukan spermatozoa. Gangguan pada proses sekresi FSH dan LH menyebabkan proses pembelahan dan pematangan sel spermatogenik menjadi terhambat, hal tersebut akan menyebabkan jumlah sel spermatogenik juga berkurang.

Sementara itu penurunan spermatid dalam tubulus seminiferus testis tikus kemungkinan melalui beberapa mekanisme seperti terganggunya fungsi sel sertoli, yang menyebabkan nutrisi ke sel germinal akan menurun diantaranya

laktat dan piruvat. Laktat dan piruvat merupakan sumber energi dari spermatid. Penurunan spermatid ini mungkin juga karena gangguan dalam proses meiosis, kemungkinan yang lain disebabkan karena pada proses spermiogenesis awal sudah mengalami gangguan. Dengan terganggunya spermiogenesis awal maka proses selanjutnya juga akan mengalami gangguan (Satryasa, 2008).

Kadar testosteron yang berkurang akibat diabetes mellitus akan menyebabkan inisiasi terhadap sel sertoli juga berkurang. Sel sertoli memiliki reseptor androgen (RA) yang akan memperantarai efek testosteron dalam menginisiasi spermatogenesis (Walker, 2005; Stanton *et al.*, 2012).

RA yang terletak di dalam sitoplasma sel sertoli akan menerima sinyal testosteron dan akan membentuk ikatan testosteron-RA (Ruwanpura, 2010; Stanton *et al.*, 2012). Walker (2005) mengemukakan bahwa ikatan tersebut akan berpengaruh terhadap 2 jalur, yaitu jalur aktivasi Src *tyrosine kinase* (SRC) dan jalur *influx* Ca^{2+} ke dalam sitoplasma yang kemudian akan memberikan efek seluler hingga molekuler pada sel sertoli.

Jalur pertama, ikatan antara testosteron dengan RA di sel sertoli akan mengaktifkan SRC dan menyebabkan RAS *like* G-protein mampu mengaktifkan MAP kinase (*Mitotic*). Proses tersebut akan mengaktifkan ERK (*Extracellular Signal-Regulated Kinase*) yang berubah menjadi $p90^{rsk}$ dan MSK di dalam inti sel sertoli. $p90^{rsk}$ dan MSK akan berakibat fosforilasi salah satu faktor transkripsi di dalam inti sel sertoli, yakni CREB (*cAMP-response-element binding protein*) (Walker, 2005). Fosforilasi CREB pada akhirnya akan mempengaruhi terjadinya transkripsi dan translasi untuk menghasilkan protein.

Jalur yang kedua, ikatan antara testosteron dengan RA di sel sertoli akan menyebabkan *influx* Ca^{2+} ke dalam sitoplasma. Ca^{2+} yang meningkat akan menyebabkan *Calmodulin* (CaM) menstimulasi *CaM kinase* untuk berpindah ke dalam inti, sehingga CREB mengalami fosforilasi. Ca^{2+} yang meningkat juga akan menyebabkan *Calmodulin* (CaM) mengaktifkan *adenylate cyclase* sehingga dapat mengubah cAMP menjadi cAMP *Guanine nucleotide Exchange Factors* (GEFs) dan PKA serta pengaktifan PKC. Pengaktifan cAMP *Guanine nucleotide Exchange Factors* (GEFs), PKA dan PKC akan menstimulasi RAS like G-protein dalam mengaktifkan *MAP kinase*, sehingga terjadi fosforilasi CREB di dalam inti (Walker, 2005). Fosforilasi CREB akan menyebabkan pengaktifan promoter transkripsi disertai dengan penempelan RNA polimerase di dalam inti sel. Proses tersebut menyebabkan DNA mengalami transkripsi menjadi mRNA dan kemudian diterjemahkan ke dalam protein melalui ribosom (Campbell, 2004; Saryono, 2008).

Setelah diberi infusa daun murbei selama 30 hari berturut-turut diketahui terjadi peningkatan sel spermatogenik maupun sel sertoli. Peningkatan jumlah sel spermatogonik dan sel sertoli tersebut terjadi karena kandungan antioksidan daun murbei mampu memperbaiki kerusakan jaringan. Kandungan antioksidan daun murbei salah satunya adalah vitamin C. Peran asam askorbat (vitamin C) terhadap penyakit diabetes adalah sebagai inhibitor enzim aldosa reduktase (Cunningham, 1998), sehingga penggunaan ekuivalen pereduksi berkurang. Ketersediaan ekuivalen pereduksi berguna untuk konversi glutation teroksidasi (GSSG) menjadi glutation tereduksi (GSH). Hal tersebut selanjutnya dapat

mencegah penumpukan sorbitol pada jaringan. Manfaat lain penggunaan antioksidan adalah minimalisasi pembentukan AGEs. Kondisi itu analog dengan penggunaan vitamin C dalam meminimalisasi proses “*browning*” pada makanan. Mekanisme minimalisasi pembentukan AGEs tidak terlepas dari peran vitamin C pada jalur poliol sorbitol (aldose reduktase). Pengurangan penumpukan sorbitol di jaringan akan menekan fruktosa sehingga proses glikasi nonenzimatik juga ditekan.

Asam askorbat akan bekerja secara ekstraselular di dalam pembuluh darah di bawah 1 jam setelah infus, selebihnya akan memasuki sel endotel dan bekerja intraselular (Beckman *et al.*, 2001). Secara ekstraseluler, antioksidan ini meredam radikal superoksida yang dihasilkan pada proses autooksidasi glukosa dan sintesis nitrit oksida. Apabila radikal superoksida berlebih, maka akan terjadi reaksi dengan nitrit oksida menghasilkan radikal peroksinitrit yang bersifat sitotoksik. Penghambatan pembentukan radikal peroksinitrit akan menjaga fungsi vasodilatasi pembuluh darah yang diperankan oleh nitrit oksida. Di dalam sel endotel, asam askorbat mempengaruhi enzim nitrit oksida sintase sehingga radikal superoksida sebagai produk samping pembentukan nitrit oksida dapat ditekan.

Mekanisme lain adalah kemampuan asam askorbat bentuk tereduksi maupun teroksidasi dalam menghambat masuknya glukosa melalui GLUT *transporter* ke dalam sel sehingga mampu mengurangi gangguan vasodilatasi tergantung sel endotel (Beckman *et al.*, 2001). Anindita (2012) menyatakan bahwa vitamin C mampu menghambat pembentukan radikal bebas pada proses peroksidasi lipid yang terjadi diluar membran sel, sehingga berhasil

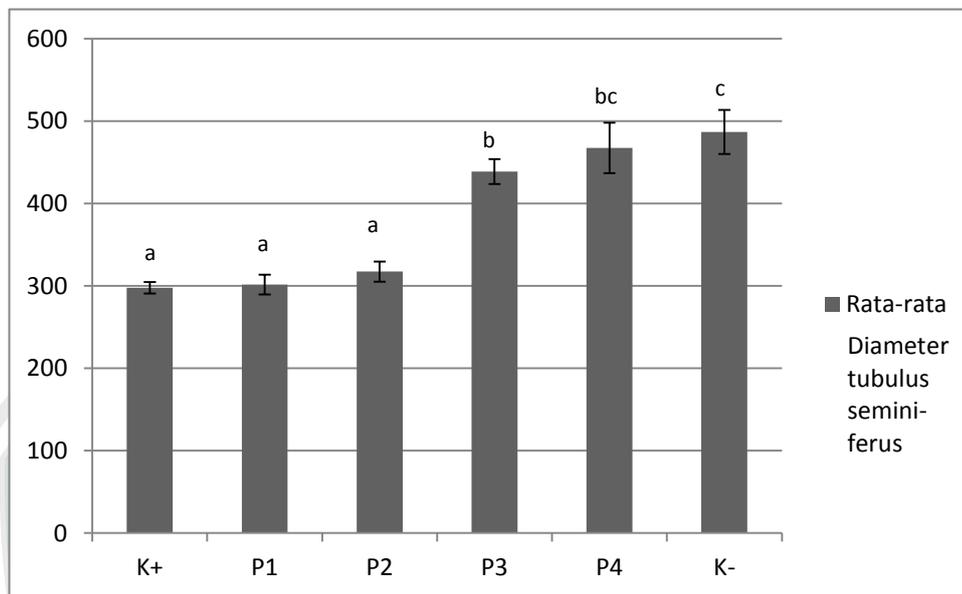
mempertahankan keutuhan membran, baik membran sel di hipotalamus maupun membran basalis tubulus seminiferus. Ketika merusak sel-sel di hipotalamus oleh radikal bebas ditekan, maka fungsi hipotalamus–pituitary–organ target juga tidak terganggu. Dengan tidak terganggunya fungsi dari hipotalamus–pituitary–organ target tersebut, maka proses spermatogenesis yang terjadi di dalam testis juga tidak akan terganggu. Sementara itu asam folat dan zinc yang terkandung pada daun murbei diduga mampu meningkatkan jumlah sel spermatozoa (Wong *et al.*, 2002).

Secara umum peningkatan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli terjadi karena tikus yang awalnya mengalami kondisi hiperglikemik setelah diberi infusa daun murbei kadar glukosa darahnya menjadi turun, sehingga radikal bebas yang tadinya meningkat menjadi ikut berkurang. Radikal bebas yang menurun bisa mengurangi kerusakan jaringan dalam tubuh termasuk kerusakan pada organ pembentuk sel germinal. Kandungan kimia daun murbei yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah yang tinggi diantaranya adalah DNJ. DNJ mempunyai potensi untuk menghambat *alpha-glucosidase* (Asano *et al.*, 2001), *Alpha-glucosidase* merupakan enzim yang mengkatalisis hidrolisis ikatan pada maltosa untuk menghasilkan dua molekul glukosa (Makfoeld dkk, 2006).

4.2 Pengaruh Infusa Daun Murbei (*Morus alba L.*) Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Kronik

Berdasarkan hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik yang diberi infusa daun murbei (*Morus alba L.*) dengan dosis perlakuan P1 (400 mg/kg BB tikus), P2 (600mg/kg

BB tikus), P3 (800 mg/kg BB tikus) dan P4 (1000 mg/kg BB tikus) ditunjukkan pada gambar 4.2 :



Gambar 4.2. Diagram batang pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap diameter tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik

Data gambar 4.2, diketahui rata-rata diameter tubulus seminiferus setelah diberi infusa daun murbei (*Morus alba* L.) mengalami peningkatan namun tidak begitu tinggi. Diameter tubulus seminiferus berturut-turut dari dosis terkecil sampai dosis terbesar infusa daun murbei yang diberikan antar perlakuan yaitu K (+) (297,75±6,99 µm), P1 (301,5±11,90 µm), P2 (317,25±12,28 µm), pada P3 (438,5±15,15 µm), P4 (467,5± 30,61 µm) dan K (-) (486,75±26,77 µm).

Data yang telah didapatkan diuji dengan menggunakan analisis varian (Anova) *One Way* dengan taraf signifikansi α 1%. Ringkasan hasil statistik Anova *One Way* pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Ringkasan Anova *One Way* pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap diameter tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik.

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 1%
Perlakuan	5	156785,37	31357,07	84,555**	4,25
Galat	18	6675,25	370,85		
Total	23	163460,62			

** Berbeda sangat nyata

Data tabel Anova 4.4 menunjukkan bahwa infusa daun murbei (*Morus alba* L.) berpengaruh sangat nyata terhadap peningkatan diameter tubulus seminiferus karena $F \text{ hitung} > F \text{ tabel } 1\%$. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut Duncan $\alpha 1\%$. Berdasarkan uji lanjut Duncan $\alpha 1\%$ didapatkan hasil seperti tersaji dalam tabel 4.5 sebagai berikut:

Tabel 4.5 Ringkasan data hasil uji Duncan pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap diameter tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik pada $\alpha 1\%$

Perlakuan	Rata-rata (μm) \pm SD	Notasi $\alpha 1\%$
K (kontrol) positif	297,75 \pm 6,99	a
P1 (400 mg/kg BB tikus)	301,5 \pm 11,90	a
P2 (600 mg/kg BB tikus)	317,25 \pm 12,28	a
P3 (800 mg/kg BB tikus)	438,5 \pm 15,15	b
P4 (1000 mg/kg BB tikus)	467,5 \pm 30,61	bc
K (kontrol) negatif	486,75 \pm 26,77	c

Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan suatu perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan.

Berdasarkan hasil uji duncan $\alpha 1\%$ pada tabel 4.5 di atas diketahui bahwa rata-rata diameter tubulus seminiferus pada perlakuan K (+) tidak berbeda sangat nyata dengan P1 dan P2 tetapi berbeda sangat nyata dengan P3, P4 dan K (-). P1 tidak berbeda sangat nyata dengan K (+) dan P2 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (-) , P3 dan P4. Perlakuan P2 tidak berbeda sangat nyata dengan K (+) dan P1 tetapi berbeda sangat nyata dengan P3, P4 dan K (-). Perlakuan P3 tidak berbeda sangat nyata dengan P4 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (+), P1, P2

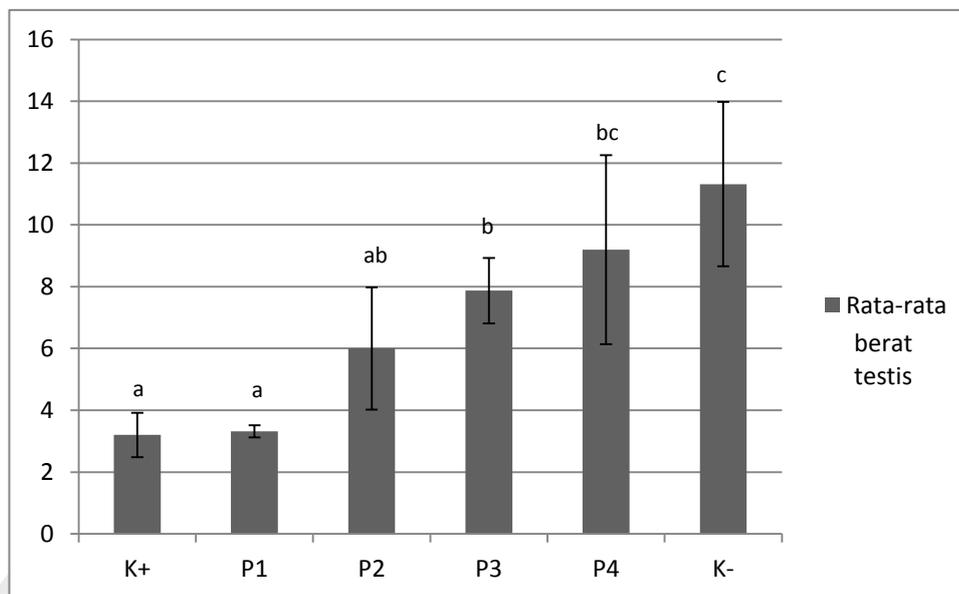
dan K (-). Perlakuan P4 tidak berbeda sangat nyata dengan P3 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (+), P1, P2 dan K (-). Perlakuan K (-) tidak berbeda sangat nyata dengan P4 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (+), P1, P2, dan P3. Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui dosis optimal dalam meningkatkan diameter tubulus seminiferus adalah dosis 1000 mg/kg BB tikus.

Peningkatan diameter tubulus seminiferus pada tikus diabetes mellitus kronik setelah diberi infusa daun murbei (*Morus alba* L.) karena jumlah spermatozoa yang terbentuk di dalam tubulus seminiferus menimbulkan dorongan yang dapat menimbulkan bertambahnya diameter tubulus seminiferus. Selain itu meningkatnya jumlah sel spermatogenik mampu meningkatkan perbesaran dari diameter tubulus seminiferus. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gulkesen *et al.*, (2002), bahwa adanya peningkatan proses spermatogenesis dapat menimbulkan peningkatan diameter tubulus seminiferus. Peningkatan jumlah spermatozoa tikus diabetes di dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh kandungan daun murbei asam folat dan zinc yang diduga mampu meningkatkan jumlah sel spermatozoa (Wong *et al.*, 2002).

4.3 Pengaruh Infusa Daun Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap Berat Testis

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Kronik

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa berat testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi infusa daun murbei (*Morus alba* L.) dengan dosis perlakuan P1 (400 mg/kg BB tikus), P2 (600 mg/kg BB tikus), P3 (800 mg/kg BB tikus) dan P4 (1000 mg/kg BB tikus) ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3. Diagram batang pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap berat testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik

Hasil dari gambar 4.3, di atas dapat diketahui bahwa rata-rata berat testis setelah diberi infusa daun murbei (*Morus alba* L.) mengalami peningkatan. Berat testis dari dosis terkecil sampai dosis terbesar infusa daun murbei yang diberikan antar perlakuan berturut-turut yaitu K (+) (3,17±0,72), P1 (3,3±0,2), P2 (6±1,98), P3 (7,87±1,06), P4 (9,2± 3,06) dan K (-) (11,32±2,66). Data yang telah didapatkan diuji dengan menggunakan Anova *One Way* dengan α 1%. Ringkasan hasil statistik Anova *One Way* pada masing-masing perlakuan tertera pada tabel 4.6 :

Tabel 4.6 Ringkasan Anova *One Way* pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap berat testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik.

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 1%
Perlakuan	5	266,074	53,215	15,192**	4,25
Galat	18	63,052	3,503		
Total	23	329,126			

** Berbeda sangat nyata

Data tabel Anova 4.6 menunjukkan bahwa infusa daun murbei (*Morus alba* L.) berpengaruh sangat nyata terhadap berat testis karena F hitung $>$ F tabel α 1%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut Duncan α 1%. Berdasarkan uji lanjut Duncan α 1% didapatkan hasil seperti tersaji dalam tabel 4.7 sebagai berikut:

Tabel 4.7 Ringkasan data hasil uji Duncan pengaruh infusa daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap berat testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus kronik pada α 1 %

Perlakuan	Rata-rata (mg) \pm SD	Notasi α 1 %
K (kontrol) positif	3,2 \pm 0,72	a
P1 (400 mg/kg BB tikus)	3,32 \pm 0,2	a
P2 (600 mg/kg BB tikus)	6 \pm 1,98	ab
P3 (800 mg/kg BB tikus)	7,87 \pm 1,06	b
P4 (1000 mg/kg BB tikus)	9,2 \pm 3,06	bc
K (kontrol) negatif	11,32 \pm 2,66	c

Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan suatu perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan.

Berdasarkan hasil uji duncan α 1% pada tabel 4.7 di atas diketahui bahwa perlakuan K (+) tidak berbeda sangat nyata dengan P1 dan P2 tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan P3, P4 dan K (-). Perlakuan P1 tidak berbeda sangat nyata dengan K (+) dan P2 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (-), P3 dan P4. Perlakuan P2 tidak berbeda sangat nyata dengan K (+), P1, P3 dan P4 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (-). Perlakuan P3 tidak berbeda sangat nyata dengan P2 dan P4 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (+), P1 dan K (-). Perlakuan P4 tidak berbeda sangat nyata dengan P3 dan K (-) tetapi berbeda sangat nyata dengan K (+), P1, dan P2. Perlakuan K (-) tidak berbeda sangat nyata dengan P4 tetapi berbeda sangat nyata dengan K (+), P1, P2, dan P3.

Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa dosis yang paling optimal dalam meningkatkan berat testis tikus putih diabetes mellitus kronik adalah dosis 1000 mg/kg BB tikus.

Penderita diabetes mellitus mengalami penurunan kadar testosteron, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Rahim (2008) yang menunjukkan adanya penurunan kadar testosteron pada tikus yang diinduksi aloksan. Jika kadar testosteron rendah maka mengakibatkan proses inisiasi sel sertoli terganggu. Sel sertoli amat penting perannya dalam memelihara keberadaan sel-sel germinal. Jumlah sel sertoli yang berperan penting tersebut jika jumlahnya juga menurun akan mengakibatkan sel germinal akan menurun pula jumlahnya. Turunnya jumlah sel leydig, sel sertoli dan sel germinal akan menyebabkan berat testis berkurang.

Peningkatan berat testis pada tikus perlakuan dibandingkan tikus kontrol positif setelah diberi infusa daun murbei selama 30 hari ini terjadi karena jumlah sel-sel spermatogenik di dalam testis juga meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lea *et al.*, (2004), bahwa banyaknya kandungan sel-sel spermatogenik tubulus seminiferus di dalam testis juga dapat meningkatkan berat dari testis itu sendiri walaupun berat testis juga dipengaruhi oleh faktor lain. Menurut Chaqiqi (2013) berat testis tidak hanya dipengaruhi oleh keberadaan sel germinal dan diameter tubulus seminiferus, berat testis juga dipengaruhi oleh jaringan ikat dan sel-sel otot polos. Jaringan ini berfungsi menunjang proses spermatogenesis yang dilakukan oleh testis. Jadi berat testis tidak hanya didapat tubulus saja namun juga didukung oleh jaringan ikat dan jaringan pembuluh darah.

Peningkatan berat testis tikus diabetes setelah diberi infusa daun murbei terjadi karena kandungan daun murbei diduga bisa meningkatkan jumlah sel spermatogenik, seperti asam folat dan Zinc (Wong *et al.*, 2002). Selain itu kandungan antioksidan yang dimiliki daun murbei diduga mampu menekan peningkatan radikal bebas yang bisa mengganggu spermatogenesis, sehingga ketika jumlah sel spermatogenik meningkat maka testis akan mengalami penambahan berat.

4.4 Kajian Keislaman tentang Hasil Penelitian

Allah telah menciptakan manusia dan makhluk-makhluk yang lain dalam keadaan yang seimbang. Allah telah menentukan masing-masing kadar atau takaran banyaknya metabolisme tubuh sesuai dengan usia, umur, jenis kelamin dan lingkungan. Allah berfirman dalam Surat al-Infithaar (82): 7,

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾

Artinya : “Yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang.” (Surat al-Infithaar (82): 7)

Lafadz فَعَدَلَكَ merujuk pada manusia yang diciptakan secara seimbang.

Allah menciptakan secara seimbang komponen kimiawi yang ada di dalam tubuh agar dapat mendukung aktivitas tubuh dengan baik. Berkurangnya atau berlebihnya suatu komponen kimiawi dalam tubuh akan mengakibatkan ketidakseimbangan dan fungsi tubuh tidak berjalan dengan baik.

Diantara bentuk ketidakseimbangan tubuh adalah kadar gula darah yang terlalu berlebih sehingga menyebabkan terkena penyakit diabetes mellitus. Salah satu faktor diabetes mellitus adalah pola makan yang berlebihan. Padahal Allah

telah melarang manusia untuk makan dan minum yang berlebihan seperti yang terkandung dalam potongan surat Al- A`raf / 7: 31.

﴿ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

Artinya “Makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.” (QS. Al- A`raf / 7: 31).

Maksud dari potongan ayat tersebut adalah bahwa janganlah kita makan melampaui batas yang dibutuhkan oleh tubuh dan jangan pula melampaui batas-batas makanan yang dihalalkan. Pola makan yang berlebihan dapat meningkatkan kadar glukosa darah dalam tubuh. Apabila glukosa darah berlebih maka menyebabkan diabetes mellitus yang bisa mengganggu fungsi organ tubuh termasuk organ reproduksi.

Organ reproduksi menghasilkan sel germinal termasuk spermatozoa. Spermatozoa merupakan sel benih (germinal) jantan yang dihasilkan oleh. Sel ini akan membuahi ovum yang kemudian berkembang menjadi embrio. Spermatozoa tidak langsung bisa membuahi sel ovum tetapi melalui beberapa tahapan sampai mampu membuahi ovum. Sebagaimana firman Allah dalam QS. al Insan/76 : 2.

﴿ إِنَّا خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ مِنْ نُطْفَةٍ أَمْشَاجٍ نَبْتَلِيهِ فَجَعَلْنَاهُ سَمِيعًا بَصِيرًا ﴾

Artinya : “Sesungguhnya Kami telah menciptakan manusia dari setetes mani yang bercampur yang Kami hendak mengujinya (dengan perintah dan larangan), karena itu Kami jadikan Dia mendengar dan melihat.” (QS. al Insan/76 : 2)

Surat Al Insan/76:2 menjelaskan bahwa Allah mengisyaratkan sesungguhnya manusia diciptakan dari نُطْفَةٍ (setetes mani) yang mengalami proses آمشاج (bercampur) dengan air mani perempuan. Proses percampuran (fertilisasi)

terjadi di dalam tubuh wanita, sedangkan laki-laki dan perempuan memiliki perbedaan dari alat reproduksi dan sel yang dihasilkan. Sel spermatozoa harus beradaptasi pada organ reproduksi wanita agar terjadi fertilisasi. Sebelum proses percampuran itu mani (sperma) akan mengalami beberapa tahapan perubahan. Sel awal adalah spermatogonium yang kemudian mengalami mitosis menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer akan mengalami meiosis pertama menjadi spermatosit sekunder. Spermatosit sekunder akan mengalami perubahan bentuk sampai tahapan spermatozoa yang memiliki ekor.

Keadaan diabetes mellitus mampu menyebabkan penurunan jumlah sel spermatozoa dan sel germinal yang lain, Suyono (2005) menyatakan diabetes mellitus dapat mengakibatkan gangguan ejakulasi sehingga kemampuan untuk membuahi sel ovum juga menurun. Namun diabetes mellitus bisa dikurangi dampaknya dengan menggunakan obat.

Semua penyakit berasal dari Allah, maka Allah juga yang dapat menyembuhkan penyakit tersebut. Akan tetapi untuk mencapai kesembuhan manusia juga harus berusaha. Allah mendatangkan penyakit, maka bersamaan dengan itu Allah juga mendatangkan obat. Hal ini sesuai dengan sabda Rasulullah SAW :

عَنْ أُسَامَةَ بْنِ شَرِيكٍ قَالَ كُنْتُ عِنْدَ النَّبِيِّ اللَّهِ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ وَجَاءَتِ الْأَعْرَابُ فَقَالُوا يَا رَسُولَ اللَّهِ أَنْتَدَاوِي؟ فَقَالَ: نَعَمْ يَا عِبَا دَالِلِ اللَّهِ تَدَاوُوا فَإِنَّا لِلَّهِ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً غَرَدًا وَاجِدِزْ قَالُوا مَا هُوَ؟ قَالَ الْهَرَمُ.. (رواه احمد)

Artinya : “ Usamah bin syarik berkata “ Di waktu saat beserta Nabi Muhammad SAW, datanglah beberapa orang badui, lalu mereka bertanya, “ Ya, Rasulullah, apakah kami mesti berobat? “, Jawab beliau, “ Ya, wahai

hamba Allah berobatlah kamu, karena Allah tidak mengadakan penyakit melainkan Dia adakan obatnya, kecuali satu penyakit”. Tanya mereka, “Penyakit apa itu?”. Beliau menjawab, “Tua”. (HR. Ahmad)

Salah satu alternatif yang bisa dilakukan untuk mengobati penyakit diabetes mellitus tersebut adalah dengan melakukan penelitian tentang obat tradisional dari tanaman alam yang mempunyai efek hipoglikemia, yaitu murbei.

Allah SWT telah berfirman bahwa Allah menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang dapat diambil manfaatnya, baik untuk dimakan maupun dijadikan obat dalam dunia kesehatan yaitu pada QS. Asy-Syu'aro/ 26: 27.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٢٧﴾

Artinya : *“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Qs. Asy-Syu'aro/26: 7).*

Kemurahan Allah terhadap makhluk-Nya yang berkaitan dengan tanaman sebagai sumber kehidupan bagi makhluk Nya juga terkandung dalam QS. Al-An'am/ 6: 99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya *“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak;*

dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”. (QS. Al-An’am/6 : 99).

خَضِرًا maksudnya adalah “ Lalu dari air itu Kami mengeluarkan tumbuhan yang hijau segar “. Al-Khodru artinya hijau dan adapun lafadz al-Khodru yang diartikan sebagai sayuran yang masih segar. Kandungan di dalam surat al-An’am ayat 99 ini adalah Allah telah menciptakan tumbuh-tumbuhan hijau yang bermanfaat bagi kehidupan makhluk-Nya terutama bagi manusia. Dimana tumbuhan hijau tersebut bisa dijadikan sebagai obat dari suatu penyakit, salah satunya yaitu daun murbei yang berwarna hijau.

Daun murbei telah digunakan sejak jaman dahulu karena memiliki banyak manfaat, sebagaimana perkataan Imam Syafi’i sebagai berikut.

وعن الشافعي : أنه سئل وجود الصانع, فقال : هذا ورق التوت طعمه واحد تأكله الدود فيخرج منه الإبريسم ، وتأكله النحل فيخرج منه العسل ، وتأكله الشاة والبعير والأنعام فتلقيه بعرا وروثا ، وتأكله الأطباء فيخرج منها المسك وهو شيء واحد

Artinya “Dan dari imam syafii : *sesungguhnya beliau pernah ditanya tentang keberadaan tuhan yang Maha Pencipta, maka beliau berkata : “daun-daun pohon murbei. Rasa daun-daunnya dimana saja sama. Jika dimakan ulat sutera maka menghasilkan benang sutera. Jika dimakan oleh lebah maka menghasilkan madu. Jika dimakan oleh kambing, unta atau binatang ternak maka menghasilkan kotoran. Jika dimakan oleh kijang maka akan menghasilkan parfum misik. Padahal tadinya hanya satu yaitu daun murbei”* (Tafsir Ibnu Katsir Juz 1).

Berdasarkan riwayat Imam Syafi'i tersebut terbukti bahwa tanaman murbei sudah bermanfaat sejak jaman dulu, karena ketika dimakan oleh berbagai hewan mampu menghasilkan bahan lain yang berguna seperti sutera, madu, kotoran yang bisa dijadikan pupuk dan minyak misik yang digunakan sebagai parfum.

Berdasarkan hasil penelitian ini daun murbei dapat meningkatkan kembali jumlah sel germinal, sel sertoli, diameter tubulus seminiferus dan berat testis tikus putih diabetes mellitus kronik. Peningkatan radikal bebas yang berlebih saat kondisi hiperglikemik menyebabkan kerusakan organ termasuk testis. Diduga kandungan antioksidan pada daun murbei mampu mengurangi peningkatan radikal bebas yang berlebih tersebut.

Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini berpasang-pasangan termasuk antioksidan dan radikal bebas yang saling berkaitan, dalam Q.S Yasin (36): 36 Allah berfirman :

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ ﴿٣٦﴾

Artinya: “ Maha suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui ”.

Manusia jaman dahulu belum mengerti tentang antioksidan maupun radikal bebas karena pengetahuan yang didapatkan masih sangat terbatas. Namun seiring berkembangnya jaman dan juga teknologi, mulai ditemukan ilmu-ilmu baru dan juga untuk memperoleh informasi tentang ilmu pengetahuan sangat mudah. Hal tersebut menunjukkan bahwa manusia memperoleh ilmu melewati

proses sedikit demi sedikit, sebagaimana firman Allah bahwa manusia diberi ilmu hanya dengan jumlah yang sedikit dalam Q.S Al- Israa' ayat 85 berikut:

وَمَا أُوتِيتُمْ مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا ﴿٨٥﴾

Artinya: "Dan tidaklah kamu diberi pengetahuan melainkan sedikit".

