

Potensi Ekstrak Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) Dalam Mempertahankan Jumlah Sel Sertoli Mencit (*Mus musculus*) Model Diabetes Melitus

Etik Yuliarini Widodo

Magister Program Ilmu Kesehatan Reproduksi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga;
etikyulia93@gmail.com (koresponden)

Reny I'tishom

Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; rithisom@fk.unair.ac.id

Bambang Purwanto

Departemen Fisiologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; bpaifo@gmail.com

ABSTRACT

Background: Hyperglycemia is a common effect of uncontrolled DM. The main impact of DM on male infertility is the result of hyperglycemia which causes an increasing in free radicals which cause oxidative stress in the testes, and then attacks Sertoli cells. Increasing of free radicals will cause disruption and damage to this cell, including apoptosis and atrophy and then caused decreasing in the number of Sertoli cells. Kebar grass contains antioxidants compounds, such as flavonoids and vitamin E. There are synergy effects between vitamin E and flavonoids which reinforce both in working to improve infertility as an antioxidant. **Objective:** To compared the number of Sertoli cells between groups which receiving extract kebar grass (*Biophytum petersianum* Klotzsch) and the control group in diabetes mellitus mice (*Mus musculus*) model. **Methods:** The research subjects used DM male mice which were divided into 5 groups: 2 control groups (K- and K+) and 3 treatment groups (P1, P2, P3). Day 1 to day 5, all groups were induced by STZ. The 11th day to the 45th day, the control group (K+) is given metformin 2 mg/head/day, the P1, P2 and P3 groups is given kebar grass with dose of 67,5; 135 and 270 mg/kg/day and metformin 2 mg/head/day. The 11th day to the 31th day, the control group (K-) is given CMC-Na 1% suspension. The 46th day is done surgery and sampling testicular tissue. Examination of the number of Sertoli cells is done through examination of the histological picture of testicular tissue that has been given Haematoxylin-Eosin (HE) staining. **Results:** Statistical tests showed that there was significant differences with a value of $p = 0.000 (<0.05)$ in the number of Sertoli cells. Mean and standard deviation of Sertoli cells in each group were K- = 8.63 ± 0.50 ; K+ = 9.87 ± 1.52 ; P1 = 11.40 ± 0.77 ; P2 = 14.75 ± 1.97 and P3 = 14.97 ± 2.00 . **Conclusion:** Kebar grass extract can maintain the number of Sertoli cells in diabetes mellitus mice models.

Keywords: Kebar grass extract; Sertoli cells; diabetes mellitus

ABSTRAK

Latar belakang: Hiperglikemia adalah efek umum dari DM yang tidak terkontrol. Dampak utama DM terhadap infertilitas pria adalah kondisi hiperglikemik menyebabkan peningkatan radikal bebas dan terjadi stres oksidatif pada testis, kemudian menyerang sel Sertoli. Peningkatan radikal bebas memicu terjadinya gangguan dan kerusakan pada sel-sel tersebut, seperti apoptosis dan atrofi serta terjadi penurunan jumlah sel. Rumput kebar mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan, seperti flavonoid dan vitamin E. Terdapat efek sinergi antara vitamin E dan flavonoid yang memperkuat kerja keduanya dalam memperbaiki gangguan infertilitas sebagai antioksidan. **Tujuan:** Membandingkan jumlah sel Sertoli mencit (*Mus musculus*) model diabetes melitus antara kelompok yang mendapat ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) dan kelompok kontrol. **Bahan dan cara:** Subyek penelitian menggunakan mencit jantan DM, dibagi 5 kelompok yaitu 2 kelompok 277tatist (K- dan K+) dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3). Hari ke-1 sampai hari ke-5, semua kelompok diinduksi STZ. Hari ke-11 sampai hari ke-45, kelompok 277tatist (K-) disonde 277tatisti CMC-Na 1%, kelompok 277tatist (K+) disonde metformin 2 mg/ekor/hari, kelompok P1, P2 dan P3 disonde rumput kebar dosis 67,5, 135, 270 mg/kg BB/hari dan metformin 2 mg/ekor/hari, Hari ke – 46 dilakukan pembedahan dan pengambilan sampel jaringan testis kanan dan kiri. Pemeriksaan jumlah sel Sertoli dilakukan melalui pengamatan gambaran histologi jaringan testis yang telah diberikan pewarnaan Haematoxylin-Eosin (HE). **Hasil:** Uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p = 0.000 (< 0,05)$ pada jumlah sel Sertoli. Mean dan standar deviasi sel Sertoli pada tiap kelompok adalah K- = $8,63 \pm 0,50$; K+ = $9,87 \pm 1,52$; P1 = $11,40 \pm 0,77$; P2 = $14,75 \pm 1,97$ and P3 = $14,97 \pm 2,00$. **Kesimpulan:** Ekstrak rumput kebar dapat mempertahankan jumlah sel Sertoli pada mencit model diabetes melitus.

Kata kunci : ekstrak rumput kebar; sel Sertoli; diabetes melitus

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi baik ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya.

Hiperglikemia, atau peningkatan gula darah adalah efek umum dari diabetes yang tidak terkontrol⁽¹⁾. Dampak utama DM terhadap infertilitas pria adalah akibat kondisi hiperglikemik menyebabkan adanya peningkatan radikal bebas yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif pada testis, dan kemudian menyerang sel Sertoli yang mana memiliki peran penting dalam proses spermatogenesis. Peningkatan radikal bebas akan memicu terjadinya gangguan dan kerusakan pada sel-sel tersebut. Kerusakan yang terjadi antara lain apoptosis dan atrofi serta terjadi penurunan jumlah sel⁽²⁾. Selain itu, hasil penelitian Kianifard (2011) menyatakan bahwa DM dapat menyebabkan perubahan ultrastruktural dari sel Sertoli sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel Sertoli⁽³⁾.

Penelitian pada hewan hiperglikemia akibat induksi menunjukkan beberapa efek buruk pada fungsi reproduksi jantan, salah satunya terjadi penurunan jumlah sel Leydig dan sel Sertoli⁽⁴⁾. Dilaporkan pada penderita diabetes sering mengalami penurunan kadar FSH, LH, prolaktin dan IGF-1 pada tingkat serum dan pada binatang percobaan yang dibuat diabetes, hipofisisnya mengalami respon yang menumpul sehingga mengurangi sekresi LH dan FSH⁽⁵⁾. FSH berperan mengaktifkan sel Sertoli⁽⁶⁾, sehingga akibat dari sekresi FSH yang menurun, akan berdampak pada penurunan jumlah sel sel Sertoli.

Diabetes melitus (DM) dapat menyebabkan komplikasi berupa gangguan pada fungsi organ reproduksi jantan bahkan dapat menyebabkan infertilitas pada pria akibat dari reaksi berantai radikal bebas. DM dapat diobati dengan obat kimia metformin. Infertilitas pria sebagai komplikasi DM juga perlu mendapatkan alternatif pengobatan atau pencegahan dengan pengobatan yang bersifat antioksidan. Tanaman rumput kebar bersifat antioksidan karena mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan, seperti flavonoid dan vitamin E. Nilai IC₅₀ rumput kebar sebesar 27,74 ppm⁽⁷⁾, sehingga diharapkan penambahan ekstrak rumput kebar dapat membantu kerja dan khasiat dari metformin sebagai antioksidan dalam menangkali radikal bebas akibat dari penyakit DM atau dalam kata lain sebagai adjuvan obat metformin.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan jumlah sel Sertoli mencit (*Mus musculus*) model diabetes melitus antara kelompok yang mendapat ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) dan kelompok kontrol.

METODE

Pembuatan dan Persiapan Larutan Ekstrak Rumput Kebar

Prosedur pembuatan ekstrak rumput kebar yaitu pertama sebanyak 350 gram simplisia rumput kebar yang sudah dalam bentuk serbuk, dimaserasi dengan pelarut etanol 70% (teknis) dengan perbandingan 1 : 10 (b/v) dalam tabung selama 3 x 24 jam, kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali sebanyak 2 kali dengan perlakuan yang sama. Maserat yang terkumpul dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30 – 40°C hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental selanjutnya dimasukkan ke dalam botol berwarna coklat kemudian disimpan di dalam lemari pendingin.

Persiapan dan Perlakuan Hewan Coba

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratoris (*true experimental*) dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian menggunakan 30 ekor mencit (*Mus musculus*) Balb/c jantan sebagai hewan percobaan, berumur 6-8 minggu dengan berat badan berkisar 20-30 gram. Mencit dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3). Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit. Mencit diadaptasikan dalam kondisi dan pakan yang sama selama 7 hari sebelum perlakuan, kemudian diinduksi streptozotocin secara intraperitoneal selama 5 hari. Observasi juga dilakukan selama 5 hari, pada hari ke-10 dicek kadar GDP (mencit dipuasakan selama 4 jam sebelum dicek GDP). Mencit diberi pakan dan minum secara *ad libitum* selama penelitian berlangsung. Tiap kelompok ditempatkan pada kandang tersendiri dan diberi perlakuan yang berbeda. Kelompok penelitian diberi perlakuan yaitu:

- K- : mencit hiperglikemia + pelarut CMC Na 1% selama 21 hari
- K+ : mencit hiperglikemia + metformin 2 mg/ekor/hari selama 35 hari
- P1 : mencit hiperglikemia + metformin 2 mg/ekor/hari + ekstrak rumput kebar 67,5 mg/kg BB/hari selama 35 hari
- P2 : mencit hiperglikemia + metformin 2 mg/ekor/hari + ekstrak rumput kebar 135 mg/kg BB/hari selama 35 hari
- P3 : mencit hiperglikemia + metformin 2 mg/ekor/hari + ekstrak rumput kebar 270 mg/kg BB/hari selama 35 hari

Metformin dan ekstrak rumput kebar diberikan melalui sonde lambung. Hari ke-46 semua mencit diterminasi untuk diambil organ testis kanan dan kiri, kemudian dibuat preparat histologi untuk memeriksa jumlah sel Sertoli. Penelitian ini sudah mendapatkan sertifikat keterangan layak etik dari Komite Etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya.

Pengamatan Sel Sertoli

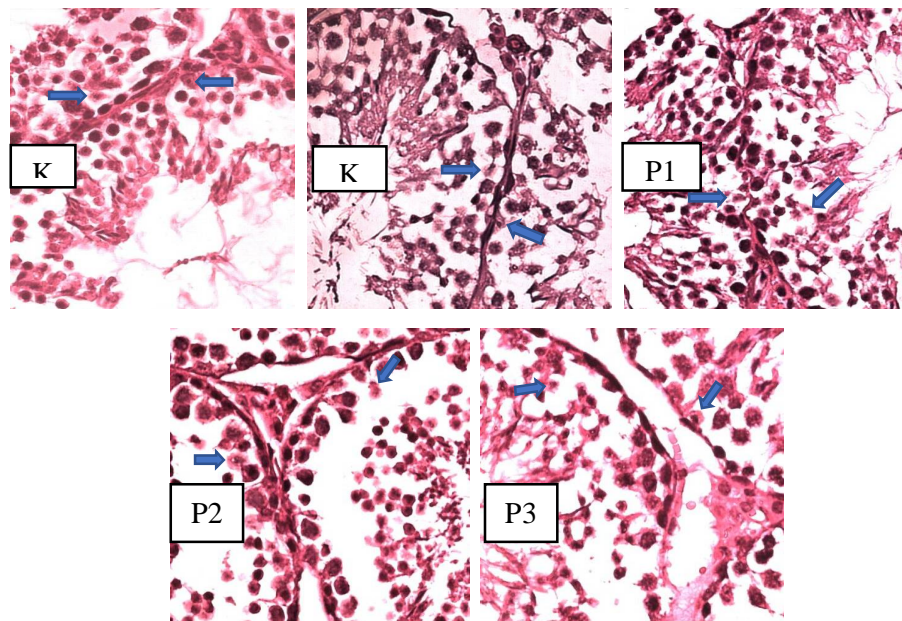
Sediaan histologi testis diamati di bawah mikroskop Olympus BX 41 dengan perbesaran 400x untuk menghitung jumlah sel Sertoli. Pengamatan dan pemberian skor dilakukan pada lima lapangan pandang tiap preparat. Skor dari lima lapangan pandang dirata-rata sehingga didapatkan skor untuk masing-masing mencit. Skor masing-masing mencit kemudian digabungkan untuk menjadi rerata skor kelompok. Hasil rerata masing-masing skor kelompok kemudian dibandingkan. Penghitungan jumlah sel Sertoli pada sediaan testis mencit dengan menghitung sel Sertoli pada lima lapang pandang, masing-masing preparat menjadi lima area lapang pandang, dan kemudian dicari 10 tubulus per lapang pandang yang bentuk dan ukurannya hampir sama.

Analisis Statistik

Data hasil penelitian ditampilkan dalam bentuk mean, standar deviasi dan histogram. Setelah itu, data dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk Test*, dilanjutkan uji homogenitas *Levene Statistic*. Data jumlah sel Sertoli menunjukkan data yang berdistribusi normal dan homogen, sehingga analisis analitik menggunakan uji *one way anova*, dan dilanjutkan dengan uji *Post hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan perlakuan.

HASIL

Jumlah sel Sertoli dapat dihitung melalui pengamatan gambaran histologi jaringan testis yang telah diberikan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* (HE). Pengamatan menggunakan mikroskop Olympus BX 41 dengan pebesaran 400x.



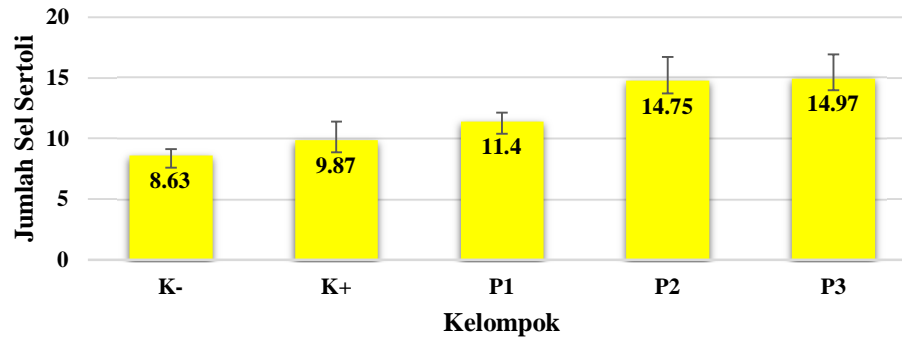
Gambar 1. Histologi sel Sertoli dilihat menggunakan mikroskop Olympus BX 41 dengan pebesaran 400x (tanda panah biru pada gambar menunjukkan sel Sertoli)

Tabel berikut ini adalah rerata dan simpang baku jumlah sel Sertoli.

Tabel 1. *Mean* dan simpangan baku jumlah sel Sertoli

Kelompok	Σ	<i>Mean</i> \pm SD
K-	6	$8,63 \pm 0,50$
K+	6	$9,87 \pm 1,52$
P1	6	$11,40 \pm 0,77$
P2	6	$14,75 \pm 1,97$
P3	6	$14,97 \pm 2,00$

Distribusi jumlah sel Sertoli berdasarkan rerata dan simpang baku dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Distribusi jumlah sel Sertoli

Tabel 1 dan gambar 2 menunjukkan bahwa jumlah sel Sertoli dengan rerata tertinggi terdapat pada kelompok P3 dan rerata terendah terdapat pada kelompok K-. Kelompok P3 adalah kelompok perlakuan mencit DM yang diberikan terapi ekstrak rumput kebar dosis 270 mg/kg BB/hari dan juga terapi metformin 2 mg/ekor/hari, sedangkan kelompok K- adalah kelompok kontrol negatif yang diberikan larutan CMC Na 1%.

Tabel 2. Uji normalitas dan uji homogenitas jumlah sel Sertoli

Kelompok	Σ	Uji normalitas	Uji homogenitas
K-	6	0,661	0,146
K+	6	0,396	
P1	6	0,964	
P2	6	0,933	
P3	6	0,795	

Tabel 2 menunjukkan uji normalitas *Shapiro-Wilk* yang didapatkan hasil nilai $p > 0,05$ yang berarti data berdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan hasil menunjukkan varian data dari kelima kelompok tersebut homogen ($p > 0,05$) dengan hasil $p = 0,146$, karena data rerata jumlah sel Sertoli berdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova*.

Tabel 3. Hasil uji *one way Anova* jumlah sel Sertoli

Variabel	Nilai p
Jumlah sel Sertoli	0,000*

Tabel 3 menunjukkan hasil uji *One Way Anova* dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada jumlah sel Sertoli, kemudian dilakukan uji *Post-Hoc LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui adanya perbandingan perbedaan pada tiap kelompok.

Tabel 4. Hasil uji *Post hoc LSD* jumlah sel Sertoli

Kelompok	Nilai p			
	K-	K+	P1	P2
K+	0,163	-	-	-
P1	0,004*	0,086	-	-
P2	0,000*	0,000*	0,001*	-
P3	0,000*	0,000*	0,000*	0,803

*Signifikasi $p < 0,05$ = berbeda bermakna

Hasil uji *Post hoc LSD* untuk variabel jumlah sel Sertoli pada tabel 4 menunjukkan bahwa jumlah sel Sertoli yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) adalah kelompok P1 dengan kelompok K-, kelompok P2 dengan kelompok K-, kelompok P3 dengan kelompok K-, kelompok K+ dengan kelompok P2, kelompok K+ dengan kelompok P3, kelompok P1 dengan kelompok P2, kelompok P1 dengan kelompok P3. Hal tersebut berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada 5 kelompok di atas.

PEMBAHASAN

Induksi mencit model diabetes melitus menggunakan streptozotocin (STZ) dapat menyebabkan destruksi selektif sel β pankreas, menimbulkan peningkatan kadar glukosa darah puasa atau sewaktu, penurunan kadar

insulin, glukosuria, polifagia, peningkatan HbA1C dan hiperglikemia ringan – sedang⁽⁸⁾. Efek pemberian STZ dapat meningkatkan stres oksidatif, mempercepat pembentukan radikal bebas seperti hidrogen peroksida dan menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, glutathion peroksida dan superoksida dismutase⁽⁹⁾.

Diabetes Melitus akibat induksi Streptozotocin (STZ) ditandai dengan keadaan hiperglikemia. STZ merupakan bahan toksik yang dapat merusak sel β pankreas secara langsung. Penelitian di tahun 2005 membuktikan adanya kerusakan spermatozoa dan testis tikus DM setelah 1 minggu induksi STZ dosis rendah. Penelitian pada tikus penderita DM yang diinduksi dengan STZ membuktikan terjadinya peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan penurunan kapasitas antioksidan⁽¹⁰⁾. STZ juga menginduksi terbentuknya radikal bebas, seperti superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH)⁽¹¹⁾. Penelitian lain di tahun 2010 yang dilakukan pada tikus dengan induksi STZ, dilaporkan adanya penurunan level antioksidan pada DM akibat peningkatan produksi radikal bebas dengan mengukur enzim antioksidan seluler seperti *glutathion peroksidase* (GSHPx), *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase (CAT)⁽¹²⁾.

Hiperglikemia kronik dapat menimbulkan stres oksidatif pada testis akibat meningkatnya produksi radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sel⁽¹³⁾. Mallidis *et al.* (2009) telah melaporkan adanya peningkatan akumulasi *advance glycation end-products* (AGEs) dan reseptornya RAGE pada testis, epididimis dan spermatozoa penderita diabetes⁽¹⁴⁾. Ikatan AGE – RAGE dapat mempercepat pembentukan ROS, yang akan mengaktifkan faktor transkripsi *nuclear factor* (NF)- κ B. NF κ B adalah suatu sinyal apoptosis dalam sel yang berperan penting dalam menimbulkan kerusakan pada jaringan dan organ⁽¹⁵⁾. Adanya aktivasi kompleks AGE-RAGE dalam testis menyebabkan stres oksidatif pada sel – sel fungsional di dalamnya, termasuk sel Sertoli.

Hasil penelitian ini menyebutkan bahwa kerusakan pada sel Sertoli dapat dilihat pada perlakuan kontrol negatif, yang memiliki jumlah sel Sertoli paling rendah. Pada perlakuan kontrol negatif (kelompok K-) tidak diberikan ekstrak rumput kebar maupun terapi obat metformin, akibatnya jumlah sel Sertoli yang mengalami kerusakan dan apoptosis semakin banyak dan tidak dapat dihentikan. Ekstrak rumput kebar yang diberikan dengan dosis beragam pada penelitian ini merupakan antioksidan eksogen untuk melindungi sel Sertoli dari radikal bebas berupa hiperglikemik, sedangkan terapi metformin untuk mengurangi dan mencegah kadar gula darah yang meningkat (hiperglikemia) sehingga dapat mengurangi radikal bebas.

Ekstrak rumput kebar dapat berperan sebagai antioksidan eksogen karena mengandung antioksidan berupa flavonoid dan vitamin E. Menurut Halliwell dan Gutteridge (2007) mekanisme kerja antioksidan flavonoid yaitu menekan pembentukan radikal bebas atau ROS dengan cara menghambat enzim, pengkelatan ion logam (*metal ion chelating*) yang terlibat produksi radikal bebas serta meredam radikal bebas (*free radicals scavengers*)⁽¹⁶⁾. Verstaeten *et al* (2004) juga melaporkan bahwa flavonoid dapat melindungi membran sel dari stres oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas dan mencegah masuknya molekul yang dapat mempengaruhi integritas membran⁽¹⁷⁾. Pemberian ekstrak rumput kebar yang mengandung antioksidan flavonoid mampu menangkalkan radikal bebas akibat hiperglikemik pada sel-sel dan jaringan reproduksi. Efek flavonoid pada rumput kebar juga mampu meredam radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid serta melindungi membran sel yang rusak, sehingga dapat mempertahankan jumlah sel Sertoli. Sedangkan menurut Maslachah (2008), vitamin E mempunyai potensi sebagai antioksidan pemutus rantai pada membran yang dapat mencegah kerusakan sel oleh peroksidasi lipid dan menghambat pembentukan radikal bebas⁽¹⁸⁾.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput kebar pada mencit diabetes melitus selama 35 hari dengan dosis 67,5 mg/kg BB/hari (P1), 135 mg/kg BB/hari (P2) dan 270 mg/kg BB/hari (P3) dapat mempertahankan jumlah sel Sertoli, dapat dilihat pada gambar 1 bahwa jumlah sel Sertoli pada kelompok P1, P2 dan P3 lebih tinggi dibandingkan jumlah sel Sertoli pada kelompok K- dan K+ yang sama-sama tidak memperoleh ekstrak rumput kebar, tetapi dosis yang paling optimal terlihat pada kelompok P3, yaitu pada dosis 270 mg/kg BB/hari (gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar dengan dosis 270 mg/kg BB/hari memberikan efek positif untuk mempertahankan sel Sertoli dari kerusakan dan apoptosis akibat DM. Efek menguntungkan dari ekstrak rumput kebar sebagian besar karena sifat antioksidan yang berperan sebagai penangkal dan pelindung utama dari stres oksidatif, serta mencegah peroksidasi lipid dengan menghancurkan rantai radikal yang beracun, produk sampingan dari proses metabolisme dalam membran biologis testis⁽¹⁹⁾. Namun perlu diingat bahwa peran terapi ekstrak rumput kebar disini adalah sebagai terapi adjuvan/tambahan guna memaksimalkan keefektifan terapi primer metformin. Ditunjukkan pada hasil penelitian ini yaitu bahwa jumlah sel Sertoli kelompok K+ lebih besar dibandingkan jumlah sel Sertoli pada kelompok K-, namun lebih sedikit dibandingkan jumlah sel Sertoli pada kelompok P1, P2 dan P3 dimana ketiganya mendapat dua terapi, yaitu terapi metformin dan terapi ekstrak rumput kebar yang berbeda dosis (gambar). Efektivitas terapi primer metformin sebagai antidiabetes tampak dari kemampuannya dalam menurunkan glukosa darah melalui penekanan glukoneogenesis hepatis dan menstimulasi penggunaan glukosa di otot. Efek ini terkait dengan AMPK yang merupakan regulator metabolisme energi di tingkat seluler⁽²⁰⁾. Terapi primer metformin disini berfungsi untuk mencegah terjadinya hiperglikemik yang dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas dan berujung pada stres oksidatif di jaringan testis, dan kemudian merusak sel – sel yang terdapat pada jaringan tersebut, salah satunya adalah sel Sertoli, sehingga penambahan terapi ekstrak rumput kebar sebagai terapi

adjuvan perlu diberikan untuk memaksimalkan keefektifan dari terapi primer metformin mencegah hiperglikemik.

KESIMPULAN

Jumlah sel Sertoli yang dapat bertahan lebih banyak adalah pada kelompok mencit diabetes melitus yang mendapatkan ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) dan terapi metformin (P1, P2, P3) jika dibandingkan dengan jumlah sel Sertoli pada kelompok kontrol mencit diabetes melitus (K- dan K+). Pemberian ekstrak rumput kebar yang paling optimal dalam mempertahankan jumlah sel Sertoli mencit diabetes melitus adalah pada dosis 270 mg/kg BB/hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Prevention of Blindness from Diabetes Mellitus: Report of a WHO consultation in Geneva, Switzerlan 9-11 November 2005. Genewa: World Health Organization; 2014.
2. Adewole SO, Caxton-Martin EA, Salako AA, Doherty OW, Naicker T. Effects of oxidative stress induced by streptozotocin on themorphology and trace minerals of the testes of diabetic wistar rats. J.Pharmacologyonline. 2007;2:487-497.
3. Kianifard D, Sadrkhanlou RJ, Hasanzadch S. The Ultrastructural changes of the Sertoli and Leydig Cells following streptozotocin induced diabetes. IranJ.Basic.Med.Sci. 2012;15(1):623-635.
4. Temidayo OS, Stefan PS. Diabetes mellitus and male infertility. Asia Pacific Journal of Reproduction. 2018;7(1):6-14.
5. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Rigau T, Guinovart JJ, Rodriguez-Gil JE. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms. American society of andrology. J.Andrology. 2004;25(5):706-719.
6. Agustinus, I'tishom R, Pramesti MPBD. Biologi reproduksi pria. Surabaya: Airlangga University Press; 2018.
7. Sembiring SB, Darwati I. Identifikasi komponen kimia aksesi rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) asal Papua dan Jawa. Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 2014;25(1):37-44.
8. Dorothy IS, WR. Animal models in diabetes research. Animal Models in Diabetes Research. 2012;933:219-228.
9. Husna F, Suyatna FD, Arozal W, Purwaningsih EH. Model hewan coba pada penelitian diabetes. Pharmaceutical Sciences and Research. 2019;6(3):131-141.
10. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalhossantos J. Diabetes and the impairment of reproductive function : possible role of mitochondria and reactive oxygen species. Curr. Diabetes Rev. 2008;4(1):46-54.
11. Lenzen S. The mechanism of alloxan and streptozotocin – induced diabetes. Diabetologia. 2008;51:216-226.
12. Abdelmoaty MA, Ibrahim MA, Ahmed NS, Abdelaziz MA. Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effectof Quercetin in rats. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2010.
13. Ahmed RG. The physiological and biochemical effect of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. MJIAS. 2005;15(1):31-42.
14. Mallidis C, Agbaje IM, Rogers DA, Glen JV, Pringle R, Atkinson AB, Steger K, Stitt AW, McClure N. Advanced glycation end products accumulate in the reproductive tract of men with diabete's. Int. J. Androl. 2009;32(4):295-305.
15. Ramasamy R, Vanucci SJ, Yan SS, Herold K, Yan SF, Shmidt AM. Advanced glycation end products and RAGE : a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration and inflammation. Glycobiology. 2004;15(7):16R-18R.
16. Halliwell B, Gutteridge MC. Free radicals in biology and medicine fifth edition. New York: Oxford University Press; 2015.
17. Verstaeten SV, Oteiza PI, Fraga CG. Membrane effects of cocoa procyanidins in liposomes and Jurkat T cells. Biol Res. 2004;37:293-300.
18. Maslachah LR, Sugiharuti, Kurniasanti R. Hambatan produksi reactive oxygen species radikal superoksida (O₂⁻) oleh antioksidan vitamin E (α - tocopherol) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang menerima stressor renjatan listrik'. Media Kedokteran Hewan. 2008;24(1):21-26.
19. Wati WK, Wurlina, Sarmanu. Potensi vitamin E terhadap jumlah sel spermatogenik pada mencit yang terpapar 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Veterinaria Medika. 2014;7(3):224-231.
20. Dowling RJ, Goodwin PJ, Stambolic V. Understanding the benefit of metformin use in cancer treatment. BMC Medicine. 2011;9(33):2-6.