

### III. TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1. Mencit

Hewan mamalia pengerat (Rodensia) contohnya adalah mencit (*Mus musculus*). Mencit adalah hewan yang mudah dipelihara dalam jumlah banyak, serta dapat berkembang biak dengan cepat, serta memiliki keragaman genetik yang luas, serta memiliki karakteristik anatomi dan fisiologis yang mudah dipahami. Adapun klasifikasi mencit adalah *Kingdom : Animalia, Filum : Chordata, Kelas : Mamalia, Ordo : Rodentia, Famili : Murinane, Genus : Mus, Spesies : Mus musculus*. (Sri Rezeki et al., 2018)

Karena banyak keuntungan yang dimilikinya-termasuk siklus hidup yang relatif singkat, jumlah anak yang banyak per kelahiran, kemudahan penanganan, sifat reproduksi yang mirip dengan mamalia lain, dan kemiripan anatomis, fisiologis, dan genetik dengan manusia-mencit sering digunakan sebagai hewan laboratorium (Fianti, 2017; Herrmann et al., 2019).



Gambar 1 **Mencit** (Chen, et al.2020)

## 1.2. Tanaman Kembang Bulan

Tanaman kembang bulan tumbuh tegak yang biasanya tumbuh mencapai ketinggian hingga 9 meter, cara pertumbuhannya dengan muncul dan merayap dibawah tanah. Tanaman ini sering terlihat tumbuh liat di daerah berbatuan, seperti tebing tinggi, parit, serta tepi sungai yang mengalir. Pertumbuhan tanaman ini sangat mudah di lokasi 500 hingga 1500 meter di atas permukaan laut, serta dengan pencahayaan matahari langsung ( Amanatie & Eddy, 2015 ). Pada mulanya tanaman kembang bulan ditemukan di Amerika Tengah sebagai tanaman semak, di Benua Afrika Negara Kenya biasanya tanaman ini dijadikan sebagai tanaman hias. Habitat asli tanaman Kembang Bulan di ketinggian 550 hingga 1950 meter di atas permukaan laut, serta suhu rata – rata 15 hingga 31 °C beserta curah hujan tahunan berkisar 2000 mm. di banyak negara benua Australia, Afrika, Asia dan Amerika Utara, tanaman ini menjadi pemandangan yang biasa ( Giacomo et al., 2015). Tanaman “Kembang Bulan” atau *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray juga memiliki nama yang khas di beberapa daerah seperti “Kayu Paik” dalam bahasa Minang, “Rondo Noleh”, “Rondo Semoyo”, serta “Kirinyu” dalam Bahasa Sunda. Dengan perkembangan zaman masyarakat mulai menyadari kandungan yang terdapa dalam daun kembang bulan (Fauziah, dkk., 2018).

Klasifikasi tanaman Kembang Bulan berikut ini : *Divisi : Spermatophyta, Sub divisi : Angiospermae, Kelas : Dicotyledoneae, Bangsa : Asterales, Suku : Asteraceae, Marga : Thitonia, Jenis : Thitonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray (Amanatie, A. & Sulistyowati , E., 2015).



**Gambar 2** : Daun dan Bunga Kembang Bulan  
(Pertanianku, 2021)

Daun tanaman Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) biasanya dimanfaatkan untuk mengobati beberapa penyakit system pencernaan. Seperti : Sakit perut, diare, kembung, serta sebagai anti inflamasi juga termasuk khasiat tanaman ini serta mengurangi kadar gula penderita diabetes melitus (Sasmita dkk, 2017). Metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan ekstrak tanaman bunga bulan telah banyak diteliti karena memiliki sifat anti-hiperglikemik (Prasetyo et al., 2016). Senyawa Flavonoid diketahui dapat menurunkan kadar gula dengan bekerja sama dengan enzim glucosidase, amylase dan maltase. Pengambilan glukosa di otot di stimulasi oleh Flavonoid melalui regulasi GLUT-4 (Anggraini, 2020).

Flavonoid sangat berepran penting dalam penurukan kadar glukosa pada penderita diabetes melitus secara signifikan dengan cara meningkatkan kerja enzim serta mampu membangun kembali sel-sel pancreas yang luka, memungkinkan pengobatan dengan inslulin yang insufiensi. Menurut beberapa sumber ilmiah sensitivitas reseptor insulin dapat meningkat dengan flavonoid, dan juga mengembalikan sensitivitas sel reseptor insulin, serta melindungi dari kerusakan sel penghasil insulin (Winarsih et al., 2012).

Salah satu manfaat antioksidan ialah mampu mengurangi kematian sel pankreas tanpa mempengaruhi pertumbuhan sel. Menurut Winarsi *et al.* (2012) flavonoid bertugas di luar pankreas. Flavonoid dapat meregenerasi dan membantu merangsang sekresi insulin sel beta pankreas (Dheer & Bhatnagar, 2010). Ada ikatan hidroksilasi dan substitusi pada cincin  $\beta$  flavonoid memiliki efek penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -gukosidase. Penghambatan ini bereaksi dengan menghasilkan pencegah hidrolisis karbohidrat, disakarida, dan penyerapan glukosa serta mencegah metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, yang sekilas sama dengan obat untuk pengobatan diabetes mellitus yang telah dipakai selama ini atau prinsip acarbose (Arifin dan Sanusi, 2018).

Banyak kelas metabolit sekunder telah dikelompokkan dari ekstrak *Tithonia diversifolia*, termasuk diterpenoid, flavonoids, *Sesquiterpene Lactones* (STLs) dan turunan asam klorogenik (CAs) (Guillermo *et al.*, 2016). Aktivitas antiinflamasi spesies ini terikat dengan STL dan CA yang terdapat dalam ekstrak daun (Chagas-Paula *et al.*, 2011), sedangkan aktivitas anti-malaria terutama terkait dengan STL. Sub-kelas terpenoid paling melimpah yang ada pada *Tithonia diversifolia* terdiri dari STL, yang mana tagitinin paling banyak dipelajari.

### **1.3. Toksisitas**

Toksin bisa didefinisikan sebagai cairan mengandung racun yang disekresikan atau dihasilkan oleh hewan selama proses pertahanan diri atau menyerang hewan lain dengan gigitan maupun sengatan (Maramis, M. R., 2016). Tujuan dari uji toksisitas adalah untuk memperlihatkan seberapa berbahayanya suatu obat terhadap sistem biologis dan untuk mengumpulkan data tentang respons dosis tipikal dari sediaan uji. Untuk menghitung dosis yang diperlukan demi keselamatan manusia, data yang diperoleh nantinya bisa dipakai sebagai

acuan dasar tentang tingkat bahaya yang disebabkan oleh sediaan yang diuji kalau terjadi paparan pada manusia.

Racun biasanya hanya membuat bahaya satu atau beberapa organ. Hal ini disebabkan oleh sensitivitas organ, atau oleh peningkatan jumlah bahan kimia dan metabolisme organ. Perubahan sensitivitas reseptor pada organ target, perubahan penyerapan, distribusi, dan ekskresi bahan kimia, serta peningkatan atau penurunan biotransformasi, semuanya dapat mempengaruhi bagaimana konsekuensi toksik terwujud. Kemampuan bawaan suatu zat untuk menyebabkan toksisitas adalah yang menentukan bentuk dan intensitas manifestasi toksik dalam suatu organisme. Penentu utama termasuk dosis dan waktu paparan serta variabel tambahan seperti spesies hewan dan strain, jenis kelamin, usia, status gizi, dan status hormonal (Hernawati, 2012).

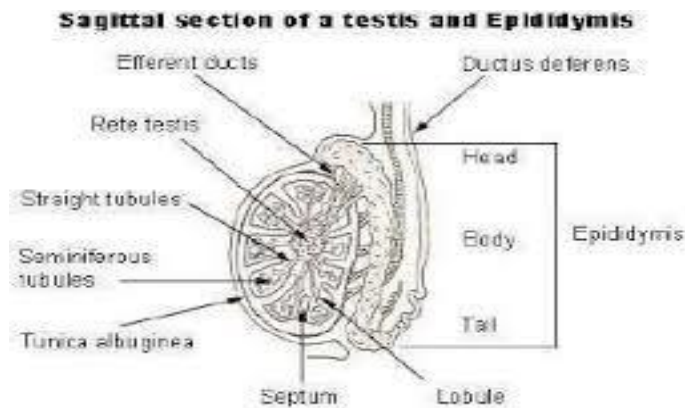
#### **1.4. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pengambilan senyawa kimia memakai pelarut yang sesuai yang terdapat dalam makhluk hidup. Teknik yang dipakai dalam ekstraksi ini tergantung pada tekstur, jumlah air yang ada, dan jenis senyawa yang diekstraksi dari benda hidup untuk mengoptimalkan hasil sambil menjaga fitur dan struktur senyawa. Menurut susunan kimia dari metabolit sekunder yang akan diperoleh kembali, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini dimodifikasi. Akibatnya, pelarut menggunakan pelarut non-polar bila simplisia mengandung bahan kimia non-polar dan pelarut polar bila simplisia mengandung senyawa polar (Najib, 2018).

## **1.5. Testis**

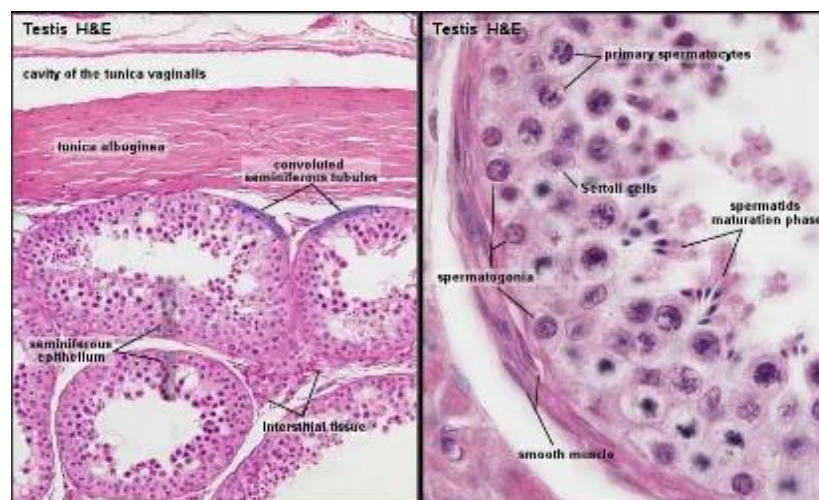
### **1.5.1. Anatomi Mencit**

Sistem reproduksi mencit jantan terdiri atas sepasang kelenjar kelamin (testis), saluran reproduksi dan kelenjar asesori serta organ kopulasi. Sistem reproduksi hewan jantan terdiri dari satu pasang kelenjer kelamin (testis), saluran reproduksi dan kelenjer asesori serta organ kopulasi. Jaringan ikat kolagen yaitu tunika albuginea yang tebal juga menutupi testis. Terjadi penebalan terhadap Tunika albugenia di posterior permukaan testis. Selama fetus berkembang testis juga ikut bergerak dan pada akhirnya tertahan dikedua sisi skrotum di funiculus spermatikus pada bagian ujung. Jumlah organ tersebut masing-masing sepasang, kecuali uretra dan penis. Akibat dari pergerakan testis selama fetus berkembang, maka pada bagian ujung funikulus spermatikus akhirnya testis tertahan. Karena terus bergerak dari bagian rongga abdomen, maka kantong serosa yang dinamai tunika vaginalis yang asal nya dari peritonium dibawa oleh masing-masing testis. Testis dapat disebut kelenjer endokrin, karena dapat memproduksi testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig mempengaruhi pada sifat jantan serta berperan dalam spermatogenesis.



**Gambar 3** Testis mencit  
(Dwisari, 2020)

Mencit adalah hewan mamalia yang memiliki peranan penting ilmiah bagi kehidupan manusia sebab mempunyai kemampuan untuk beradaptasi. Mencit juga sangat mudah ditangani serta masa reproduksi yang cepat tetapi masa kebuntingan yang singkat, serta memiliki karakteristik sistem reproduksi yang mirip dengan mamalia lainnya (Hidayat et al, 2013). Parenkrim testis dibagi menjadi 2 yaitu Tubulus seminiferous dan Sel Interstitial. Tubulus seminiferous sendiri terdapat bagian eksokrin dan bagian endokrin terdapat pada bagian Interstitial.



**Gambar 4** Histologi testis mencit  
(Dessy, 2022)

### 2.5.2. Tubulus Seminiferus

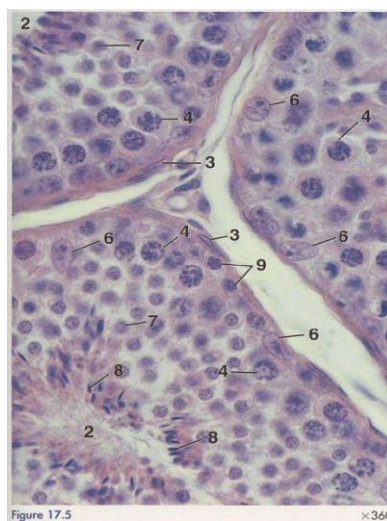
Nama lain dari Tubulus seminiferus adalah Tubulus contorti berbentuk coiled tubular adenomer yaitu kelanjutan dari mediatrium testis. Dibatasi oleh epitelium kompleks yang terdiri dari beberapa zona yaitu Basal, Superfisial, dan Intermediet.

#### A. Sel Leydig

Sel Leydig juga disebut sel Interstitial, juga terletak diantara septa jaringan ikat. Bentuk nya polyhedral serta memiliki nucleus bebetuk bulat yang besar. Sel Leydig juga memiliki fungsi mensekresi testosteron.

#### B. Tubulus Recti dan Rete Testis

Tubulus recti dan Rete testis adalah lanjutan dari Tubulus Seminiferus. Rete testis terdiri dari tubulus anastomik yang bersusun acak. Serta dibatasi oleh epitelium squamus atau kolumner.



**Gambar 5** Struktur Testis

(Dini Agusti, 2020)



## 1.6. Nekrosis

Langkah akhir sel merespon agen penyebab adalah kematian sel itu sendiri atau yang disebut nekrosis. Definisi dari nekrosis adalah degenerasi lanjutan sehingga sel tidak dapat direversibel Kembali. Fase terakhir dari merespon dan degenerasi sel seluler adaptasi adalah nekrosis. Hanya jaringan tubuh tertentu yang mengalami kematian sel patologis pada hewan. Karena kerusakannya telah fokal atau disebut difus pada kematian sel local yang tidak diperbaharui dengan sel yang baru maka sifatnya menjadi patologis. Nekrobiosis adalah sel fisiologis yang mati secara normal akan diganti dengan sel-sel baru dengan cepat yang tidak bersifat patologi. Disebut Autolisis jika kematian sel di seluruh tubuh setelah hewan itu mati dibantu oleh enzim pembusuk yang sifatnya fisiologis (Solfaine, 2019). Hasil yang serinmg terlihat secara makroskopis pada jaringan yang terkena nekrosis terlihat adanya koagulasi dengan warna putih, abu-abu, atau kuning. Lesi pembatas sangat terlihat berbeda dengan jaringan yang normal serta di sekelilingnya ada zona kemerahan atau peradangan. Jaringan yang mengalami nekrosis sangat rapuh. Jenis nekrosis sangat mempengaruhi massa organ yang terkena bisa sangat keras, lunak, bahkan cair.

Organ yang terkena nekrosis bisa jadi meluas dan spesifik. Tanda bahwa terjadi nekrosis terjadi perubahan warna lebih pucat atau warna abu-abu (Suyatno, 2016). Hasil gambaran mikroskopis tergantung jenis nekrosis yang terjadi, tetapi biasanya menunjukkan adanya kerusakan sel secara umum, pembengkakan terjadi adanya peningkatan tekanan osmotik intraseluler, warna sitoplasma lebih gelap dan

adanya kerusakan inti sehingga tidak terwanai dengan pengecatan rutin (Balqis, 2014).

Sel tidak dapat diamati lagi pada kejadian nekrosis liquefaktif dan gangrene. Sitoplasma terjadi perubahan. Warna sitoplasma menjadi lebih merah (hypereosinophilik). Perubahan yang lebih khusus pada sel nekrosis sebagai berikut, warna Sitoplasma di eosinophilia menjadi lebih gelap. Sel-sel bengkak dan banyak mengandung berbagai jenis vakuola. Inti dapat menunjukkan kondensasi (Piknosis), fragmentasi (karioreksis) serta mungkin hilang (kariolisis) (Surasa dkk, 2014).

Inti nekrotik dan piknosis dan ada perubahan agregasi kromatin memungkinkan inti menjadi kontraksi sehingga inti tersebut menjadi kecil dan gelap. Pecahnya selubung nucleus yang disebut karyorrhexis (kontraksi nucleus yang berlanjut), membuat massa kromatin (bentuk fragmen yang kecil) menuju sitoplasma. Fragmen biasanya terdeteksi di bekas inti. hanya daerah yang tertutup membrane inti yang terlihat Ketika kariolisis, atau enzim dari kromatin yang langsung menuju nukleus. Tanda piknosis adalah terjadi penyusutan hingga mengkerut inti sel, serta terjadi penggumpalan, serta adanya peningkatan yang tidak teratur batas densitas pada kromatin dan bewarna gelap. Perubahan litik pada piknosis mempengaruhi sitoplasma sel didalam jaringan yang nekrotik.

Tetapi, yang menunjukkan perubahan paling jelas kematian sel adalah nukleus. Biasanya Ketika inti sel telah mati maka akan menyebar, memiliki batas yang tidak rata, dan berkontraksi (Amelia, dkk 2020). Tantangan ketika membedakan sel nekrotik dan sel piknotik secara manual terdapat pada

karakteristik mikroskopisnya. Pada sel nekrotik, perubahan terjadi pada keseluruhan gambar kromatin, inti menjadi berkerut, kehilangan vaskularisasi, tampak lebih tebal dan berwarna lebih gelap (piknosis).

Kromatin menjadi kondensasi disebabkan oleh perubahan pH sel adalah ciri khas sel piknosis (Amiralevi, dkk 2017). Pengerutan inti piknotik akibat dari peningkatan eosinofilik dan homogenisasi sitoplasma. Pola nekrosis piknosis yang ditandai dengan kondensasi karena perubahan pH serta adanya peningkatan basofilia nukleus dan peningkatan eosinofilia sitoplasma (Kristianingrum, 2016).

### **1.7. Infiltrasi Sel Radang**

Pengertian dari Inflamasi atau peradangan adalah suatu bentuk gangguan dalam sistem sirkulasi darah yang sifatnya kompleks serta memiliki reaksi seluler tubuh dalam merespon agen pathogen atau pun iritasi tertentu. Menyebabkan terjadi perubahan sistem sirkulasinya pada jaringan yang mengalami peradangan, dimana terjadi vasokonstriksi atau dilatasi dan permeabilitas meningkatkan endothelium. Ketika terjadi peradangan, terjadinya pelepasan mediator peradangan dari sel mast yang akan mengaktifkan komplemen dan bekerjasama dengan mediator peradangan. Infiltrasi sel radang, akumulasi cairan dalam jaringan merupakan hasil respon terhadap perubahan jaringan dan perubahan seluler. Cairan yang berisi substansi seluler dan humoral yang bercampur menjadi satu disebut eksudat.

Cairan tersebut merupakan salah satu cara mengeliminasi produk buangan dan reaksi penyembuhan, sehingga cairan tersebut terdistribusi ke daerah radang (eksudasi). Komposisi cairan eksudat yang utama adalah sebagai berikut leukosit,

jarigan yang meradang, plasma sel, agen/iritan dan eritrosit. Kandungan tersebut terdapat perbedaan dengan cairan transudat.

Pada proses peradangan atau inflamasi menyebabkan sel radang dari pembuluh darah menuju jaringan yang terdapat luka. Makrofag, limfosit, dan neutrophil adalah sel-sel yang menginfiltrasi daerah yang terjadi luka.

Peran utama neutrophil adalah Mikrobisida atau disebut fagositosis. Jika ada benda asing didalam tubuh yang pertama kali bereaksi adalah sel leukosit khususnya sel neutrofil. Selain mensekresi faktor angiogenesis (AGF), yang menciptakan ujung endotel di ujung pembuluh darah, makrofag juga menghasilkan sel raksasa untuk dapat memfagosit antigen yang lebih besar.

Agranulosit yang disebut limfosit menanggapi antigen yang dikirim oleh makrofag dengan memproduksi antibodi. Pembuluh darah diperlukan untuk proses inflamasi dan reaksi seluler yang menghilangkan jaringan mati dan benda asing.

Peningkatan aliran darah ke jaringan memasok nutrisi penting untuk proses penyembuhan. sedemikian rupa sehingga daerah di sekitar sayatan tampak merah dan hampir tidak membengkak (Solfaine, 2019). Sel radang yang ditemukan bervariasi bentuknya, yaitu (Yulida, E, dkk 2013)

a. Neutrofil, organ hemopoietik (sumsum tulang) yang memproduksi dibawa menuju ke area yang mengalami peradangan melalui sirkulasi darah pada saat mulai peradangan. Saat terjadi peradangan yang bersifat akut neutrophil tidak berkumpul pada area tersebut saja, tetapi juga memperbanyak jumlahnya di dalam aliran darah. Saat terjadi keradang yang merespon pertama kali adalah neutrophil, dengan cara memfagositosis kuman. Ukuran neutrophil berkisar

antara 10 hingga 12  $\mu\text{m}$ .

- b. Sel radang yang ditemukan pada awal peradangan adalah eosinofil. Eosinofil diproduksi oleh sumsum tulang lalu masuk ke dalam sirkulasi darah. Ketika merespon adanya peradangan yang disebabkan parasite serta adanya reaksi alergi. Ukuran sel neutrophil berkisar antara 10 – 15  $\mu\text{m}$ .
- c. Basofil (sel mast), adalah sel radang yang sifatnya non fagositik dan berhubungan dengan adanya reaksi peradangan sub akut, basofil dapat mensekresikan heparin. Ukuran basophil berkisar antara 10-12  $\mu\text{m}$ . Biasanya sangat sulit diamati dengan pewarnaan histologi.
- d. Sel radang limfosit berfungsi sebagai sistem kekebalan humoral serta memproduksi globulin antibodi. Jumlah sel limfosit dalam sirkulasi darah dikontrol oleh sekresi kortek adrenal hormon pituitary. Respon sel radang ini terjadi pada waktu belakangan dan bertanggung jawab terhadap respon peradangan yang bersifat kronis dan infeksi viral. Ukuran limfosit adalah 7 – 12  $\mu\text{m}$ .
- e. Monosit, merupakan sel radang yang bersifat agranulosit serta menjadi precursor makrofag, mikroglia, osteoklas serta sel lainnya. Sel yang bereperan dalam proses fagositik adalah makrofag. Pembuluh darah membawa sel makrofag dan diproduksi di daerah radang yang berasal dari retikulo endothelia sel. Sel ini merespon setelah infiltrasi sel neutrophil dan terjadi pada peradangan yang bersifat kronis. Ukuran sel makrofag berkisar antara 2 – 20  $\mu\text{m}$ .

### **1.8. Degenerasi Melemak**

Degenerasi melemak adalah definisi dari suatu kondisi ketika sitoplasma sel tertimbun oleh lemak (Mudiana dkk., 2023). Menurut Berata dkk. (2020), degenerasi ini biasanya memengaruhi sel-sel parenkim, terutama yang berada di hati, ginjal, dan jantung. Pewarnaan Hematoxylyin-Eosin (HE) tidak mewarnai ruang melingkar yang kosong, yang merupakan indikasi kerusakan lemak secara mikroskopis (Hestianah et al., 2010). Hal ini sesuai dengan pendapat (Adikara dkk., 2013), yang menyatakan bahwa vakuola dengan ukuran yang berbeda dan, pada beberapa kasus, munculnya lemak di sitoplasma, mendorong nukleus ke pinggir, merupakan ciri khas degenerasi lemak. Menurut (Fahmi dkk., 2015), bahan kimia berbahaya, nutrisi yang buruk, dan usia lanjut dapat berkontribusi terhadap lesi ini. Gangguan pada metabolisme lemak, seperti kegunaan mitokondria yang terganggu atau hipoksia yang dapat mencegah lemak masuk ke dalam sel untuk dioksidasi, juga dapat menyebabkan degenerasi lemak (Sijid et al., 2020).