

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL KULIT BUAH  
MANGGIS (*Garcinia mangostana L*) TERHADAP  
EKSPRESI cAMP RESPONSIVE ELEMENT  
MODULATOR (CREM) DAN MORFOLOGI  
SPERMATOZOA PASCA PAPANAN  
ASAP ROKOK PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*)  
JANTAN**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :  
**FRISKI ROSANDI AFRIZAL**  
**105130101111040**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN  
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*) Terhadap Ekspresi cAMP Responsive Element Modulator (CREM) Dan Morfologi Spermatozoa Pasca Paparan Asap Rokok Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan**

Oleh:  
**FRISKI ROSANDI AFRIZAL**  
**105130101111040**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 8 Agustus 2014 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001

**Dr. Agung Pramana W.M., MS**  
NIP. 19650616 199111 1 001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan  
Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001



## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Friski Rosandi Afrizal  
NIM : 105130101111040  
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan  
Penulis Skripsi berjudul :  
Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis  
(*Garcinia mangostana L*) Terhadap Ekspresi cAMP  
Responsive Element Modulator (CREM) Dan  
Morfologi Spermatozoa Pasca Paparan Asap Rokok  
Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 8 Agustus 2014  
Yang menyatakan,

Friski Rosandi Afrizal  
NIM.105130101111040

**Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*) Terhadap Ekspresi cAMP Responsive Element Modulator (CREM) Dan Morfologi Spermatozoa Pasca Paparan Asap Rokok Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan**

**ABSTRAK**

Asap rokok mengandung banyak radikal bebas yang membahayakan kesehatan, radikal bebas tersebut dapat mengganggu proses spermatogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ethanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) terhadap ekspresi *cAMP Responsive Element Modulator* (CREM) dan morfologi spermatozoa pasca paparan asap rokok pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan. Pada penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok (1) adalah kelompok kontrol negatif, kelompok (2) adalah kelompok kontrol positif yang diberikan paparan asap rokok, kelompok (3), (4) dan (5) adalah tikus yang dipapar asap rokok dan diberi terapi ekstrak ethanol kulit manggis dengan dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 600 mg/kg BB. Pemaparan asap rokok dilakukan selama 30 hari dan sebanyak 2 batang per hari dengan cara memasukkan asap rokok ke dalam kotak kedap udara yang berisi 5 ekor tikus. Pemberian terapi dilakukan dengan cara sonde. Ekspresi CREM diamati dengan menggunakan metode immunohistokimia dan morfologi spermatozoa diamati menggunakan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi menggunakan ekstrak ethanol kulit buah manggis pada tikus yang terpapar asap rokok secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dapat meningkatkan ekspresi CREM dan dapat menurunkan abnormalitas spermatozoa. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak ethanol kulit buah manggis yang mengandung antioksidan, semakin tinggi dosis terapi yakni dengan dosis 600 mg/kg BB mampu meningkatkan ekspresi CREM dan dapat menurunkan abnormalitas morfologi spermatozoa.

Kata kunci : Radikal bebas, Ekstrak ethanol kulit buah manggis, *cAMP Responsive Element Modulator* (CREM), Morfologi spermatozoa.

**The Effect of Mangosteen Peel (*Garcinia mangostana L*) Ethanol Extract Toward cAMP Responsive Element Modulator (CREM) Expression And Spermatozoa Morphology Of Cigarette-Smoked Male Rat (*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRACT**

Cigarette smoke contains free radicals which are very harmful. These free radicals may harm spermatogenesis process. The purpose of this study is to examine the effect of Mangosteen peel (*Garcinia mangostana L*) ethanol extract toward *cAMP Responsive Element Modulator* (CREM) expression and spermatozoa morphology of cigarette-smoked male rat (*Rattus norvegicus*). The subjects of this research were male rats divided into five groups. The first group was negative control group, the second group was cigarette-smoked rats positive control group, the third, fourth and fifth groups were cigarette-smoked rats given mangosteen peel ethanol extract therapy 200 mg/kg BW, 400 mg/kg BW, and 600 mg/kg BW. The exposure of cigarette smoke was conducted for 30 days by putting the smoke of two cigarettes into airproof box for five rats. This treatment was given by using sonde. The CREM expression was examined using immunohistochemistry method, meanwhile the spermatozoa morphology was examined by using microscope. The result of this research shows that therapy of mangosteen peel ethanol extract toward cigarette-smoked rats could significantly ( $p < 0.05$ ) increase the CREM expression and reduce spermatozoa abnormality. Thus, it can be concluded that ethanol extract of mangosteen peel which is rich in antioxidant, with higher dosage which is 600mg/kg BW could significantly increase CREM expression and decrease the spermatozoa morphology abnormality.

**Keywords:** Free radicals, mangosteen peel ethanol extract, *cAMP Responsive Element Modulator* (CREM), Spermatozoa morphology

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*) Terhadap Ekspresi cAMP Responsive Element Modulator (CREM) dan Morfologi Spermatozoa Pasca Paparan Asap Rokok Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan ” ini dapat terselesaikan.

Pada penulisan ini penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

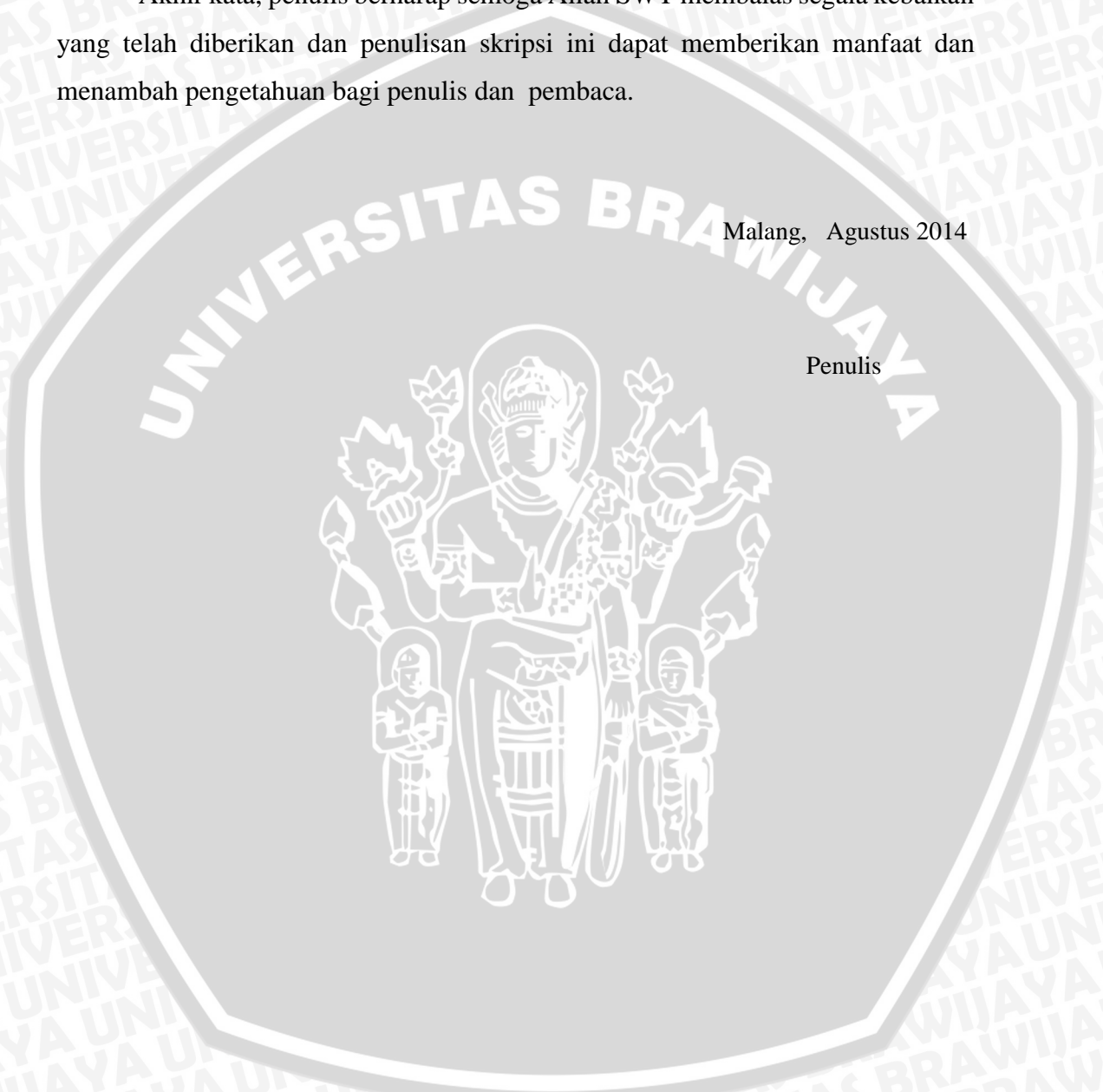
1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan dan dosen pembimbing pertama atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu.
2. Dr. Agung Pramana Warih Marhendra, M.S selaku Ketua Program Kedokteran Hewan dan dosen pembimbing kedua atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu.
3. drh. Analis Wisnu Wardhana M. Biotech dan drh. Herlina Pratiwi selaku dosen penguji atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu.
4. Nabel Ahmed A. Mansour atas kesempatannya untuk turut serta dalam penelitian ini.
5. Seluruh staf serta asisten Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya khususnya Vivi Shofia dan Elhaq selaku asisten pendamping, Pak Har yang telah membantu dalam merawat hewan coba, dan Pak Maryono yang telah membantu saat penelitian.
6. Keluarga penulis, Ibu dan Ayah tercinta yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa yang tiada henti demi keberhasilan putranya.
7. Rinta N.A, Fitria R.P, Yusrina, Wisdiani, Nunung, Yusuf Irfandi, Bernadhita, Devi C., Devi A. Dan Bimaldy yang memberikan motivasi dan hiburan untuk menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman angkatan 2010 yang selalu memberikan dorongan semangat, inspirasi.

9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan penulisan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan bagi penulis dan pembaca.

Malang, Agustus 2014

Penulis



## DAFTAR ISI

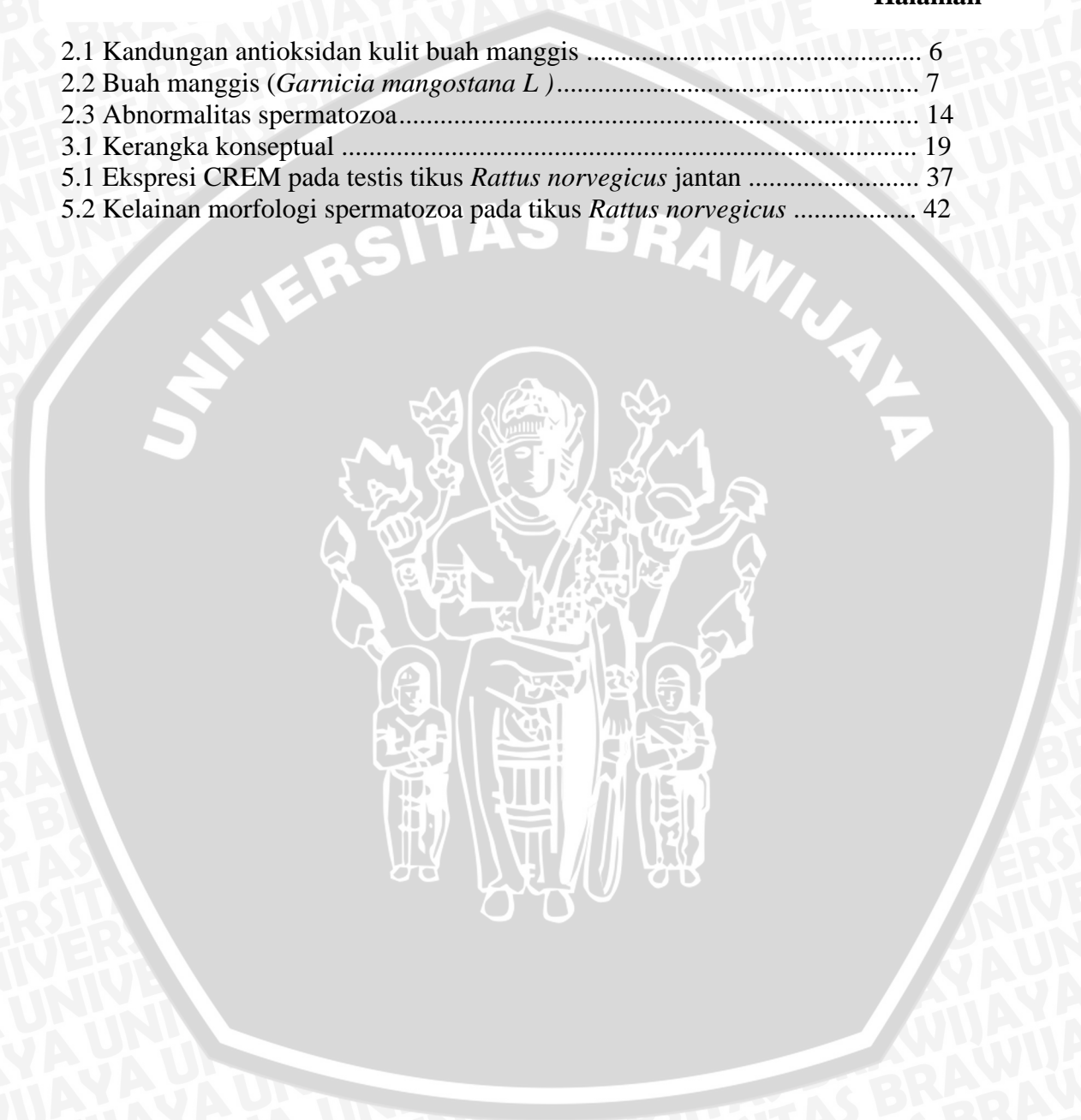
|   | Halaman |
|---|---------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                                  | i       |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI</b> .....                      | ii      |
| <b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....                              | iii     |
| <b>ABSTRAK</b> .....  | iv      |
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....                                 | vi      |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                                     | viii    |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                                  | x       |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                                   | xi      |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....                                | xii     |
| <b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....                     | xiii    |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....                             | 1       |
| 1.1 Latar Belakang .....                                    | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                   | 3       |
| 1.3 Batasan Masalah .....                                   | 4       |
| 1.4 Tujuan Penelitian .....                                 | 4       |
| 1.5 Manfaat Penelitian .....                                | 5       |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....                        | 6       |
| 2.1 Manggis ( <i>Garcinia mangostana L.</i> ) .....         | 6       |
| 2.1.1 Sistematika Tumbuhan .....                            | 7       |
| 2.1.2 Habitat .....   | 7       |
| 2.1.3 Nama Daerah .....                                     | 8       |
| 2.1.4 Morfologi Tumbuhan Manggis .....                      | 8       |
| 2.1.5 Kandungan Kimia Kulit Buah Manggis .....              | 9       |
| 2.1.6 Khasiat Tumbuhan Manggis .....                        | 9       |
| 2.1.7 Xanthone .....  | 9       |
| 2.2 Morfologi Spermatozoa .....                             | 10      |
| 2.2.1 Kepala Spermatozoa .....                              | 11      |
| 2.2.2 Akrosom .....   | 11      |
| 2.2.3 Ekor Spermatozoa .....                                | 12      |
| 2.2.4 Kelainan Morfologi Spermatozoa .....                  | 13      |
| 2.2.5 Faktor Yang Mempengaruhi Abnormalitas Spermatozoa ... | 14      |
| 2.3 cAMP Responsive Element Modulator .....                 | 15      |
| 2.4 Asap Rokok .....  | 16      |
| 2.5 Radikal Bebas .....                                     | 17      |
| <b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b> .....           | 19      |
| 3.1 Kerangka Konseptual .....                               | 19      |
| 3.2 Hipotesis Penelitian .....                              | 22      |
| <b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....                    | 23      |
| 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....                       | 23      |
| 4.2 Sampel Penelitian .....                                 | 23      |
| 4.3 Rancangan Penelitian .....                              | 24      |
| 4.4 Variabel Penelitian .....                               | 24      |



|   |           |
|---|-----------|
| 4.5 Alat dan Bahan .....  | 24        |
| 4.6 Tahapan Penelitian .....  | 25        |
| 4.7 Cara Kerja Penelitian.....  | 26        |
| 4.7.1 Pembuatan Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) .....   | 26        |
| 4.7.2 Uji Tanin .....   | 27        |
| 4.7.3 Maserasi Dengan Ethanol 50% .....   | 27        |
| 4.7.4 Destilasi Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) .....   | 28        |
| 4.7.5 Uji Fitokimia Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) .....   | 28        |
| 4.7.6 Analisis KLT (Kromatografi Lapis Tipis) .....   | 29        |
| 4.7.7 Penyiapan Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Strain Wistar .....   | 29        |
| 4.7.8 Pemaparan Asap Rokok.....   | 30        |
| 4.7.9 Terapi Hewan Coba Terpapar Asap Rokok Dengan Ekstrak Ethanol Kulit Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> ) .....  | 30        |
| 4.7.10 Pengambilan Organ Testis .....   | 31        |
| 4.7.11 Pengamatan Morfologi Sperma .....  | 31        |
| 4.7.12 Embedding Testis .....   | 32        |
| 4.7.13 Pembuatan Preparat Testis .....  | 32        |
| 4.7.14 Ekspresi CREM dengan Metode Imunohistokimia .....  | 33        |
| 4.7.15 Analisis Data .....  | 34        |
| <b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>   | <b>35</b> |
| 5.1 Pengaruh ekstrak ethanol kulit buah manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) terhadap cAMP responsive element modulator pasca paparan asap rokok pada tikus <i>Rattus norvegicus</i> jantan strain wistar ..... | 35        |
| 5.2 Pengaruh ekstrak ethanol kulit buah manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) terhadap morfologi spermatozoa pasca paparan asap rokok pada tikus <i>Rattus norvegicus</i> jantan strain wistar .....             | 40        |
| <b>BAB 6 PENUTUP .....</b>  | <b>46</b> |
| 6.1 Kesimpulan .....  | 46        |
| 6.2 Saran .....   | 46        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>   | <b>48</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>  | <b>52</b> |

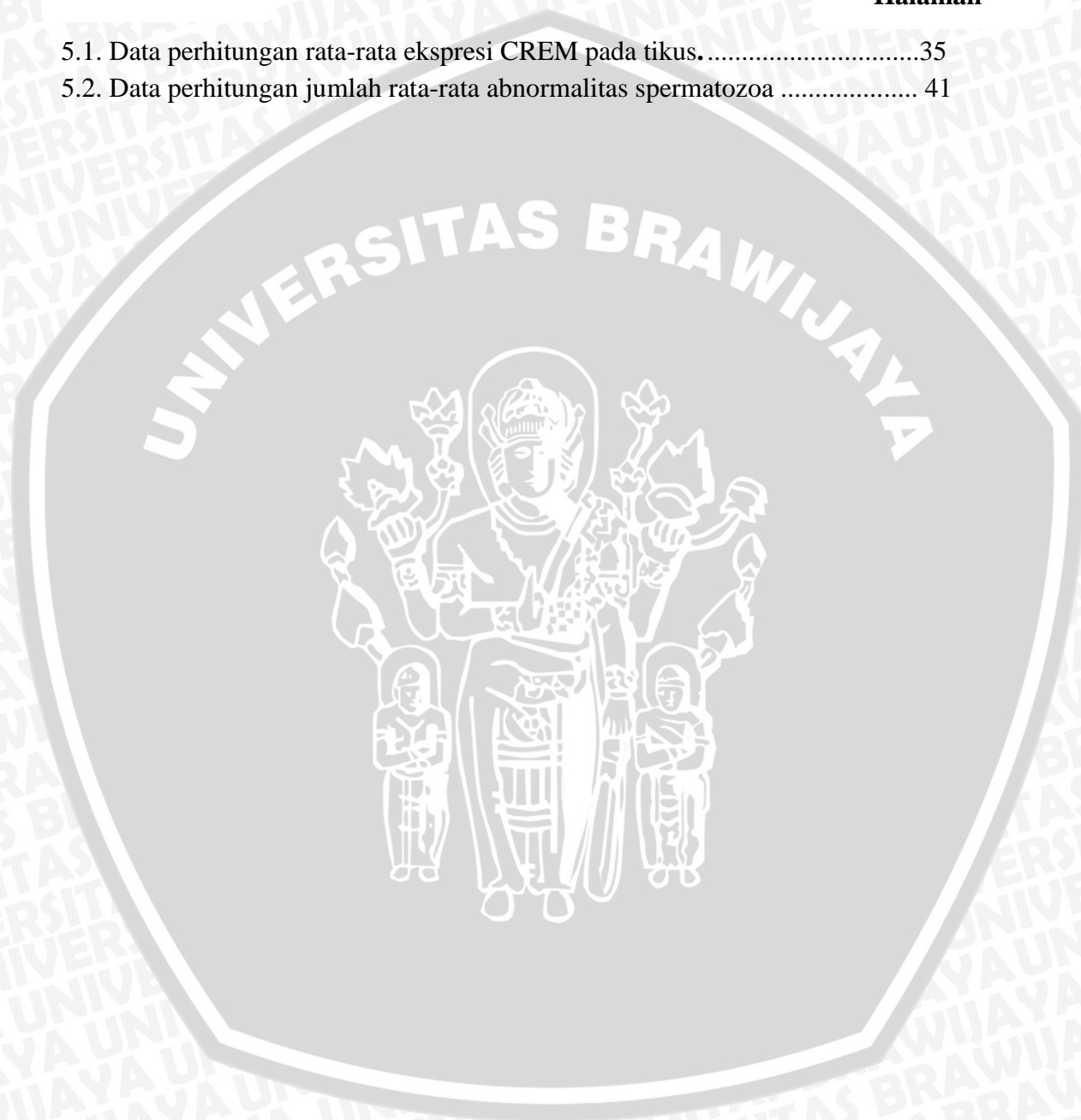
## DAFTAR GAMBAR

| Gambar   | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Kandungan antioksidan kulit buah manggis .....                           | 6       |
| 2.2 Buah manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) .....                      | 7       |
| 2.3 Abnormalitas spermatozoa .....   | 14      |
| 3.1 Kerangka konseptual .....  | 19      |
| 5.1 Ekspresi CREM pada testis tikus <i>Rattus norvegicus</i> jantan .....    | 37      |
| 5.2 Kelainan morfologi spermatozoa pada tikus <i>Rattus norvegicus</i> ..... | 42      |



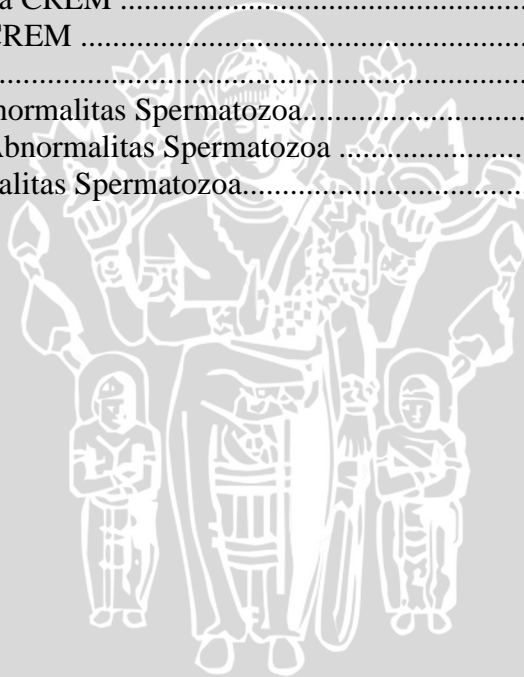
## DAFTAR TABEL

| Tabel   | Halaman |
|---|---------|
| 5.1. Data perhitungan rata-rata ekspresi CREM pada tikus.....         | 35      |
| 5.2. Data perhitungan jumlah rata-rata abnormalitas spermatozoa ..... | 41      |



## DAFTAR LAMPIRAN

| <b>Lampiran</b>  | <b>Halaman</b> |
|--|----------------|
| 1. Keterangan Laik Etik .....                                    | 52             |
| 2. Skema Kerja Penelitian .....                                  | 53             |
| 3. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Manggis .....                    | 54             |
| 4. Maserasi dengan Ethanol 50% .....                             | 55             |
| 5. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis .....         | 56             |
| 6. Hasil KLT dan IR pada Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis ..... | 57             |
| 7. Diagram Kerja Penelitian .....                                | 60             |
| 8. Perhitungan Pembuatan Larutan .....                           | 64             |
| 9. Perhitungan Dosis .....                                       | 66             |
| 10. Uji Normalitas Data CREM .....                               | 68             |
| 11. Uji Homogenitas CREM .....                                   | 69             |
| 12. Uji Tukey CREM .....   | 70             |
| 13. Uji Normalitas Abnormalitas Spermatozoa.....                 | 71             |
| 14. Uji Homogenitas Abnormalitas Spermatozoa .....               | 72             |
| 15. Uji Tukey Abnormalitas Spermatozoa.....                      | 73             |



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

| <u>Simbol/singkatan</u>          | <u>Keterangan</u>                              |
|----------------------------------|--|
| ANOVA                            | <i>Analysis of Variant</i>                     |
| ROS                              | <i>Reactive Oxygen Species</i>                 |
| FSH                              | <i>FoliceL Stimulating Hormon</i>              |
| CREM                             | <i>cAMP Responsive Element Modulator</i>       |
| BSA                              | <i>Bovine Serum Albumin</i>                    |
| R-FSH                            | <i>Reseptor FoliceL Stimulating Hormon</i>     |
| CAMP                             | <i>Cyclic Adenosine Monophosphat</i>           |
| UV                               | <i>Ultraviolet</i>                             |
| SA-HRP                           | <i>Strep Avidin-horse Radish Peroxidase</i>    |
| DAB                              | <i>Diamino Benzidine</i>                       |
| CREB                             | <i>cAMP Responsive Element Binding Protein</i> |
| PKA                              | <i>Protein kinase A</i>                        |
| RAL                              | <i>Rancangan Acak Lengkap</i>                  |
| BNT                              | <i>Beda Nyata Terkecil</i>                     |
| PFA                              | <i>Paraformaldehida</i>                        |
| PBS                              | <i>Phosphate Buffer Saline</i>                 |
| KLT                              | <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>                |
| NaCl                             | <i>Natrium Klorida</i>                         |
| KCl                              | <i>Kalium Klorida</i>                          |
| KHPO <sub>4</sub>                | <i>Potasium Hidrogen Sulfat</i>                |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | <i>Natrium Hidrogenfosfat</i>                  |
| H <sub>2</sub> O                 | <i>Aquades</i>                                 |
| NaOH                             | <i>Natrium Hidroksida</i>                      |
| HCl                              | <i>Asam Klorida</i>                            |
| CHCl <sub>3</sub>                | <i>Triklorometana (Kloroform)</i>              |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   | <i>Asam Sulfat</i>                             |
| NH <sub>3</sub>                  | <i>Amonia</i>                                  |
| IR                               | <i>Inframerah</i>                              |
| Kg                               | <i>Kilogram</i>                                |
| BB                               | <i>Berat Badan</i>                             |
| CEMP                             | <i>Crude Extract from Mangosteen Peel</i>      |