

**GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT
(*Mus musculus* Linn.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA AKIBAT
PEMBERIAN TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
SEBAGAI FAKTOR ANTI AGING**

(Skripsi)

Oleh

**Ayu Fikri Damayanti
1917061011**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* Linn.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA AKIBAT PEMBERIAN TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) SEBAGAI FAKTOR ANTI AGING

Oleh

Ayu Fikri Damayanti

D-galaktosa dapat meningkatkan stress oksidatif yang menginduksi proses penuaan. Peningkatan stres oksidatif terjadi karena dampak dari ketidakseimbangan produksi radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel-sel spermatogenik dan sel Sertoli maka akan menyebabkan pengurangan pada tebal epitel tubulus seminiferus. Salah satu yang dapat membantu melindungi sel terhadap kerusakan akibat radikal bebas yaitu senyawa aktif yang terkandung di dalam Tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap Jumlah sel-sel spermatogenik dan ketebalan epitel germinal tubulus seminiferus mencit (*Mus Musculus* Linn.) yang diinduksi D-galaktosa. Penelitian ini dilaksanakan dari Desember 2022- April 2023 menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 kelompok, yakni kontrol (tidak diberi perlakuan apapun hanya makan dan minum), Kontrol negatif (diberi D-galaktosa saja), Perlakuan satu (diinduksi D-galaktosa dan tinta cumi-cumi 40mL/kgBB), dan perlakuan dua (diinduksi D-galaktosa dan tinta cumi-cumi 100mL/kgBB) selama 35 hari. Hasil penelitian dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* taraf 5 % dan dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk melihat perbedaannya secara signifikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah sel-sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid) serta Tebal epitel tubulus seminiferus menurun akibat dari penginduksian D-galaktosa dan terjadi peningkatan saat diinduksikan Tinta cumi-cumi, yang mana hasil paling baik di tunjukkan pada kelompok Perlakuan 2 (100mL/KgBB).

Kata kunci: D-galaktosa, Stress Oksidatif, Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.), Tubulus Seminiferus.

**GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* Linn.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA AKIBAT
PEMBERIAN TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
SEBAGAI FAKTOR ANTI AGING**

**Oleh
Ayu Fikri Damayanti**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
Sarjana Sains**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **GAMBARAN HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* Linn.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA AKIBAT PEMBERIAN TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) SEBAGAI FAKTOR ANTI AGING**

Nama Mahasiswa : **Ayu Fikri Damayanti**

NPM : 1917061011

Jurusan : Biologi

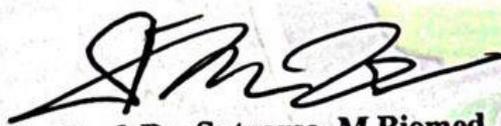
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.
NIP. 19570424 198703 1 001



Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.
NIP. 19590101 198703 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi FIMPA



Dr. Jani Master, S.Si, M.Si
NIP. 19830131 200812 1 001

MENGESAHKAN

Tim Penguji

Ketua

: Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed.



Sekretaris

: Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed.



Penguji Utama

: Drs. Kanedi, M. Si.



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M. Si.

NIP.197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 22 Juni 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ayu Fikri Damayanti
NPM : 1917061011
Program Studi : Biologi Terapan
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan ini bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah, maka saya siap mempertanggung jawabkannya.

Bandar Lampung, Juli 2023



Ayu Fikri Damayanti

1917061011

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 28 Februari 2001, Sebagai anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Baheramsyah dan Ibu Eva Tevisa Yurlawati. Penulis menempuh Pendidikan pertama di Taman Kanak- Kanak Kartika II-28 Bandar Lampung pada tahun 2006 – 2007, Kemudian melanjutkan Pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Rawa Laut, Bandar Lampung pada tahun 2007 hingga lulus tahun 2013, selanjutnya Penulis melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di SMP N 4 Bandar Lampung pada tahun 2013 hingga lulus tahun 2016. Penulis kemudian menyelesaikan Pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA N 1 Bandar Lampung dan lulus di tahun 2019. Pada tahun yang sama yaitu Tahun 2019, penulis diterima di Perguruan Tinggi Universitas Lampung (UNILA) sebagai mahasiswa di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Jurusan Biologi, Program Studi Biologi Terapan melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi salah satu anggota Vocal Biologi terapan dan pernah mengikuti kegiatan kampus merdeka yaitu Program Krendensial Mikro Mahasiswa Indonesia (KMMI) dengan Materi Pembelajaran “ Pengelolaan Limbah Perkebunan Sawit”. Penulis Melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bandar Negeri, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur

pada Tahun 2022 dan pada tahun yang sama Penulis Menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

PERSEMBAHAN

*Bismillahiromanirohim. Allahuma sholli ala sayyidina Muhammad,
wa'ala ali sayyidina Muhammad.*

Dengan mengucapkan rasa syukur yang tak terhingga atas berkat dan rahmat Allah Yang Maha Kuasa, kupersembahkan skripsi ini yang kukerjakan dengan sepenuh hati ini kepada:

Kedua Orangtuaku,

Bapak Baheramsyah dan Ibu Eva Tevisa Yurlawati
*yang cinta, kasih, dan sayangnya tak terbatas serta tak kenal lelah
memberikan nasihat dan dukungan sehingga skripsi ini selesai dengan
tepat waktu.*

Diri Sendiri,

Ayu Fikri Damayanti

*Seorang anak perempuan dengan mimpi yang tinggi, yang sudah
bertahan sampai sejauh ini dalam menjalani proses hidup dan selama
meraih pendidikan.*

Dosen-dosen pembimbing dan pembahasku,

***Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed., Prof. Dr. Hendri Busman, M.
Biomed., dan Drs. M. Kanedi, M.Si***

*yang sudah sepenuh hati membantu, mendukung, serta memfasilitasi
segala bentuk rangkaian dan proses dalam penelitian hingga
terciptanya penulisan skripsi ini.*

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada TUHAN mu lah engkau berharap”

(Q.S. Al-Insyirah: 6-8)

*"Minta pertolongan dengan sabar dan shalat.
Sesungguhnya ALLAH bersama orang-orang yang sabar"*

(QS. Al-Baqarah, 153)

"Success doesn't rush the greatest reward in the journey"

"Don't study with a fear of failing, Study with a hope of succeeding"

*"Pendidikan merupakan senjata paling ampuh yang bisa kamu gunakan
merubah dunia"*

(Nelson Mandela)

SANWACANA

Bismillahirrahmanirrohim. Alhamdulillah rabbil alamin, washolatu wassalamu 'ala asrofilambiya'i wal mursalin wa 'ala alihi wasohbihi Rasulillahi ajma'in.

Puji dan syukur senantiasa penulis haturkan kepada Allah SWT atas ridha, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan proses penulisan skripsi ini dengan baik. Skripsi ini mungkin masih memiliki banyak kekurangan, namun penulis sangat bersyukur atas dukungan, bimbingan, bantuan, kritik dan saran dari berbagai pihak sehingga penulis mampu menyelesaikan proses pembuatan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Baheramsyah dan Ibu Eva Tevisa Yurlawati, yang senantiasa mencurahkan cinta, kasih, dan sayang yang tak terbalaskan, memberikan dukungan dalam bentuk ucapan dan do'a, memotivasi penulis dengan nasihat-nasihat terbaik, dan memenuhi segala kebutuhan anak-anaknya dengan penuh semangat dan pantang menyerah.
2. Abangku M. Ganta Maulana Akbar, yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis, menghibur di masa-masa sulit, dan mendukung segala usaha penulis.
3. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed. selaku Pembimbing 1 yang telah membimbing dan memberikan ilmu-ilmu terbaik, memberikan semangat dan motivasi, serta memberikan kritik dan saran yang membangun selama perkuliahan, penelitian, maupun masa-masa penyusunan skripsi.
4. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed. selaku Pembimbing 2 yang telah memberikan banyak ilmu dan motivasi, serta membimbing dengan penuh kesabaran hingga terselesaikannya penelitian maupun proses penyusunan skripsi.

5. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Pembahas yang telah banyak juga memberikan banyak ilmu dan motivasi, serta memberi arahan dan masukan yang bermanfaat sehingga proses penyusunan skripsi ini terlaksanakan dengan baik.
6. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu mengarahkan dalam menentukan keputusankeputusan terbaik selama masa perkuliahan.
7. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM. selaku Rektor Universitas Lampung periode 2023-2027.
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
9. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
10. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung.
11. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik dan selaku Ketua Program Studi Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung Periode 2019-2023.
12. Bapak Ali Bakri, S. P. selaku Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) yang selalu membantu proses penelitian dan memberikan dukungan serta semangat hingga skripsi ini terselesaikan.
13. Bapak Ibu Dosen serta Staff yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, penulis mengucapkan terimakasih atas bimbingann dan ilmu yang sudah diberikan kepada penulis selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
14. Teman-teman tim penelitian cumi-cumi, Dewi Restika Ayu Safitri dan Salsabila Balqis yang selalu saling membantu dan senantiasa memberi semangat selama melaksanakan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
15. Teman- Temanku, Mustika Putri, Nabilla Sesar Thalia, Sabilla Nurul Pasha, Jenisa Tri Oktavia, Romi Pratama, Catur Pamungkas, Teguh Suryo Yuliandre, Arjuna Risky, Harrys Bangkit, dll yang telah memberikan banyak dukungan, serta menghibur di masa-masa sulit hingga proses penyelesaian skripsi ini.

16. Teman, Sahabat, dan Pacarku, M. Faiq Teza Putra, yang telah memberikan semangat, memotivasi jikalau malas, dan senantiasa menemani dikala susah dan senang di dalam proses terbentuknya skripsi ini.
17. Teman-teman kuliahku Zikrina Marentina, Faninda Dikna, Yolanda Nababan, Azahra Putri Najla, Ma'ania Zalzabila, Ratna Oktavia yang g tidak pernah lelah memotivasi, memberi semangat dan saling membantu selama masa perkuliahan dan penelitian.
18. Teman-Teman seperjuangan Laboratorium Zoologi, Viki Ramadan, Dinda Shafa Tiarannisa, Mala Irma Pramita, Nurul Apriani Adinda, Jensa Yuswantoro, Muhammad Ilyas.
19. Seluruh teman-teman angkatan (S1 Biologi dan S1 Biologi Terapan 2019) yang telah berjuang bersama hingga akhir.
20. Teman-temann KKN Pekon Bandar Negeri yang telah memberikan dukungan serta semangat.

Bandar Lampung, Juli 2023

Penulis

AYU FIKRI DAMAYANTI

DAFTAR ISI

	Halaman
PERSEMBAHAN	viii
MOTTO	ix
SANWACANA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Kerangka Pikiran	4
1.5 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Penuaan	8
2.2 Radikal Bebas dan Antioksidan	10
2.3 D-galaktosa	11
2.4 Cumi-Cumi	12
2.5 Anti-aging	14
2.6 Tinta cumi-cumi (<i>Loligo.sp.</i>)	15
a. Mencit (<i>Mus Musculus Linn.</i>)	16
2.8 Sistem Reproduksi Mencit Jantan.....	18
2.9 Spermatogenesis pada mencit	21
III. METODE PENELITIAN	23
3.1 Waktu dan Tempat	23
3.2 Alat.....	23
3.3 Bahan	24
3.4 Prosedur kerja	24
3.4.1 Pemeliharaan Mencit	24
3.4.2 Pengambilan Tinta Cumi-Cumi (<i>Loligo sp.</i>)	24
3.4.3 Pemberian Perlakuan	25
3.4.4 Rancangan penelitian.....	26
3.4.5 Parameter yang diamati	27
3.4.5 Proses Pembedahan Mencit.....	28

	xiv
3.5 Pengamatan	28
3.5.1 Teknik Pembuatan Slide	28
3.5.2 Pengamatan Jumlah Sel Spermatogonium, Spermatisit Primer dan Spermatisid	30
3.5.3 Pengamatan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	30
3.6 Analisis Data	31
3.7 Diagram Alir Metode Penelitian	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil	33
4.1.1 Pengamatan Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i> Linn.)	33
4.1.2 Jumlah Sel Spermatogenik	33
4.1.3 Tebal Jaringan Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i> Linn.)	36
4.2 Pembahasan	38
4.2.1 Pengaruh D-galaktosa dan Tinta cumi-cumi terhadap Kualitas dan kuantitas Sel-sel spermatogenik	38
4.2.2 Pengaruh D-galaktosa dan Tinta cumi-cumi terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	44
V. KESIMPULAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Skema Rancangan Penelitian	27
2. Rata- rata Jumlah Sel Spermatogonium Mencit (<i>Mus Musculus</i> Linn.)	34
3. Rata-rata Jumlah Sel Spermatisit Primer Mencit	34
4. Rata-rata jumlah sel spermatid mencit (<i>Mus musculus</i> Linn.).....	35
5. Rata-rata Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i> Linn.)....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme faktor penyebab penuaan (Kumar <i>et al.</i> , 2012)	9
2. Morfologi Cumi-cumi (Nurhasanah, 2016).	13
3. Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) (Tambupol, 2014)	16
4. Sistem reproduksi Mencit Jantan (Adil., <i>et al.</i> , 2005).....	18
5. Spermatogenesis Mencit (Pramesemara, 2010)	22
6. Potongan Melintang tubulus seminiferus testis mencit (<i>Mus musculus</i> Linn.) dari semua kelompok perlakuan yang menunjukkan Jumlah sel-sel spermatigenik tubulus seminiferus mencit	36
7. Potongan Melintang tubulus seminiferus testis mencit (<i>Mus musculus</i> Linn.) dari semua kelompok perlakuan yang menunjukkan tebal epitel tubulus seminiferus mencit	38

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kini kesadaran orang-orang akan penuaan sudah mengalami peningkatan, penuaan harusnya dianggap sebagai penyakit dan bukanlah sesuatu yang dapat dihindarkan. Ini merupakan suatu penyakit degenerative dan berjalan secara progresif dengan terjadinya sel yang mulai rusak, jaringan, dan organ tubuh manusia, yang nantinya dapat berakibatkan fatal. Sebagai pencegahan, dunia kedokteran mulai menerima bahwa konsep penuaan atau aging dapat dicegah dan diobati (Sutyarso, 2017).

Meningkatnya berat badan merupakan salah satu pertanda penuaan (He *et al.*, 2020). Faktor penyebab penuaan dini meliputi faktor internal dan eksternal. Faktor internal terdiri dari faktor genetic (Tosato *et al.*, 2007), hormon (Diloreto *et al.*, 2013), stress (Liochev & Court, 2015), dan ras (Huang, 2017). Faktor internal tidak bisa dihindari karena ia berlangsung secara alamiah pada manusia. Faktor eksternal antara lain adalah sinar matahari, merokok, mengkonsumsi minuman alkohol berlebihan, pola makan yang buruk, dan radikal bebas (Sgarbieri *et al.*, 2017).

Salah satu yang dapat menyebabkan penuaan yaitu dengan D-galaktosa. Dengan memberikan D-galaktosa dalam jumlah besar dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada berbagai jaringan dan organ sebab, paparan sistemik terhadap D-galaktosa mempercepat proses biokimia dan morfologis penuaan termasuk sistem saraf pusat (Cardoso *et al.*, 2015).

Saat pemberian dosis D-galaktosa melebihi dosis normal dapat meningkatkan stress oksidatif yang menginduksi proses penuaan. Indikator proses penuaan

salah satu ditandai dengan peningkatan berat badan mencit (Shwe *et al.*, 2018).

Salah satu teori penuaan terjadi karena meningkatnya radikal bebas yang sejalan dengan bertambahnya umur, dan ROS (reactive oxygen species) ialah penanda (biomarkers) dengan terjadinya radikal bebas (Desai *et al.*, 2010). Meningkat usia kronologis (yaitu penuaan) bisa memengaruhi sistem reproduksi pada pria. Akumulasi reaktif spesies oksigen (ROS) dan hilangnya aktivitas telomerase yang menyertai penuaan dapat mengurangi kinerja sistem reproduksi laki-laki (Cocuzza *et al.*, 2008).

Dampak dari penuaan pada organ reproduksi juga dapat dilihat pada morfologi testis dan epididimis. Pada usia lanjut, terjadi perubahan degeneratif pada volume testis. Adanya hubungan negatif antara bertambahnya usia dan penurunan volume testis hingga 31% dan pengurangan ukuran testis (Sharma *et al.*, 2015).

Manna *et al.* (2004) memaparkan bahwa, reactive oxygen species (ROS) bisa merusak hampir seluruh makromolekul seluler termasuk membran asam lemak tak jenuh ganda, beberapa protein dan DNA, serta berpotensi menurunkan fungsi seluler. Membran testis banyak mengandung asam lemak tak jenuh ganda sehingga rentan terhadap stress oksidatif (Du Plessis *et al.*, 2011). Stress oksidatif meningkat di dalam tubuh sehingga menyebabkan atrofi testis, merusak tubulus seminiferus, dan mengganggu aktivitas organ reproduksi dalam memproduksi sperma (Ozan, 2014).

Penurunan volume testis ini juga dikaitkan dengan penurunan jumlah sel spermatogenik dan sel Sertoli. Secara histologis, ini bisa dibuktikan dengan gambaran tubulus seminiferus yaitu dengan mengamati perubahan degeneratif pada epitel germinal dan penurunan jumlah sel Leydig (Johson, 1986). Radikal bebas yang meningkat didalam tubuh menyebabkan terganggunya proses pembelahan sel-sel germinal dari spermatogenesis awal

yang menyebabkan banyaknya sel spermatogonium tidak berhasil mengalami proliferasi ke tahap selanjutnya (Turner, 1988).

Terganggunya spermatogenesis di tubulus seminiferus yang akan menurunkan kualitas sperma, dan berakhir pada infertilitas (Ozan, 2017). Untuk menangani hal tersebut, maka jumlah ROS harus dikurangi dengan menaikkan kadar antioksidan dalam tubuh (Saryono, 2013).

Dalam mengatasi proses penuaan (anti-aging) akibat dari radikal bebas yang meliputi kerusakan sel-sel spermatogenik oleh faktor radikal bebas dapat dicegah dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan (Droge, 2002). Salah satu bahan pangan yang mengandung antioksidan adalah tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.). Tinta cumi sangat tinggi dalam beberapa hal penting seperti nutrisi, terutama antioksidan, yang terkenal dapat membantu melindungi sel terhadap kerusakan akibat radikal bebas. Warna tinta cumi-cumi biru-hitam yang mencolok karena adanya pigmen melanin dalam jumlah besar. Pigmen melanin dibuat dalam sel-sel dewasa kelenjar tinta yang ada di bagian bawah kantung tinta (Palumbo *et al.*, 1997). Melanin atau pigmen hitam merupakan melanoprotein yang mengandung 10- 15% protein, yang terdiri dari asam amino esensial dan non esensial dan polisakarida sulfat (Luo & Liu 2013).

Tinta cumi-cumi mempunyai sifat alkaloid, akibatnya tidak disukai oleh pemangsa lainnya, terutama ikan. Alkaloid adalah kumpulan terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa. Beberapa jenis alkaloid memiliki fungsi dalam pengobatan antara lain sebagai antiinflamasi, antihipertensi, antidiare, antidiabetes, antimikroba dan antimalaria, tetapi ada juga yang bersifat racun (Wink, 2008).

Eumelanin yang dimiliki tinta cumi mengandung tinta seperti eumelanin terdiri dari 5,6- dihydroxyindole (DHI) dan 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) dan 2-carboxyl indole yang dapat memperlambat proses stress oksidasi (Lei *et al.*, 2007). Tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) juga bisa memperbaiki

jaringan testis dan menaikkan kualitas terhadap sperma (Yi-peng *et al.*, 2017).

Oleh karena itu, penelitian ini dilaksanakan guna membuktikan kemampuan yang dimiliki oleh tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) sebagai *anti-aging* yang diamati dari Histologi Tubulus seminiferus yang meliputi beberapa parameter yaitu, Jumlah sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatid dan ketebalan lapisan epitel germinal yang diinduksi dengan D-galaktosa

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap:

1. Jumlah sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatogonium, sel spermatosit primer, dan sel spermatid mencit (*Mus musculus* Linn.) yang diinduksi D-Galaktosa.
2. Ketebalan epitel germinal tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* Linn.) yang diinduksi D-galaktosa.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap struktur histologi tubulus seminiferus yang meliputi jumlah sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatid, dan Ketebalan epitel germinal.

1.4 Kerangka Pikiran

Penuaan adalah proses biologis kompleks yang melibatkan perubahan di tingkat molekuler, seluler dan organisme. Proses penuaan tidak hanya diakibatkan oleh usia kronologis tetapi juga dapat dipercepat oleh faktor lingkungan yang berhubungan dengan stres oksidatif. D-galaktosa sudah

digunakan dalam penelitian secara *in vivo* untuk menginduksi pembentukan stress oksidatif menyamai proses penuaan alami yang terjadi pada mencit (Wang, *et al.*, 2012).

Akibat yang terjadi dari pemberian D-galaktosa terhadap proses penuaan bisa dilihat berdasarkan 2 aspek yaitu dosis dan lama pemberian. Pemberian D-galaktosa dosis rendah dapat dibangun tubuh dengan cara memetabolismenya. Hal ini tidak berlaku pada pemberian D-galaktosan dosis tinggi (Wang, *et al.* 2012), karena dosis tinggi nantinya akan merubah D-galaktosa menjadi aldosa dan hidroperoksida dengan bantuan enzim galaktosa oksidase. Proses ini bisa merangsang produksi radikal bebas (Mohammadirad, *et al.* 2013).

Testis adalah organ reproduksi yang tersusun atas tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus tersusun atas dua jenis sel, yaitu sel germinativum dan sel sertoli. Sel germinativum sebagian besar berada dalam berbagai tahap perkembangan spermatogonia (Tash *et al.*, 2008). Sel Sertoli memiliki ciri khas berbentuk piramidal dengan dasar sel melekat pada lamina basalis dan ujung apikalnya menjorok ke lumen tubulus. Sel Sertoli ini terletak di antara sel sel spermatogenik (Muzakki *et al.*, 2015).

Proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus tergantung pada regulasi hormon reproduksi yaitu Luteinizing hormone (LH) dan Folicle Stimulating hormone (FSH). Sekresi LH yang mengalami penurunan mengakibatkan sel Leydig di testis menghasilkan lebih sedikit testosteron. Secara bersamaan FSH dengan testosteron menurunkan rangsangan spermatogenesis pada tubulus seminiferus akibatnya sperma yang dihasilkan menurun (Sobti, 2008).

Struktur mikroanatomi tubulus seminiferus testis yang baik menunjukkan kelompok sel spermatogenik tersusun berlapis sesuai dengan tingkat perkembangannya dari membran basalis ke arah lumen tubulus yaitu spermatogonia, spermatosit, dan spermatid (Fawcett, 2002).

Tash *et al.*, (2008) memaparkan bahwa senyawa antifertilitas memengaruhi struktur tubulus seminiferus sehingga menyebabkan perubahan spermatogenic index.

Cumi–cumi memiliki suatu kantung yang di dalamnya terdapat tinta yang fungsinya sebagai pertahanan yang akan berkontraksi dan mengeluarkan cairan berwarna hitam di sekitar tubuhnya ketika mendapatkan serangan dari predator lain. Sifat tinta cumi–cumi adalah alkaloid, yang mengakibatkan para predator tidak menyukainya, terutama ikan. Alkaloid ialah suatu kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan mempunyai sifat yang basa. Beberapa alkaloid diterindikasi memiliki kegunaan di bidang pengobatan. Pada umumnya cairan tinta cumi–cumi mempunyai kandungan pigmen melanin yang secara alami terdapat dalam bentuk melanoprotein dengan kandungan melanin 90%, protein 5,8% dan karbohidrat 0,8% (Agusandi, 2013).

Penelitian tentang tinta cumi di Indonesia masih belum banyak dilakukan, namun terdapat sumber menyatakan bahwa melanin atau pigmen hitam merupakan unsur utama dari tinta cumi (Derby, 2014). Menurut Lei *et al* (2013) penelitian pada tinta cumi menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik dan dapat menahan reaksi oksidatif.

Polisakarida tinta cumi (SIP), produk laut alami, mempunyai kemampuan antioksidan dan menghilangkan aktivitas radikal bebas *in vivo* dan *in vitro*. SIP telah terbukti mempunyai kemampuan antioksidan dan aktivitas proteksi kemoterapi pada hewan model. (Luo *et al.*,2013 & Zhong, *et al.*, 2009).

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dapat memperbaiki kerusakan histologi tubulus seminiferus yang diinduksi D-galaktosa dengan mengamati Jumlah sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit

primer, dan sel spermatid mencit (*Mus musculus* Linn.) yang diinduksi D-Galaktosa.

2. Pemberian tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dapat memperbaiki gambaran kerusakan histologi tubulus seminiferus dengan mengamati lapisan epitel germinal tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* Linn.) yang diinduksi D-galaktosa.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penuaan

Proses penuaan (*aging process*) adalah terjadinya suatu proses yang alami ditandai dengan adanya penurunan atau perubahan kondisi fisik, psikologis maupun sosial dalam berinteraksi dengan orang lain (Handayani *et al.*, 2013). Diantara tahun 2015-2050, diperkirakan lanjut usia atau usia diatas 60 tahun di dunia hampir menjadi dua kali lipat dari sekitar 12% menjadi 22% (WHO, 2017).

Secara umum, penuaan adalah terjadi perubahan secara reguler yang mencakup genetik, biokimia, morfologi, dan fisiologis. Perubahan menyimpang, melanggar dan menyederhanakan struktur dan fungsi sistem kehidupan, sehingga terjadi peningkatan gangguan dan kematian. Singkatnya, penuaan harus dipahami sebagai perubahan kompleks yang berkaitan dengan usia organisme, yang menyebabkan peningkatan probabilitas kematiannya, demikian juga spermatogenesis selama penuaan (Zahidov *et al.*, 2010; Mitchell *et al.*, 2015).

Proses penuaan meliputi bermacam-macam faktor intrinsik maupun ekstrinsik. Faktor intrinsik ialah faktor alamiah yang berasal dari dalam tubuh sendiri seperti genetik, ras, maupun hormonal. Sedangkan faktor ekstrinsik berasal dari luar tubuh. Faktor ini mencakup faktor-faktor lingkungan seperti paparan sinar matahari atau ultraviolet, kelembaban, suhu, serta berbagai faktor lainnya (Vijayprasad *et al.*, 2014). Faktor genetik ini bisa berbentuk gangguan perbaikan DNA, yang apabila terakumulasi dapat menyebabkan terjadinya mutasi. Selain itu, akumulasi berbagai kelainan genetik juga dapat

meyebabkan kelainan pembentukan sinyal sel (Kumar, 2009). Akumulasi kerusakan tersebut merupakan penyebab utama penuaan. Dapat lihat pada gambar dibawah ini mekanisme faktor penyebab penuaan:



Gambar 1. Mekanisme faktor penyebab penuaan (Kumar *et al.*, 2012)

Penuaan, baik itu penuaan fisiologis ataupun penuaan dini mempunyai keterkaitan erat dengan keberadaan radikal bebas di dalam tubuh, yang nantinya dapat menginduksi terjadinya stres oksidatif. Pembentukan radikal bebas dapat terjadi melalui berbagai macam cara, salah satunya melalui metabolisme normal dalam tubuh. Pada saat respirasi normal, oksigen akan mengalami reduksi dengan penambahan empat elektron supaya dapat menjadi air. Perubahan ini diinduksi oleh berbagai enzim oksidatif dalam sel, dan akan dihasilkan sejumlah kecil zat antara toksik seperti anion peroksida (O_2^-), hydrogen peroksida (H_2O_2), dan hydrogen peroksida (OH^-). Zat antara yang toksik tersebut merupakan radikal bebas (Kumar *et al.*, 2012). Radikal bebas yang sudah terbentuk akan mengakibatkan berbagai efek dalam tubuh, seperti terjadinya cedera pada sel yang dapat menginduksi terjadinya penuaan fisiologis maupun penuaan dini (Ahangarpouri *et al.*, 2014).

Radikal bebas merupakan salah satu faktor pemicu terjadi penuaan. Penuaan (aging) ialah suatu proses penumpukkan berbagai perubahan pada sel dan

jaringan sebab terjadinya penambahan umur. Proses penumpukkan tersebut berakibat pada peningkatan risiko munculnya penyakit dan kematian. Selain itu, penuaan juga mengakibatkan kemunduran sistem imun dan penurunan kemampuan organisme dalam beradaptasi terhadap lingkungannya (Troen, 2003).

Ketidaksamarataan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh dapat diakibatkan oleh meningkatnya jumlah radikal bebas, menurunnya produksi antoksidan, atau keduanya. Stres oksidatif bisa mengakibatkan kerusakan sel dan merupakan dasar patogenesis bagi proses penyakit kronis seperti kardiovaskuler, autoimun, pulmoner, gangguan metabolik dan penuaan (Halliwell & Gutteridge, 2007).

2.2 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak mempunyai pasangan (Corwin, 2007).

Radikal bebas merupakan salah satu faktor pemicu terjadi penuaan. Penuaan (aging) ialah suatu proses penumpukkan berbagai perubahan pada sel dan jaringan sebab terjadinya penambahan umur. Proses penumpukkan tersebut berakibat pada peningkatan risiko munculnya penyakit dan kematian. Selain itu, penuaan juga mengakibatkan kemunduran sistem imun dan penurunan kemampuan organisme dalam beradaptasi terhadap lingkungannya (Troen, 2003).

Ketidaksamarataan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh dapat diakibatkan oleh meningkatnya jumlah radikal bebas, menurunnya produksi antoksidan, atau keduanya. Stres oksidatif bisa mengakibatkan kerusakan sel dan merupakan dasar patogenesis bagi proses penyakit kronis seperti kardiovaskuler, autoimun, pulmoner, gangguan metabolik dan penuaan (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang bisa menetralkan dan meredam radikal bebas dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga dapat memperkecil terjadinya kerusakan sel, seperti penuaan dini (Heranani dan Raharjo, 2005). Radikal bebas menyerang membran dan merusak sel dimana dibutuhkan sistem kekebalan tubuh untuk melawannya. Jika pembentukan radikal bebas dan penyerangannya tidak dikendalikan maka dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel.

Kerusakan sel akibat radikal bebas ini dapat diamati secara fisik, diantaranya seperti kulit kering, suram, kendur, dan kurangnya kekenyalan. (Daniel, 2012)

Tubuh menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Sebagai contoh tubuh dapat menghasilkan glutathione, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 100 mg untuk memicu tubuh menghasilkan glutathione ini. Kekurangan antioksidan dalam tubuh yakni memerlukan asupan dari luar (Kuncahyo & Sunardi., 2007; Winarsi 2007).

2.3 D-galaktosa

Galaktosa ialah suatu senyawa karbohidrat yang termasuk ke dalam monosakarida, tergolong juga heksosa sebab mempunyai 6 atom C dalam molekulnya. Galaktosa adalah salah satu monomer pembentuk laktosa, senyawa ini bisa ditemukan pada susu. Galaktosa mempunyai kemampuan menyerap di dalam darah akibatnya mempunyai nilai glycaemic index yang lebih rendah dibandingkan dengan sukrosa (Thomas M. *et al.*, 2006).

D-Galaktosa merupakan produk alamiah yang dapat di jumpai di *Vigna subterranea*, *Lilium tenuifolium*, dan organisme lain yang berada dalam data yang tersedia. D-Galaktosa merupakan metabolit yang ditemukan atau dihasilkan oleh *Escherichia coli* (strain K12, MG1655) (Ncbi, 2005).

Dosis normal D-galaktosa yang terkandung di dalam darah sebaiknya kurang dari 10 mg/dL. Dosis harian paling tinggi yang dianjurkan untuk orang dewasa yang sehat adalah 50 g galaktosa dan sebagian besar akan dibuang dari tubuh dalam waktu sekitar 8 jam setelah konsumsi (Morava, 2014).

Pemberian D-galaktosa dapat menginduksi penuaan menyeluruh pada berbagai sistem organ (Ji *et al.*, 2017). Pemberian D-galaktosa selama 6 minggu berturut-turut menyebabkan peningkatan galaktosa dalam tubuh (Ahangarpour *et al.*, 2014).

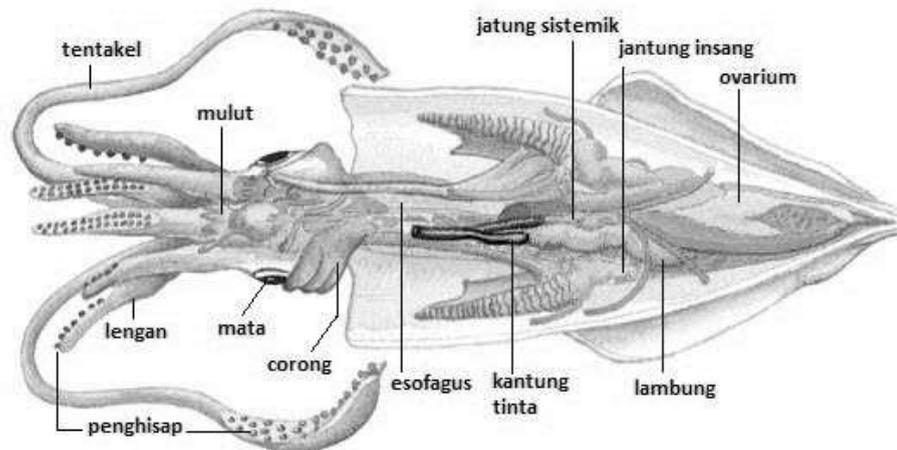
Selanjutnya, aldosa reduktase mengubah galaktosa menjadi galaktitol, satu senyawa yang tidak bisa dimetabolisme oleh tubuh. Akumulasi galaktitol dalam sel mengakibatkan terjadinya perubahan tekanan osmotik, pembengkakan sel, disfungsi sel, dan penuaan (Ye *et al.*, 2014).

Mekanisme ini mendorong pembuatan banyak hewan coba model penuaan menggunakan D-galaktosa (Sulistyoningrum & Article, 2016). Induksi D-galaktosa mengakibatkan stress oksidatif pada berbagai jaringan melalui peningkatan produksi ROS dan advanced glycation endproduct seperti layaknya terjadi pada penuaan alamiah (Mohammadi *et al.*, 2018).

2.4 Cumi-Cumi

Morfologi Cumi-cumi (*Loligo* sp)

Suntung dalam Bahasa Indonesia dikenal dengan cumi-cumi merupakan kelompok hewan *cephalopoda* (memiliki kaki di kepala) yang termasuk dalam golongan hewan *invertebrate* (tidak bertulang belakang). Suntung adalah kelompok hewan *Cephalopoda* atau jenis moluska yang hidup di laut. Nama Cephalopoda dalam bahasa Yunani berarti kaki kepala, hal ini karena kakinya yang terpisah menjadi sejumlah tangan yang melingkari kepala. Seperti semua Cephalopoda, cumi-cumi dipisahkan dengan memiliki kepala yang berbeda (Sarwojo, 2005).



Gambar 2. Morfologi Cumi-cumi (Nurhasanah, 2016).

Menurut Saanin (1984) klasifikasi cumi-cumi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Moluska
Kelas	: Cephalopoda
Subkelas	: Coleoidea
Ordo	: Teuthoidea
Family	: Loligonidae
Genus	: Loligo
Spesies	: <i>Loligo</i> sp.

Cumi-cumi merupakan binatang lunak dengan tubuh berbentuk silindris. Sirip-siripnya berbentuk trianguler atau radar yang menjadi satu pada ujungnya. Pada kepalanya di sekitar lubang mulut terdapat 10 tentakel yang dilengkapi dengan alat penghisap (sucker). Tubuh terdiri dari isi rongga tubuh (visceral mass) dan mantel. Lapisan isi rongga tubuh berbentuk silinder dengan dinding sebelah dalam tipis dan halus. Mantel yang dimilikinya berukuran tebal, berotot, dan menutupi isi rongga tubuh pada seluruh isi serta mempunyai tepi yang disebut leher (Pelu, 1989).

Cumi-cumi mempunyai karakteristik yaitu mantel yang memanjang, ramping, berujung tumpul, sirip yang membentuk belah ketupat, panjang sirip dan panjang mantel bervariasi. Panjang mantel maksimum 400 mm, namun secara

umum panjang mantel cumi-cumi yaitu 200 mm (Chodrijah & Budiarti, 2011).

Cumi-cumi adalah produk unggulan ekspor Indonesia yang dikonsumsi dan dimanfaatkan dalam berbagai industri (Agusandi *et al.*, 2013). Karakteristik dari cumi-cumi yaitu adanya kantung tinta yang terdapat di atas usus besar dan bermuara di dekat anus. Bila cumi-cumi diserang musuh, kantung tinta akan berkontraksi melalui pipa. Hal ini menyebabkan pembentukan awan hitam di sekelilingnya yang memungkinkan cumi-cumi terhindar dari serangan musuh. Metabolit sekunder pada cumi-cumi berasal dari tinta yang diproduksi sebagai bentuk pertahanan diri terhadap musuhnya. Selama ini tinta cumi-cumi belum banyak dimanfaatkan padahal didalam tinta cumi-cumi mengandung protein sekitar 10,88% (Sasaki *et al.*, 1997).

Cumi-cumi dapat menangkap mangsanya dengan menggunakan tentakel, selain itu hewan ini dapat mengelabui musuhnya dengan menyemprotkan cairan tinta berwarna gelap atau merubah warna kulitnya (Roper *et al.*, 2006).

2.5 Anti-aging

Anti-aging atau anti penuaan merupakan suatu produk yang digunakan secara topikal yang bisa mengobati ataupun menghilangkan gejala yang disebabkan oleh sinar UV atau disebut photoaging pada kulit atau produk yang dapat mengurangi dan memperlambat timbulnya gejala-gejala photoaging (Barel, *et al.*, 2009).

Berikut ini adalah beberapa fungsi dan manfaat dari produk anti-aging menurut Mulyawan dan Suriana (2013):

1. Fungsi anti-aging
 - a. Menyuplai antioksidan bagi jaringan kulit.
 - b. Menstimulasi proses regenerasi sel-sel kulit.
 - c. Menjaga kelembaban dan elastisitas kulit.
 - d. Merangsang produksi kolagen.

2. Manfaat anti-aging
 - a. Mencegah kulit dari kerusakan degeneratif yang menyebabkan kulit terlihat kusam dan keriput.
 - b. Kulit tampak lebih sehat, cerah, dan awet muda.
 - c. Kulit tampak elastis, dan jauh dari tanda-tanda penuaan dini.

2.6 Tinta cumi-cumi (*Loligo.sp.*).

Ciri khas dari cumi-cumi yang spesifik adalah adanya kantung tinta yang di dalamnya mengandung melanin (Derb, 2014). Melanin atau pigmen hitam merupakan melanoprotein yang mengandung 10- 15% protein, yang terdiri dari asam amino esensial dan non esensial dan polisakarida sulfat (Luo & Liu, 2013).

Tinta cumi-cumi ataupun tinta sotong mengandung melanin, protein, lemak, glikosaminoglikan dan asam amino esensial berupa lisin, leusin, arginin, dan fenilalanin (Agusandi *et al.*, 2013). Kadar asam amino non esensial yang dominan adalah asam glutamat dan asam aspartate (Okozumi & fujii, 2000).

Metabolit sekunder pada cumi-cumi berasal dari tinta yang dihasilkan sebagai bentuk pertahanan diri terhadap musuhnya. Selama ini tinta cumi-cumi belum banyak dimanfaatkan padahal didalam tinta cumi-cumi mengandung protein sekitar 10,88% (Sasaki *et al.*, 1997). Metabolit sekunder yaitu metabolit yang tidak mempunyai kegunaan untuk pertumbuhan dan perkembangan secara langsung dan diproduksi pada kondisi tertentu (Hanson, 2011). Berdasarkan asal usul biosintesisnya dikelompokkan menjadi empat yaitu: alkaloid, fenilpropanoid, poliketida dan terpenoid (Springob & kuntchen, 2009).

Tinta cumi-cumi bersifat alkaloid, sehingga tidak disukai oleh predator, terutama ikan. Alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang berat atom nitrogen dan bersifat basa, beberapa alkaloid dilaporkan ada yang memiliki manfaat dalam pengobatan (Mukholik, 1995).

Tinta cumi-cumi mengandung antioksidan yang terdapat pada melanin tinta cumi-cumi. Tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dapat juga berfungsi sebagai antikanker, antitumor, dan antibakteri yang merupakan bakteri pembusuk. Bakteri yang dimaksud seperti *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Menurut penelitian (Nair *et al.*, 2011),

Tinta cumi-cumi dapat berperan sebagai obat pelindung sel pada pengobatan kanker dengan cara kemoterapi, melalui peningkatan jumlah sel leukosit dan sel nukleat sum-sum tulang, yang jumlahnya menurun akibat penggunaan obat pembunuh sel tumor tersebut. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas antitumor dengan menghambat aktivitas plasmin untuk meningkatkan thromboxan dan meningkatkan sistem imun untuk membunuh sel kanker (Zhong *et al.*, 2009). Melanin juga berperan sebagai antioksidan (Lei *et al.*, 2007a), anti radiasi (Lei *et al.*, 2007b), dan antirotavirus (Rajaganapathi *et al.*, 2007).

a. Mencit (*Mus Musculus* Linn.)



Gambar 3. Mencit (*Mus musculus* Linn.) (Tambupol, 2014)

Kedudukan taksonomi mencit menurut ITIS (2018) yaitu sebagai berikut.

Kingdom : Animalia
 Subkingdom : Bilateria
 Infrakingdom : Deuterostomia
 Phylum : Chordata
 Subphylum : Vertebrata
 Infraphylum : Gnathostomata

Superclass : Tetrapoda
Class : Mamalia
Subclass : Theria
Infraclass : Eutheria
Order : Rodentia
Suborder : Myomorpha
Superfamily : Muroidea
Family : Muridae
Subfamily : Murinae
Genus : *Mus*
Species : *Mus musculus* Linn.

Mencit dikelompokkan ke dalam kingdom animalia, phylum chordata. Hewan ini merupakan hewan yang bertulang belakang dan menyusui sehingga termasuk ke dalam subphylum vertebrata dan kelas mamalia. Adapun hal lainnya hewan ini juga mempunyai kebiasaan mengerat (ordo rodentia), dan merupakan famili muridae, dengan nama genus *Mus* serta mempunyai nama spesies *Mus musculus* Linn. (Priyambodo, 1993).

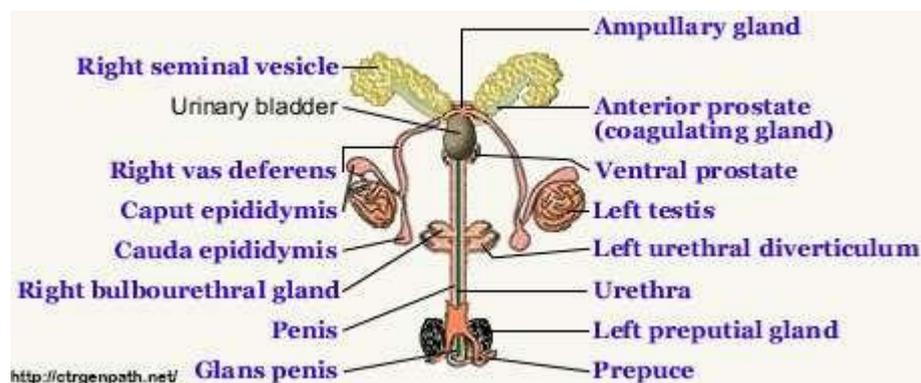
Mencit yaitu termasuk hewan pengerat dan mamalia yang biasanya digunakan untuk hewan percobaan. selain bisa dipelajari secara efektif, juga bisa memberikan keterangan dasar untuk kepentingan manusia (Effendi & Manafis, 2002).

Secara biologis mencit mempunyai ciri umum, yakni berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dan warna perut sedikit lebih pucat. Mencit adalah hewan nokturnal yang biasa beraktivitas pada malam hari. Perilaku pada mencit dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya faktor internal seperti seks, perbedaan umur, hormon, kehamilan, dan penyakit, sedangkan faktor eksternal yaitu makanan, minuman, dan lingkungan disekitarnya. Mencit bisa bertahan hidup selama 1-2 tahun dan bisa juga hingga umur 3 tahun. Waktu bunting mencit berkisar 19-21 hari sedangkan umur yang tepat untuk dikawinkan 8 minggu. Perkawinan mencit terjadi pada sat mencit

betina mengalami estrus. Satu induk dapat melahirkan sekitar 6-15 ekor anak (Smith & Mangkoewidjojo, 1998).

Mencit adalah hewan poliestrus yang siklusnya berlangsung setiap 4-5 hari sekali, lamanya birahi berlangsung antara 9-20 jam, estrus terjadi 20-40 jam setelah partus. Penyapihan dapat menginduksi estrus dalam 2-4 hari. Cara perkawinan mencit berdasarkan rasio jantan dan betina dibedakan atas monogamus, triogamus, dan harem sistem. Monogamus terdiri dari satu jantan dan satu betina, triogamus terdiri dari satu jantan dan dua betina, sementara harem terdiri dari satu jantan dan lebih dari tiga betina dalam satu kandang (Yuwono *et al.*, 2006).

2.8 Sistem Reproduksi Mencit Jantan



Gambar 4. Sistem reproduksi Mencit Jantan (Adil., *et al.*, 2005)

Sistem reproduksi pada pria terdiri atas testis, epididimis, kelenjar aksesori, dan penis. Testis terdiri atas lilitan-lilitan tubulus seminiferus yang berjumlah 900 lilitan. Setiap tubulus memiliki panjang kurang lebih 0,5 meter (Guyton, 2011).

Tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat yang mengandung serabut saraf, pembuluh darah, serta sel interstisial Leydig yang menghasilkan hormon androgen. Ketika pubertas, kelenjar adrenal melepaskan luteinizing hormone (LH) dan follicle stimulating hormone (FSH). LH akan

mengaktifkan sel interstisial Leydig dan menghasilkan sperma. Sedangkan FSH akan mengaktifkan sel Sertoli untuk menghasilkan adenylate cyclase melalui perantara cAMP dan akan terbentuk androgen binding-protein (ABP). Testosteron selanjutnya akan berikatan dengan ABP. Ikatan inilah yang akan dikeluarkan ke dalam lumen tubulus seminiferus dan akan meningkatkan spermatogenesis (Gartner & Hiatt, 2012).

Testis adalah tempat terjadinya pembentukan sperma. Sperma yang telah dihasilkan kemudian disalurkan melalui epididimis menuju vas deferens dan disalurkan menuju duktus ejakulatorius lalu dikeluarkan melalui uretra (Guyton, 2011). Tubulus seminiferus mengandung dua jenis sel yang sangat penting dalam proses pembentukan sperma atau spermatogenesis, yaitu sel Germinivatum dan sel Sertoli (Sherwood, 2011).

Sperma pertama kali dibentuk dari spermatogonia, yang merupakan stem cell. Spermatogonia terdiri dari komponen diploid akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa yang motil. Selama proses proliferasi ini, spermatogonia nantinya akan melewati taut erat menuju lumen tubulus. Mulanya, spermatogonia akan mengalami diferensiasi menjadi spermatosit primer yang juga diploid.

Selanjutnya spermatosit primer akan mengalami miosis. Tahap miosis ini akan terjadi selama dua fase, fase pertama (miosis I) sperma akan mengalami replikasi DNA dan akan dihasilkan spermatosit sekunder yang haploid. Setiap spermatosit sekunder ini memiliki dua kromatid, yang selanjutnya akan mengalami pemisahan menjadi spermatid pada meiosis II. Tahap akhir pada spermatogenesis adalah spermiogenesis. Pada tahap ini, spermatid yang mulanya berbentuk sferis akan mengalami pemanjangan dan terbentuklah spermatozoa. Selanjutnya, spermatozoa akan memasuki lumen tubulus seminiferus, dengan bantuan cairan yang dihasilkan oleh sel Sertoli. Proses spermatogenesis ini normalnya berlangsung setiap 65-75 hari (Tortora & Derrickson, 2011).

Secara umum, tubulus seminiferus terdiri dari:

1. Sel spermatogenik

Sel spermatogenik berasal dari sel germinal primordial. Sel tersebut adalah sel pada tubulus seminiferus yang senantiasa bereplikasi dan mengalami maturasi. Hasil akhir dari proses tersebut akan dihasilkan sperma yang matur. Sel germinal yang imatur memiliki karakteristik:

a. Spermatogonia

Memiliki tiga jenis spermatogonia, yaitu spermatogonia tipe A terang, spermatogonia tipe A gelap, serta Spermatogonia tipe B.

Spermatogonia tipe A baik itu terang ataupun gelap memiliki bentuk oval dan mempunyai inti yang melekat pada membran inti (Gartner & Hiatt., 2012). Inti bisa berbentuk bulat atau lojong, dengan kromatin bergranula halus. Ketidaksamaanya adalah kromatin yang kelihatan lebih terang pada spermatogonia tipe A terang. Spermatogonia tipe B mempunyai bentuk nukleus yang bulat (Gartner & Hiatt., 2012) dengan nukleolus yang terdapat di tengah, serta mempunyai massa kromatin padat yang terdapat pada membran inti (Ross & Pawlina, 2011).

b. Spermatisit primer Terletak mengarah ke permukaan epitel, memiliki bentuk bulat, dengan inti eukromatik (Mescher, 2012) yang lebih terang dibandingkan dengan spermatogonia (Ross & Pawlina, 2011)

c. Spermatisit sekunder Memiliki ukuran yang lebih kecil daripada spermatisit primer dan kromatin intinya kurang padat (Ross & Pawlina., 2011). Spermatisit sekunder jarang diamati karena umur keberadaannya yang pendek, dalam waktu singkat akan mengalami pembelahan meiosis yang kedua (Mescher, 2012).

d. Spermatisid

Spermatisid memiliki ukuran yang lebih kecil daripada spermatisit primer maupun spermatisit sekunder. Bentuknya sel maupun intinya bulat, inti menutupi seluruh permukaan sel dan tidak mengandung kromatin (Ross & Pawlina, 2011).

- e. Spermatozoa adalah sel yang berbentuk panjang, terdiri dari bagian kepala dan ekor. Ekor sperma terdiri atas bagian middle, principal, dan bagian akhir ekor.

Bagian tengah ekor terdiri dari mitokondria, aksonema, dan outer dense fibers. Mitokondria pada ekor atau flagel ini berfungsi sebagai penghasil ATP yang diperlukan untuk pergerakan sperma. Bagian principal sperma merupakan bagian yang terpanjang, terdiri dari aksonema yang dikelilingi oleh outer dense fiber. Sedangkan bagian akhir dari ekor sperma hanya terdiri dari aksonema saja (Gartner & Hiatt., 2012)

2. Sel Sertoli

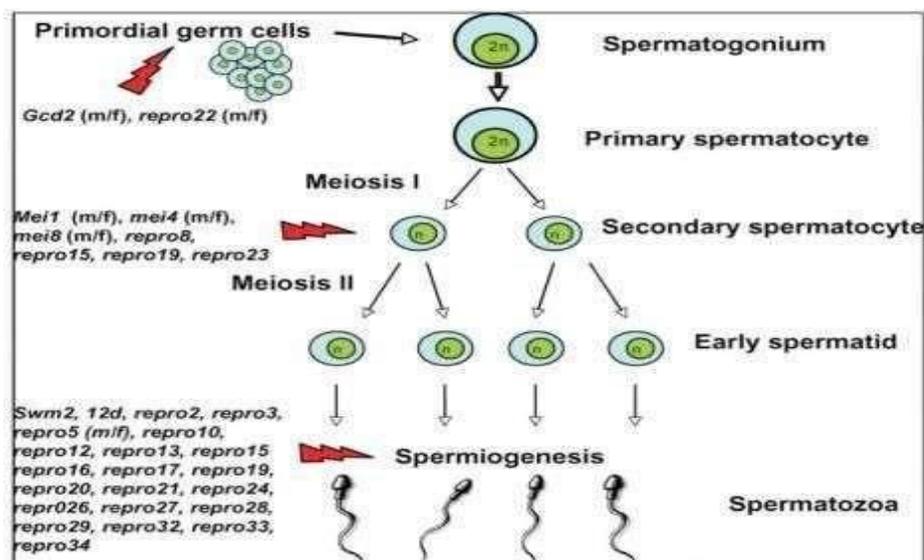
Sel sertoli merupakan sel penyokong yang terletak pada epitel tubulus seminiferus. Sel ini berbentuk kolumnar, berada di antara sel-sel spermatogenik, serta tidak bereplikasi lagi setelah masa pubertas. Sel Sertoli merupakan sel yang berbatas tidak teratur yang meluas dari membran basali ke dalam lumen tubulus seminiferus. Sel ini mempunyai inti lonjong atau memanjang dengan kromatin yang jarang dan halus. Sitoplasmanya berwarna jernih serta memiliki nukleolus yang mencolok (Ross & Pawlina., 2011).

2.9 Spermatogenesis pada mencit

Spermatogenesis merupakan serangkaian peristiwa sitologi yang bertujuan menghasilkan spermatozoa misal dari spermatogonia pada mamalia. Spermatogenesis dilakukan dalam tubulus seminiferus testis dan berlangsung secara berkelanjutan sepanjang masa reproduksi (Soeradi & Nugroho, 2002).

Spermatogenesis diawali dengan pertumbuhan spermatogonium yang selnya menjadi lebih besar yang disebut spermatosit primer. Sel-sel ini membelah secara mitosis menjadi dua spermatosit sekunder yang sama besar. Kemudian menghadapi pembelahan meiosis menjadi empat spermatid yang sama besar juga (Walker & Barnes, 1988). Spermatogenesis pada mencit membutuhkan

kan waktu 35,5 hari sesudah menempuh 4 kali daur epitel seminiferus. Lama satu daur epitel seminiferus pada mencit adalah 207 ± 6 jam (Errera & Forssberg, 2013).



Gambar 5. Spermatogenesis Mencit (Pramesemara, 2010)

Proses pematangan spermatid menuju ke pembentukan spermatozoa disebut spermiogenesis. Peristiwa ini terjadi sesudah meiosis selesai, dalam satu rangkaian perubahan teratur yang mengubah spermatid bulat kecil menjadi spermatozoa yang memanjang dan mempunyai ekor (Bevelander & Ramaley, 1988).

Menurut Bevelander dan ramaley (1988) rangkaian proses terjadinya spermatogenesis sebagai berikut:

1. Pembentukan aukrosom
2. Perubahan dalam bentuk dan derajat kondensasi dari nucleus
3. Pembentukan flagellum yang kelak akan menjadi motil (dapat bergerak)
4. Pembentukan Kembali dari sitoplasma yang ekstensif termasuk pembentukan selubung mitokondria.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2023 sampai dengan April 2023 di Laboratorium Zoologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung sebagai tempat pemeliharaan hewan uji coba, tempat menginduksikan D-galaktosa, pembedahan hewan uji, dan pemberian perlakuan. Untuk pembuatan preparate histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Penyelidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung.

3.2 Alat

Adapun alat yang digunakan 24 kandang mencit (*mus musculus* Linn.) beserta penutupnya yang berfungsi untuk tempat tinggal mencit, wadah pakan mencit yang berfungsi untuk tempat makanan bagi mencit, botol air minum mencit yang berfungsi untuk tempat penyimpanan air minum mencit, rak kandang mencit berfungsi untuk tempat meletakkan kandang mencit, timbangan yang berfungsi untuk menimbang berat badan mencit, alat bedah yang berfungsi untuk membedah hewan uji, mikroskop yang berfungsi untuk mengamati preparat histologi, jarum suntik yang berfungsi untuk alat pencekok tinta cumi-cumi, objek glass dan cover glass berfungsi untuk pembuatan preparate, label yang berfungsi untuk memberi label pada objek pengamatan, tisu yang berfungsi untuk membersihkan sisa zat warna pada objek gelas, tabung reaksi yang berfungsi untuk menampung tinta cumi-cumi, gelas ukur yang berfungsi untuk mengukur banyaknya alkohol yang dibutuhkan, pipet tetes yang berfungsi untuk membantu proses pengambilan

cairan, dan kamera berfungsi untuk dokumentasi penelitian dan alat tulis yang berfungsi untuk mencatat data hasil penelitian.

3.3 Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian yaitu Mencit jantan 24 ekor (*Mus musculus* Linn.) yang fertile umur 3 bulan dengan berat rata-rata 30-40 gram. Pur ayam atau pellet sebagai pakan mencit, air sebagai minum mencit, alcohol untuk strelisasi alat penelitian, D-galaktosa untuk meningkatkan *aging* pada mencit, kloroform sebagai larutan pembius saat pembedahan, tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) sebagai *anti-aging*, aquabides sebagai larutan pada perlakuan control. Xylol untuk menarik alcohol Kembali, paraffin (titik didih 56-80 derajat celcius) untuk filtrasi dan embedding sediaan, pewarna HE untuk mewarnai preparate dan Canada balsam untuk mempelkan cover glass.

3.4 Prosedur kerja

3.4.1 Pemeliharaan Mencit

Hewan uji yang dipakai dalam penelitian ini terdiri dari mencit jantan sejumlah 24 ekor yang berumur 3 bulan, fertil, dengan berat 30-40 gram yang dipisahkan dalam 4 kelompok yaitu satu kelompok control dan tiga kelompok perlakuan. Setiap kelompoknya terdiri dari 6 ekor. Sebelum diberi perlakuan, semua mencit di aklimatisasi terlebih dahulu selama dua minggu. Mencit-mencit tersebut diberi makan pellet dan air minum yang di setiap harinya, perlakuan dilakukan selama 35 hari.

3.4.2 Pengambilan Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.)

Cumi-cumi yang akan digunakan dibeli dari Pasar Gudang Lelang Teluk Betung. Dibutuhkan sebanyak kurang lebih 6 kg cumi-cumi segar yang sudah dalam keadaan mati. Kemudian setelah itu satu persatu cumi-cumi dibelah bagian badannya untuk mengambil bagian kantung tinta

yang berada menempel pada bagian kepala cumi-cumi. Kantung dipisahkan lalu di saring untuk di ambil tinta nya. Setelah itu tinta di kumpulkan di dalam satu botol dan setelah itu di homogenkan barulah tinta dapat di induksikan ke Mencit.

3.4.3 Pemberian Perlakuan

Mencit jantan yang akan digunakan dalam penelitian ditimbang terlebih dahulu, kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 ekor mencit. Berikut empat kelompok yang digunakan dalam penelitian ini.

1. Kelompok Kontrol: mencit jantan hanya diberi makan dan minum secara normal tanpa mendapat perlakuan apapun.
2. Kelompok Kontrol Negatif: mencit jantan diinduksi dengan D-Galaktosa kemudian diberi makan dan minum secara normal.
3. Kelompok Perlakuan 1: mencit jantan diinduksi dengan D-Galaktosa, kemudian diberi makan dan minum secara normal serta mendapatkan perlakuan berupa pemberian tinta cumi-cumi dengan cara dicekok (secara oral) sebanyak 40 mg/kgBB.
4. Kelompok Perlakuan 2: mencit jantan diinduksi dengan D-Galaktosa, kemudian diberi makan dan minum secara normal serta diberikan perlakuan berupa tinta cumi-cumi secara oral sebanyak 100 mg/kgBB.

D-Galaktosa diinduksikan kepada mencit jantan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan secara intraperitoneal. Metode ini dipilih dengan mempertimbangkan hasil penelitian Lin *et al.* (2014) dalam Budni *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa kadar amyloid beta ($\alpha\beta$) dan protein prekursor $\alpha\beta$ hippocampus mencit akan mengalami peningkatan setelah diinduksi D-Galaktosa secara intraperitoneal. Sedangkan dosis yang digunakan adalah sebanyak 150 mg/Kg (Siti Sarah Bintang *et al.*, 2019). Hal ini sesuai dengan Evi Sulistyoningrum (2017) yang menjelaskan bahwa dosis yang tepat untuk menurunkan parameter sperma adalah 100-200 mg/kg yang dilarutkan dalam 1 mL akuades.

Induksi D-Galaktosa pada mencit bertujuan untuk meningkatkan kadar radikal bebas sehingga tubuh mencit mengalami stress oksidatif dan penuaan dapat berjalan lebih cepat dibandingkan dengan kondisi normal. Sedangkan dosis tinta cumi-cumi yang dipakai dalam penelitian ini terdiri dari dua jenis, yaitu 40 mg/kgBB (rendah) dan 100 mg/kgBB (tinggi). Proses pencekohan pada kelompok perlakuan dilakukan setiap hari selama 35 hari. Lama waktu perlakuan didasarkan pada lama waktu satu siklus pembentukan spermatozoa pada mencit. Setelah 35 hari, mencit dibedah lalu dibuat preparate histologi nya dengan mengamati struktur tubulus seminiferus yang meliputi Jumlah sel spermatogonium, sel spermatosit primer, sel spermatid dan tebal lapisan germinal.

3.4.4 Rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sebanyak 24 ekor mencit jantan yang berasal dari NP retil Lampung yang dibagi menjadi 4 kelompok dimana masing- masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit jantan. 4 kelompok mencit jantan tersebut, yaitu K (kontrol), K- (kontrol negatif), P1(perlakuan 40 mg/kgBB tinta cumi-cumi), dan P2 (perlakuan 100mg/kgBB tinta cumi-cumi). Penentuan jumlah pengulangan dilakukan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t menyatakan jumlah perlakuan dan n menyatakan jumlah ulangan. Sehingga jumlah ulangan yang dibutuhkan untuk penelitian ini disajikan sebagai berikut.

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

$$(4 - 1)(n-1) \geq 15$$

$$3n- 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Mencit jantan dari empat kelompok tersebut kemudian diacak untuk menghindari bias. Hasil pengacakan tersebut disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Skema Rancangan Penelitian

P2U2	P2U6	K-U2	K+U3
K+U5	P1U5	P1U4	P2U3
K-U3	K+U2	P1U1	K+U6
K+U4	P2U4	K-U4	K-U5
P1U3	K-U6	P2U5	P2U1
P1U6	P1U2	K+U1	K-U1

Keterangan :

K = Kontrol

K- = Kontrol negatif (-)

P1 = Perlakuan dengan dosis sebanyak 40 mg/KgBB

P2 = Perlakuan dengan dosis sebanyak 80 mg/KgBB

U = Ulangan

1,2,3, dst. = Ulangan ke-...

3.4.5 Parameter yang diamati

Preparat testis diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya, pengamatan meliputi sel-sel spermatogenik dari lapisan basalis kearah lumen tubulus seminiferus.

Pada pengamatan histologi tubulus seminiferus mencit ini yang akan diamati dalam penelitian adalah sebagai berikut.:

1. Jumlah Populasi sel spermatogenik yaitu sel spermatogonia, sel spermatosit, dan sel spermatid.
2. Tebal epitel tubulus seminiferus

Pengamatan sel-sel spermatogenik dilakukan dengan menghitung jumlah sel-sel tersebut secara manual. Penghitungan jumlah sel-sel tersebut dilakukan pada setiap tubulus seminiferus yang telah dipilih. Pengamatan dilakukan pada potongan melintang tubulus seminiferus yang diambil secara random.

Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus dilakukan dengan menggunakan mikrometer pada lensa okuler. Pengukuran diameter tubulus seminiferus menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10, pengamatan sel-sel spermatogenic dilakukan dengan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10. Pengukuran tebal lapisan epitel tubulus seminiferus dilakukan pada irisan melintang testis tersebut yang dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Hasil pengukuran kemudian di rata-rata sehingga dihasilkan data tebal lapisan epitel tubulus seminiferus.

3.4.5 Proses Pembedahan Mencit

Setelah mencit diberi perlakuan selama 35 hari, kemudian dilakukan pembedahan. Mencit yang dibedah terlebih dahulu diberi kloroform dan diletakkan pada bak parafin. Spesimen dibuka perutnya untuk diambil testisnya. Testis yang telah dipotong difiksasi dengan buffer formalin 10% di dalam botol, kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung untuk dibuat preparat histologi sehingga tubulus seminiferus dapat diamati.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Teknik Pembuatan Slide

a. Trimming

Trimming merupakan pose pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai organ yang akan dipotong yaitu pada bagian testis. Proses ini dilakukan setelah sebelumnya specimen yang berupa potongan organ difiksasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan pengawet yang berupa buffer formalin atau 10% formalin. Setelah itu potongan jaringan testis tersebut dimasukkan ke dalam embedding cassette.

b. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan tissue processor yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan air dalam jaringan. Proses ini dilakukan secara bertahap dengan menggunakan larutan alkohol (konsentrasi 70-100%). Setelah proses dehidrasi selesai dilanjutkan dengan proses clearin' menggunakan larutan xylol dan impregnasi menggunakan larutan paraffin.

c. Embedding

Setelah melalui proses dehidrasi, maka jaringan yang berada dalam embedding cassette dipindahkan ke dalam base mold, kemudian diisi dengan parafin cair, yang selanjutnya dilekatkan pada balok kayu ukuran 3x3cm.

d. Cutting

Proses cutting dilakukan dalam ruangan dingin. Sebelumnya blok terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan diawali dengan pemotongan kasar yang selanjutnya dilakukan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Setelah dipotong, pilih lembaran potongan yang paling baik, apungkan di air. Kemudian pindahkan lembaran jaringan ke dalam water bath selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Selanjutnya menempatkan jaringan pada slide bersih dengan cara menyendok lembaran jaringan tersebut di dalam water bath. Setelah itu, slide ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

e. Staining

Setelah jaringan melekat sempurna, selanjutnya dilakukan pewarnaan slide dengan menggunakan Teknik pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).

f. Mounting

Penetesan bahan mounting dilakukan dengan menggunakan Canada balsam yang ditutup dengan *coverglass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

g. Pembacaan Slide

Pembacaan slide dilakukan dengan memeriksa slide dibawah mikroskop cahaya, dan membedakan anatara spermatogonia, spermatosit primer, dan spermatid dari tubulus seminiferus mencit tersebut.

3.5.2 Pengamatan Jumlah Sel Spermatogonium, Spermatosit Primer dan Spermatid

Pengamatan sel-sel spermatogonia, sel spermatosit, dan sel spermatid dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x, dengan cara menghitung secara satu per secara manual, setiap preparat diamati 5 tubulus seminiferus berbeda yang sudah dipilih, kemudian hasil dari perhitungan sel-sel yang di dapatkan di rata-ratakan hasilnya.

Pengamatan dilakukan pada tubulus seminiferus yang dipotong secara melintang yang diambil secara acak.

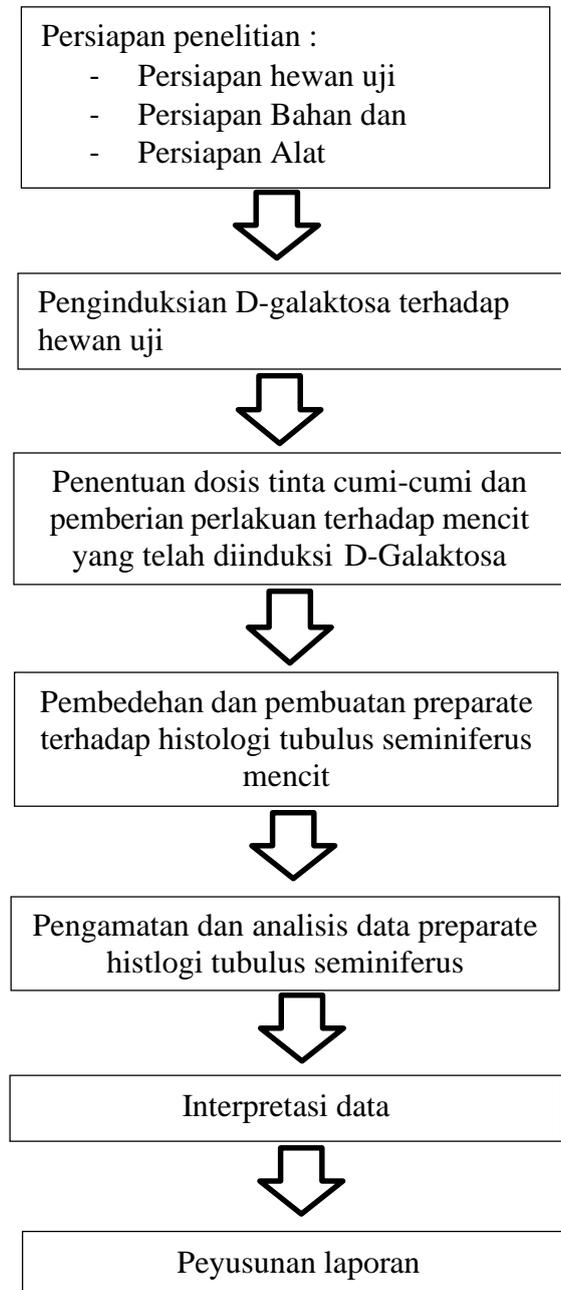
3.5.3 Pengamatan Tebal Epitel Tubulus Seminiferus

Dalam melakukan pengukuran tebal epitel tubulus seminiferus yaitu dengan menggunakan mikrometer pada lensa okuler. Tebal epitel tubulus seminiferus diukur dengan mikroskop perbesaran 400x. Tebal epitel tubulus seminiferus diukur dengan cara menghitung tubulus seminiferus yang terpilih secara acak pada bagian lapisan luar yaitu sel spermatogonia hingga bagian sel spermatid. Hasil dari tebal epitel tubulus seminiferus dinyatakan dalam satuan μm .

3.6 Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian kemudian dianalisis secara statistik berupa data dari hasil perhitungan variabel jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, dan tebal epitel tubulus seminiferus. Pertama tama, data yang diperoleh diuji normalitas dengan uji Shapiro-wilk, jika data yang didapati sudah normal maka dilanjutkan uji homogenitas dengan uji levene. Jika terjadi ketidak normalan data, maka dilakukan transformasi data dengan transformasi logaritma. Selanjutnya, data yang sudah homogen kemudian di uji ANOVA, dari disini nantinya terlihat apakah perlakuan yang diberikan signifikan atau tidak. Apabila signifikan antar perlakuan, maka akan dilanjutkan dengan uji lanjut selang berganda Duncan untuk melihat perlakuan mana yang paling efektif (paling baik) dengan $P < \alpha 0.05$.

3.7 Diagram Alir Metode Penelitian



V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Penelitian yang sudah dilaksanakan menghasilkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian Tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) mampu meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik yang sebelumnya mengalami kerusakan akibat diinduksi D-galaktosa, yang mana hasil terbaiknya di tunjukkan pada perlakuan 2 yaitu dengan jumlah sel spermatogonium $62,67 \pm 1,75^c$, Jumlah sel Spermatisit primer $127,00 \pm 1,24^c$, dan sel spermatid $140,67 \pm 2,06^c$.
2. Pemberian Tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) mampu meningkatkan Ketebalan Epitel Tubulus seminiferus yang sebelumnya mengalami kerusakan akibat diinduksikannya D-galaktosa, yang mana hasil terbaiknya di tunjukkan pada perlakuan 2 yaitu $57,17 \pm 1,72^c$

5.2 Saran

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tinta cumi-cumi mampu meningkatkan jumlah sel spermatogenik yang meliputi sel spermatogonium, sel spermatisit primer, sel spermatid dan meningkatkan tebal epitel tubulus seminiferus yang mana sebelumnya mengalami kerusakan akibat dari diinduksikannya D-galaktosa. Namun, Hasil akhirnya masih belum bisa melebihi jumlah sel spermatogenik dan tebal epitel yang tidak beri perlakuan apapun. Hal ini diduga karena pemberian dosis tinta cumi-cumi masih kurang tepat untuk membantu memperbaiki kerusakan sel akibat pemberian D-galaktosa. Maka dari itu diperlukannya penelitian lebih lanjut

lagi dengan dosis yang lebih tepat lagi tentunya, agar dapat di kembangkan dan di gunakan dalam bidang farmakologi dan medis. Selain itu, Penulis juga menyadari bahwa penginduksian D-Galaktosa tidak hanya memberikan dampak tak terlihat oleh kasat mata terhadap penuaan, tetapi juga efek secara fisik. Oleh sebab itu diperlukan kajian lanjutan terkait hal tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusandi, Supriadi, A, dan Lestari, D. L. 2013. *Pengaruh penambahan tinta cumi-cumi (Loligo sp) terhadap kualitas nutrisi dan penerimaan sensoris mi basah*. Fishtech. 2(1): 22-37.
- Ahangarpour, Oroojan AA, Heidari H. 2014. *Effects of Exendin-4 on Male Reproductive Parameters of D-Galactose Induced Aging Mouse Model*, World J Mens Health. 32(3): 176-83.
- Cardoso, A. (2015). *D-galactose high-dose administration failed to induce accelerated aging changes in neurogenesis, anxiety, and spatial memory on young male wistar rats*, Rejuvenation Research, 18(6), pp. 497–507. doi: 10.1089/rej.2015.1684
- Cocuzza M, Athayde KS, Agarwal A, Sharma R, Pagani R, Lucon AM, et al. 2008. *Age-related increase of reactive oxygen species in neat semen in healthy fertile men*. Urology.71:490-4.
- Chodrijah, U. dan Budiarti T. W. 2011. *Beberapa aspek biologi cumi-cumi jamak (Loligo duvaucelli) yang didaratkan di Belanakan, Subang – Jawa barat*. BAWAL. 3(6): 357-362
- Cholifah, S., Arsyid, S. 2014. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (Momordica charantia L). Terhadap Struktur Histologi testis dan Epididimis Tikus Jantan (Rattus norvegicus) Spraque Dawley*. Jurnal MKS 46(2):149-157
- Derby CD. 2014. *Cephalopod ink: Production, chemistry, functions and applications*. Mar Drugs. 12:2700-30.
- Droge, W. 2002. *Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function*. Journal of Physiology. Review. 82.:47-95.
- Effendi, E.M. dan S. Manafis. 2002. *Respon Komposisi Dosis Hormon PMSG HCG Terhadap Hasil Superovulasi dan Perkembangan In Vitro Embrio Mencit umur 2 hari*. Ekologia. Vol.2. No. 1. Hlm. 19-24.
- Fawcett DW. 2002. *Buku ajar Histologi*. 12th ed Trans Tambayong J. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. 2012. *Atlas Berwarna Histologi, Edisi ke-5*. Binarupa Aksara, 374-375. Tangerang Selatan.

- Gladyshev, V. N. (2013). *The Free Radical Theory of Aging Is Dead. Long Live the Damage Theory! Antioxidants & Redox Signaling*, 20(4), 727–731.
- Guyton, A. C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian I. ECG* Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta
- Hanson, J. R. 2011. *Natural Products: The Secondary Metabolites*. University of Sussex. UK: 312 hlm
- Hasanah, W.I., 2009, *Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica) terhadap Spermatogenesis Mencit (Mus Musculus, L.)*, Skripsi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- He, X., Tian, Y., Lei, L., Zhi, Q., Zhao, J., & Ming, J. (2020). *Protective effects of Coreopsis tinctoria buds extract against cognitive impairment and brain aging induced by D-galactose*. *Journal of Functional Foods*, 73(March), 104089. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104089>
- <https://nurhasanaquacultur.wordpress.com/2016/01/12/klasifikasi-dan-morfologi-cumi-cumi/>
- Huang, A. D. S. Z. X. (2017). *Current Perspective in the Discovery of Anti-aging Agents from Natural Products*. *Natural Products and Bioprospecting*, 7(5), 335– 404. <https://doi.org/10.1007/s13659-017- 0135-9>
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2018. *Taxonomic Hierarchy of Mus musculus L.* <http://itis.gov/servlet/singlerpt?> Diakses pada Tanggal 30 Desember pukul 12.10 WIB
- Ji, M., Su, X., Liu, J., Zhao, Y., Li, Z., Xu, X., ... Nashun, B. (2017). *Comparison of naturally aging and D-galactose induced aging model in beagle dogs*. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(6), 5881– 5888
- Kumar, V., Robbins, S., & Cotran, R., 2012a. *Buku Ajar Patologi*, Edisi 7, Vol 1, Jakarta, EGC, 19 - 312.
- Lei, M. J. F. Wang, L. Pang, Y. M. Wang, S. G. Chen, and C. H. Xue. 2007a. *Effects of Sepia on the metabolization of blood lipid and antioxidant ability in hyperlipidemia rats*. *The Chinese Journal of Marine Drugs*. 3(1): 30-33.
- Lei M. J. F. Wang, Y. M. Wang, L. Pang, Y. Wang, W. Xu, and C. H. Xue. 2007b. *Study of the radio protective effect of cuttlefish ink on hemopoietic injury*. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16(1): 239-243.
- Lei M, C. H. Xue, Y. M. Wang, Z. J. Li, Y. Xue, and J. F. Wang. 2008. *Effect of squid ink melanin Fe on iron deficiency anemia remission*. *Journal of Food Science*. 73(8): 207-211.
- Liochev, S. I., & Court, F. (2015). *Which Is the Most Significant Cause of Aging*. *Antioxidants*, 4, 793–810

- Luo P, Liu H. 2013. *Antioxidant ability of squid ink polysaccharides as well as their protective effects on deoxyribonucleic acid DNA damage in vitro*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(21): 138-1388.
- Manna I, Jana K, Samanta PK. 2004b . *Intensive Swimming Exercise-Induced Oxidative Stress and Reproductive Dysfunction in Male Wistar Rats: Protective Role of α -Tocopherol Succinate*. *Canadian Journal of Applied Physiology*. 29: 172–185.
- Mc Lachland, R.L., N.G. Wreford, L. O' Donnell, D. M. de Kretser, D. M. Robertson. 1996. *Endocrine Regulation of Spermatogenesis ; Independent Roles for Testosterone and FSH*. *Journal of Endocrinology* 148 : 1 – 9
- Mitchell SJ., Longo DL., Scheibye-Knudsen M, and de Cabo R. 2015. *Animal Models of Aging Research: Implications for Human Aging and Age-Related Diseases*. *Ann Rev Anim BioSci*:3:283-303
- Mukholik. 1995. *Pengaruh larutan tinta cumi -cumi dan suhu perebusan terhadap air rebusan cumi-cumi*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Muzakki LD & RB Witjahyo. 2015. *Pengaruh pemberian susu kambing terhadap gambaran mikroskopis testis dan kadar timbal (PB) dalam darah Tikus Wistar yang terpapar asap kendaraan bermotor*. *Media Medika Muda*, 4 (4). Oktober 2015.
- Okuzumi, M and T. Fujii. 2000. *Nutritional and Functional Properties of Squid and Cuttlefish*. National Cooperative Association of Squid Processors, Tokyo: 379 hlm
- Priyambodo. 1993. *Pengendalian Hewan Tikus Terpadu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rajaganapathi, J. S. P. Thyagarajam, and J. K. Edward. 2007. *Study on cephalopod's ink for anti-retroviral activity*. *Indian Journal of Experimental Biology*. 38(1): 519-520.
- Roper, C. E. F., M. J. Sweeney and Nauen. 1984. *Cephalopods of The World. An annotated and illustrated catalogue of interest to fisheries*. FAO Fisheries Synopsis. 3:112-127
- Saryono, Retnan, i.H. & Santoso, D., 2015. *Seduhan Biji Kurma (Phoenix Dactylifera) Memperkuat Membran Sel Sperma*. *Jurnal Ners*, X(2), pp.355-59.
- Sasaki, J, K. Ishita, K. Takaya, Y. Uchisawa, and H. Matsue. 1997. *Antitumor activity of squid ink*. *Journal of Nutrition Science Vitaminology*. 43:455- 461

- Sgarbieri, V. C., Teresa, M., & Pacheco, B. (2017). *Healthy human aging : intrinsic and environmental factors. Brazilian Journal Of Food Technology*, 20, 1–23.
- Sharma R, Agarwal A, Rohra VK, Assidi M, Abu-Elmagd M, Turki RF. *Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epi-genetic risks to offspring, Reproductive Biology and Endocrinology*. 2015; 13:35-55.
- Sherwood, L., KIdanorf, Hillar, Yance, dan H., Paul. 2005. *Animal Physiology Form Gees to Organism*. Thomson Books/cole. United States.
- Shwe, T. et al. (2018). *Role of D- galactose-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions, Experimental Gerontology*. Elsevier, 101(October 2017), pp. 13–36. doi: 10.1016/j.exger.2017.10.029.
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Tikus Laboratorium (*Rattus norvegicus*): 37- 57. Penerbit Universitas Indonesia.
- Sulistyoningrum, E. (2017). *D- Galactose-Induced Animal Model of Male Reproductive Aging, Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 8(1), pp. 19–27. doi: 10.20885/JKKI.Vol8.Iss1.art4.
- Sutyarso. 2017. *Penuaan dan Fungsi Seksual. Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
- Sutyarso, Busman H., Kanedi M., and Muhartono. 2016. *Rhizome Extract of White Ginger (Zingiber officinale Roxb) Maintains Testicular Function of Aging Mice. International Journal of Nutrition and Food Science*. 5(3): 175-178.
- Sobti RC. 2008. *Animal Physiology*. New Delhi: Narosa Publishing House.
- Soeradi, O. dan Y. A. Nugroho. 2002. *Toksisitas Akut dan Efek Pemberian Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) terhadap Struktur Anatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih. Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 1(1):35-37.
- Somoyani, N. Ketut. 2011. *Pemberian Astaxanthin Oral Mencegah Gangguan Spermatogenesis Mencit (Mus musculus) yang Diinduksi Pelatihan Fisik Berlebih. Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana*. Denpasar. Tesis.
- Tambupol, A.M. 2014. *Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Pada Pemberian Suspensi Buah Kepel (Stelechocarpus burahol) Secara Intragastrik Selama 14 Hari*. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Hewan. Bogor.

- Tash JS, A Barbara, AH Sheri & C Ramappa, 2008. *Carboxylic acid derivative blocks spermatogenesis and is contraceptive in rats after a single oral Dose: Biology of Reproduction*, 78: 1127-1138
- Troen B. 2003. *The biology of aging. Mount Sinai. Journal Medica*. Vol 70:3-22.
- Turner CD, Bagnara JD. 1988. *Endokrinologi Umum*. 6th ed. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Wink, M. 2008. *Ecological Roles of Alkaloids*. in: Wink, M. (Eds.) *Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. Jerman: 378-41
- Yuwono S.S., E. Sulaksono, dan R. P. Yekti. 2006. *Keadaan Nilai Normal Bal Mencit Strain CBR Swiss Derived di Pusat Penelitian Penyakit Menua* <http://www.kalbefarma.com/filesedk/15keadaannilainormal92.pdf/15-keadanilainormal/92.html>
- Zhong, J. P. G. Wang, J. H. Shang, J. Q. Pan, K. Li, Y. Huang and H. Z. Liu. 2009. *Protective effects of squid ink extract towards hemopoieticinjuries induced by cyclophosphamine*. *Marine Drugs*. 7: 9-18