

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*
L.) SEBAGAI ANTI AGING TERHADAP HISTOLOGI TUBULUS
SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI D-
GALAKTOSA**

(Skripsi)

Oleh

KHOFIFATUS SURYANI HARAHAHAP

2017061023



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) SEBAGAI ANTI AGING TERHADAP HISTOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA

Oleh

KHOFIFATUS SURYANI HARAHAHAP

Penuaan pada pria ditandai dengan menurunnya kesuburan reproduksi. Salah satu yang dapat menyebabkan penuaan adalah D-galaktosa. Penggunaan D-galaktosa dalam jangka panjang dan dosis tinggi dapat meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Pada organ reproduksi jantan, stres oksidatif dapat mengganggu spermatogenesis sehingga mengakibatkan kematian sel spermatogenik. Peningkatan stres oksidatif disebabkan oleh ketidakseimbangan produksi radikal bebas dan antioksidan. Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) memiliki banyak kandungan senyawa antioksidan yang dipercaya mampu melawan radikal bebas, sehingga dapat mencegah penuaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap jumlah sel-sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-November 2023, dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu K0 tanpa perlakuan, K- dengan diinduksi D-galaktosa dengan dosis 150 mg/kgBB, P1 dengan diinduksi D-galaktosa dan diberi ekstrak daun kersen 35 mg/kgBB, P2 dengan diinduksi D-galaktosa dan diberi ekstrak daun kersen 70 mg/kgBB, P3 dengan diinduksi D-galaktosa dan diberi ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun kersen dapat meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit yang sebelumnya mengalami penurunan akibat diinduksi D-Galaktosa sehingga menyebabkan proses spermatogenesis menjadi terganggu. Hasil terbaik ditunjukkan oleh kelompok P3 dengan dosis 105 mg/kgBB.

Kata kunci: Penuaan, D-Galaktosa, Stres Oksidatif, Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.), Tubulus Seminiferus.

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*
L.) SEBAGAI ANTI AGING TERHADAP HISTOLOGI TUBULUS
SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus L.*) YANG DIINDUKSI D-
GALAKTOSA**

Oleh

KHOJIFATUS SURYANI HARAHAP

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi : **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Anti Aging Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus L.*) Yang Diinduksi D-Galaktosa**

Nama Mahasiswa : *Khofifatus Suryani Harahap*

No. Pokok Mahasiswa : 2017061023

Jurusan / Program Studi : Biologi / S1 Biologi Terapan

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.
NIP. 195704241987031001

Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.
NIP. 195901011987031001

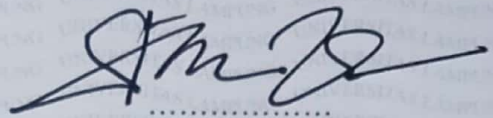
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

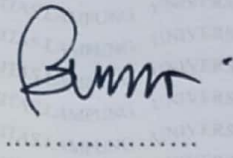
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

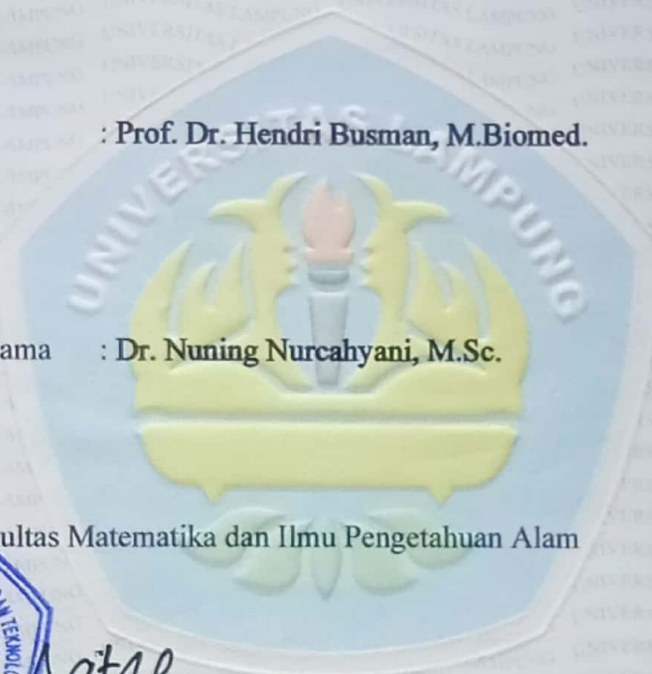
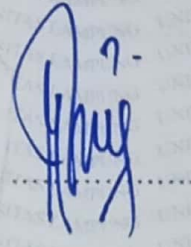
Ketua : Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.



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



Penguji Utama : Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 6 Maret 2024

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khofifatus Suryani Harahap

NPM : 2017061023

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Anti Aging Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus L.*) Yang Diinduksi D-Galaktosa”

Adalah benar hasil karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Kemudian, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan/atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

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

Bandarlampung, 15 Februari 2024

Yang menyatakan,



Khofifatus Suryani Harahap
NPM. 2017061023

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Bandar Lampung pada tanggal 20 September 2002 dari pasangan Bapak Maratobing Harahap dan Ibu Prihartini. Penulis merupakan anak ketiga dari empat bersaudara. Penulis bertempat tinggal di Bumisari Kec. Natar, Kab. Lampung Selatan, Lampung. Penulis bersekolah di TK Swadhipa pada tahun 2008. Kemudian, penulis melanjutkan ke sekolah dasar di SDN 1 Merak Batin. Di tahun 2014, penulis melanjutkan ke sekolah menengah pertama di SMPN 1 Natar. Setelah lulus dari sekolah menengah pertama, penulis melanjutkan sekolah di SMK Kesehatan Nurul Islam Husada pada tahun 2017 hingga lulus 2020. Lalu, penulis melanjutkan ke Perguruan Tinggi sebagai mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN. Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila penulis pernah menjadi asisten praktikum Teknik Biomolekuler, Keterampilan Kerja Laboratorium, Genetika, Biosistematika, Mikroteknik, dan Parasitologi, serta penanggung jawab MK Imunobiologi. Penulis juga aktif dalam kegiatan Organisasi diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang Sains dan Teknologi pada tahun 2021, Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) U KBM Unila sebagai KMB Advokasi Publik pada tahun 2020, Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA sebagai staf ahli SPM tahun 2021, staf ahli Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM) tahun 2022, dan Sekretaris Dinas Advokasi dan Kesejahteraan Mahasiswa (ADKESMA) tahun 2023, Rohani Islam (ROIS) FMIPA sebagai anggota biro danus tahun 2021, serta sebagai Koordinator pada kepanitiaan Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Menengah (LKMM-TM) tahun 2022 dan Sekretaris Koordinator pada kepanitiaan Karya Wisata Ilmiah (KWI) ke 33 tahun 2022.

Pada tahun 2020, penulis pernah mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah (KWI) di Desa Bumisari Kec. Natar, Kab. Lampung Selatan, Lampung. Pada tahun 2021, penulis mengikuti program MBKM yaitu Program Kurator Hayati (KH) Fakultas Biologi UGM dan Program Kredensial Mikro Mahasiswa Indonesia (KMMI) pada course **“SDGs dan Pengelolaan Kesehatan Daerah”** di Fakultas Hukum Universitas Lampung. Pada tahun 2023, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung pada tanggal

4 Januari 2023 sampai 12 Februari 2023 dengan judul **“Identifikasi Bakteri dan Pola Resistensi Antibiotik pada Sampel Pus dari RS. Urip Sumoharjo di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung”**. Pada tahun 2023 juga, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kalirejo, Kecamatan Kalirejo, Kab. Lampung Tengah selama 40 hari pada 26 Juni 2023 sampai 4 Agustus 2023. Penulis menyusun skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Anti Aging Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi D-Galaktosa”**.

MOTTO

Allah with Us

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

(Al-Insyirah: 6-8)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya”

(Qs. Al-baqarah: 286)

“Jangan engkau bersedih, sesungguhnya Allah bersama kita”

(Qs. At-Taubah: 40)

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(Qs. Al-Baqarah: 216)

“Bermimpilah setinggi langit. Karena jika engkau jatuh, engkau akan jatuh di antara bintang-bintang”

(Ir. Soekarno)

“Semangat terus raih cita-cita ya inang, jangan lelah berjuang dan berdoa”

(Ayahku)

“Kesuksesan berawal dari mimpi. Jangan pernah menyerah dengan apa yang sudah kita targetkan untuk masa depan. Yakinkanlah semua proses dengan usaha yang maksimal akan mendapatkan hasil yang terbaik pula”

“Jika kau tidak mampu terbang, maka berlailah”

“Apa yang sudah tertakar, tidak akan pernah tertukar”

“Love my self, love yourself”

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih dan maha penyayang

Dengan mengucapkan Syukur kepada Allah SWT atas berkat Rahmat, hidayah, Ridho dan Karunia-Nya yang selalu ia berikan, Kupersembahkan karya kecilku ini kepada:

Kedua orangtuaku,

Maratobing Harahap dan Prihartini

yang selalu menyebut namaku dalam doa, yang selalu mencurahkan cinta, kasih, dan sayangnya kepadaku tanpa henti, serta yang selalu memotivasi, menyemangati, dan memberikan dukungan dalam setiap langkah perjalananku untuk menggapai sebuah kesuksesan.

Diriku,

Khofifatus Suryani Harahap

Seorang anak perempuan dengan mimpi yang tinggi, yang telah bertahan sejauh ini dalam segala proses perjalanan kehidupan, termasuk selama meraih pendidikan.

Dosen pembimbing dan pembahasku,

***Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed., Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.,
Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.***

yang telah memberikan ilmu, semangat, motivasi, dorongan, masukan, serta membantu rangkaian proses penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai dengan tepat waktu.

Saudara, sahabat, teman, kakak-kakak dan adik-adik yang selalu memberi semangat, dukungan, canda tawa, bantuan, dan pengalaman berharga.

*Serta Almamaterku tercinta, **Universitas Lampung.***

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin,

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT. atas berkat rahmat dan hidayah-Nya Dzat yang Maha Kuasa, Maha Besar, dan Maha Memiliki Ilmu. Selalu lantunan sholawat beriring salam persembahan penuh kerinduan pada suri tauladan kita, Rasulullah SAW.

Skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Anti Aging Terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi D-Galaktosa”**, yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung. Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orangtuaku tercinta, Bapak Maratobing Harahap dan Ibu Prihartini, abangku Adi Kusuma, kedua kakakku Dinni Azelia Harahap dan Silvia Hermalice, adikku tersayang Mustamar Ahmad Munawir Harahap, serta ketiga keponakanku Arman, Alvino, Azelin, yang selalu mendoakan, memberi kasih sayang, semangat, motivasi, nasihat, dan dukungan yang tiada hentinya kepada penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. selaku dosen pembimbing I yang telah membimbing dan memberikan ilmu, arahan, nasihat, kritik, dan saran kepada penulis, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
3. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing dan memberikan ilmu, saran, kritik, nasihat, dan arahan kepada penulis, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku dosen pembahas yang telah memberikan ilmu, arahan, kritik, saran, dan nasihat kepada penulis, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi.
5. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik atas masukan, arahan, ilmu, kritik, dan saran kepada penulis.
6. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila.
9. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Terapan atas masukan, arahan, ilmu, dan saran kepada penulis.
10. Seluruh dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
11. Seluruh staf, laboran, dan karyawan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

12. Keluarga Besar Mardomu Bulung dan Alm. Eyang Wiryo Suparto yang selalu memberikan semangat dan dukungan yang tiada henti.
13. Sahabat-sahabatku di kampus, Riska Nava Mutiara, Riska Amelia Dewi, Melga Fadillah Putri, dan Khusnul Nur Afifah yang selalu mendukung, menyemangati, serta mengisi canda tawa dari awal maba hingga saat ini, dan insyaallah seterusnya.
14. Teman seperjuanganku dalam penelitian ini, Riska Amelia Dewi dan Lucy Adi Tama yang telah membantu dalam penelitian.
15. Teman-teman tim KKN Xrejo Lamteng, Dita Indah Ardeyanti, Tsabitha Balqis, Dinda Ananto Prameswari, Dian Wahyu Setiawan, Naufal Anbial Falah, Hasbiyal Furqon, Nabila Syamsa, Intan Putri Hutami, Ara Annastasya, Fina Mujahidah, yang memberikan semangat serta berbagi suka dan duka selama KKN hingga saat ini.
16. Teman-teman seperjuangan angkatan 2020, Biologi Terapan dan Biologi Murni yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu atas kebersamaan dan persaudaraannya.
17. Teman-teman BEM FMIPA 2023 dan dinas Adkesma atas kebersamaan dan persaudarannya.
18. Ust. Hanan Attaki dan Ustz. Oky Setiana Dewi yang telah memotivasi penulis melalui kajian dan ceramah-ceramahnya.
19. Almamaterku tercinta, Universitas Lampung.
20. Dan seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT senantiasa membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan di dalam penyusunan skripsi ini dan jauh dari kata kesempurnaan, karena sejatinya kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis berharap kritik dan saran yang membangun untuk meningkatkan kualitas dari karya ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua, aamiin.

Bandarlampung, 15 Februari 2024
Penulis

Khofifatuz Suryani Harahap

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
MOTTO	ix
PERSEMBAHAN	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Kerangka Pemikiran	4
1.4 Hipotesis Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Penuaan/Aging	8

2.2	Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	9
2.2.1	Klasifikasi Mencit.....	9
2.2.2	Morfologi Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	10
2.2.3	Sistem Reproduksi Mencit Jantan (<i>Mus musculus L.</i>).....	11
2.3	Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>).....	12
2.3.1	Klasifikasi	12
2.3.2	Morfologi.....	13
2.3.3	Senyawa Kimia pada Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>)	14
2.4	Stres Oksidatif dan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	14
2.5	Testis.....	16
2.5.1	Tubulus Seminiferus	18
2.5.2	Spermatogenesis	20
2.6	Pembelahan Sel	22
2.6.1	Pembelahan Mitosis.....	23
2.6.2	Pembelahan Meiosis	25
2.7	D-Galaktosa.....	29
III.	METODE PENELITIAN	31
3.1	Waktu dan Tempat	31
3.2	Bahan dan Alat	31
3.3	Metode.....	32
3.4	Pelaksanaan	33
3.4.1	Tahap Persiapan.....	33
3.4.2	Pembuatan Ekstrak Daun kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>).....	34
3.4.3	Perlakuan pada Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	35
3.4.4	Rancangan Penelitian.....	37
3.4.5	Parameter yang diamati	37
3.4.6	Proses Pembedahan Mencit (<i>Mus musculus L.</i>)	38
3.4.7	Teknik Pembuatan Slide	38
3.5	Pengamatan.....	40
3.6	Analisis.....	40
3.7	Diagram Alir Penelitian.....	41

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil.....	42
4.1.1 Jumlah Sel Spermatogenik.....	42
4.1.2 Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	44
4.1.3 Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	45
4.2 Pembahasan	49
4.2.1 Peranan Ekstrak Daun Kersen (<i>M. calabura</i> L.) Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Mencit (<i>M. musculus</i> L.).....	49
4.2.2 Peranan Ekstrak Daun Kersen (<i>M. calabura</i> L.) Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus	56
4.2.3 Peranan Ekstrak Daun Kersen (<i>M. calabura</i> L.) Terhadap Tebal Epitel Tubulus Seminiferus	58
V. KESIMPULAN DAN SARAN	61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok Perlakuan Penelitian	33
2. Rata-rata Jumlah Sel Spermatogonium Mencit (<i>M. musculus</i> L.)	42
3. Rata-rata Jumlah Sel Spermatisit Primer Mencit (<i>M. musculus</i> L.).....	43
4. Rata-rata Jumlah Sel Spermatid Mencit (<i>M. musculus</i> L.)	44
5. Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus Testis Mencit (<i>M. musculus</i> L.).....	45
6. Rata-rata Tebal Epitel Tubulus Seminiferus Testis Mencit (<i>M. musculus</i> L.).....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Faktor Penyebab Penuaan.....	9
2. Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	10
3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan.....	12
4. Tumbuhan Kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.).....	13
5. Perbandingan Histologi Tubulus Seminiferus Normal dan Abnormal	19
6. Tahapan Spermatogenesis Mencit.....	22
7. Proses Pembelahan Mitosis.....	24
8. Tahapan Meiosis 1	27
9. Tahapan Meiosis 2	29
10. Potongan melintang tubulus seminiferus testis mencit (<i>M. musculus</i> L.) dari semua kelompok perlakuan yang menunjukkan jumlah sel-sel spermatogenik tubulus seminiferus mencit (<i>M. musculus</i> L.).	47
11. Potongan melintang tubulus seminiferus testis mencit (<i>M. musculus</i> L.) dari semua kelompok perlakuan yang menunjukkan diameter dan ketebalan epitel tubulus seminiferus mencit (<i>M. musculus</i> L.)	48

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penuaan reproduksi pada pria ditandai dengan menurunnya kesuburan. Namun, faktor-faktor yang dapat melindungi atau mencegah penuaan reproduksi pria sebagian besar masih belum diketahui. Penuaan dapat dikatakan sebagai suatu proses perubahan teratur yang melibatkan perubahan genetik, biokimia, morfologi dan fisiologis. Penuaan dianggap sebagai konsekuensi mutlak suatu proses fisiologis alami dan tidak dapat dihindari. Awalnya, sebagian ahli meyakini bahwa tanda dan keluhan penuaan mulai muncul pada usia 40 tahun. Namun ternyata tanda-tanda penuaan dapat muncul di usia yang lebih muda. Untuk mencegah penuaan, dibutuhkan upaya sebelum tanda dan penyakit muncul. Penuaan harus dipahami sebagai perubahan kompleks terkait usia suatu organisme, yang meningkatkan kemungkinan kematian dan spermatogenesis selama penuaan (Zahidov *et al.*, 2010; Mitchell *et al.*, 2015).

Salah satu akibat dari penuaan adalah munculnya kelainan pada organ genital berupa penurunan ukuran dan fungsi penis serta testis. Salah satu yang dapat menyebabkan penuaan adalah D-Galaktosa. D-Galaktosa merupakan aldoheksosa alami yang termasuk dalam golongan gula pereduksi. Pemberian D-Galaktosa secara terus menerus selama 2 bulan dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa seluler (Ahangarpur *et al.*, 2014). Konsumsi galaktosa yang berlebihan bereaksi dengan gugus amina (NH₂) dan juga

dimetabolisme oleh enzim aldose reduktase dan galaktosa oksidase, menghasilkan metabolit yang berkontribusi pada pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) (Parameshwaran *et al.*, 2010). Produksi ROS yang berlebihan akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan sehingga timbul stres oksidatif. Pada reaksi ini akan menghasilkan radikal hidroksil (OH⁻), radikal superoksida (O₂⁻), radikal nitrit oksida (NO⁻), dan radikal lipid peroksil (LOO⁻) yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif sel dan membran sperma (Astuti, 2008). Ada berbagai teori yang mencoba menjelaskan mekanisme penuaan. Salah satu teori yang banyak dijadikan dasar penuaan adalah mekanisme stres oksidatif (Mohammadirad *et al.*, 2013). Stres oksidatif disebabkan oleh ketidakseimbangan antara *reactive oxygen species* (ROS) dan pembentukan antioksidan dalam tubuh. ROS termasuk radikal bebas dan hidrogen peroksida, yang dapat terakumulasi dalam sel dan menyebabkan kerusakan (Ye *et al.*, 2014). Hal ini disebabkan adanya peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif pada organ reproduksi jantan dan mengganggu spermatogenesis pada mencit sehingga mengakibatkan kematian sel spermatogenik tinggi dan spermatogenesis relatif rendah (Dewanto dan Isnaini, 2017).

Berkaitan dengan penuaan fisiologis, D-galaktosa jangka panjang dan dosis tinggi juga dapat meningkatkan pembentukan ROS. Konsumsi D-galaktosa yang berlebihan dapat meningkatkan produksi ROS melalui metabolit oksidatif (Parameshwaran *et al.*, 2010). Metabolit D-galaktosa ini dapat menginduksi penuaan dengan menyebabkan stres oksidatif dan mengaktifkan kaskade pro-inflamasi (Ghanbari *et al.*, 2012). Pada hewan percobaan, pemberian D-galaktosa secara kronis mengurangi fungsi kognitif, jantung dan mobilitas serupa dengan penuaan fisiologis (Lima *et al.*, 2017). Dengan demikian, induksi dengan D-galaktosa banyak digunakan sebagai model dalam studi penuaan (aging) (Ho, Liu and Wu, 2003).

Antioksidan merupakan senyawa yang secara signifikan dapat mencegah kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Halliwell dan Whiteman, 2004). Radikal bebas merupakan salah satu faktor yang mempercepat penuaan. Proses penuaan pada pria ditandai dengan menurunnya fungsi organ reproduksi dan rusaknya spermatozoa. Radikal bebas juga merusak DNA sperma, terutama integritas DNA pada nukleus, yang kemudian dapat menyebabkan kematian sel. Sitoplasma sel spermatogenik mengandung sejumlah kecil enzim pemulung, namun enzim antioksidan intraseluler ini pun tidak dapat melindungi membran plasma yang menutupi akrosom dan ekor dari serangan radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif yang merusak jaringan testis terutama tubulus seminiferus.

Beberapa penelitian telah membahas tentang efek antioksidan, salah satunya *Muntingia calabura L.* Tumbuhan ini dikenal dengan nama kersen. Tumbuhan kersen sangat mudah beradaptasi sehingga dapat tumbuh dimana saja tanpa memandang musim. Oleh karena itu, tumbuhan ini mudah ditemukan meskipun di daerah gurun (Pramono dan Santoso, 2014). Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) mempunyai banyak kegunaan karena mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid, tanin, polifenol dan saponin (Setiawan, 2020). Penelitian Khan *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa tumbuhan *Muntingia calabura L.* mengandung zat dengan aktivitas antioksidan seperti asam askorbat, flavonoid dan alfa-tokoferol. Aruna *et al.*, (2013) melaporkan aktivitas antioksidan ekstrak daun kersen secara *in vitro*. Aktivitas antioksidan kersen dipercaya mampu melawan radikal bebas, sehingga mampu mencegah penuaan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menunjukkan kemampuan ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai *anti-aging* yang diamati pada histologi tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi D-Galaktosa.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap jumlah sel spermatogonium mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi D-Galaktosa.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap jumlah sel spermatosit primer mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi D-Galaktosa.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap jumlah sel spermatid mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi D-Galaktosa.
4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap ukuran diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi D-Galaktosa.
5. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap ukuran tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi D-Galaktosa.

1.3 Kerangka Pemikiran

Penuaan merupakan suatu proses alami yang ditandai dengan penurunan fisik dan mental secara bertahap, terganggunya fungsi biologis dan fisiologis, yang prosesnya dapat dipengaruhi oleh banyak hal, termasuk terhentinya fungsi dan kualitas kerja berbagai organ (Moreira *et al.*, 2017). Saat ini masyarakat sadar bahwa proses penuaan sebenarnya harus dianggap sebagai penyakit, bukan sesuatu yang tidak bisa dihindari. Penyakit degeneratif yang berkembang secara bertahap, menghancurkan seluruh sel, jaringan dan organ dalam tubuh

manusia, yang pada akhirnya berujung pada kematian. Secara proaktif, dunia medis mulai menerima konsep penuaan yang dapat dicegah dan diobati (Sutyarso, 2017). Dengan demikian, suplemen nutrisi, hormon, imunitas, antioksidan, gaya hidup, seksualitas, obesitas hingga terapi sel induk dan terapi gen dapat digunakan untuk berbagai tindakan preventif dan terapeutik untuk mengatasi kekurangan nutrisi (Mitchell *et al.*, 2015).

Pada proses penuaan, kemampuan tubuh dalam menghadapi dampak radikal bebas seperti *reactive oxygen species* (ROS) menurun (Fidianingsih dan Ahsani., 2018). Hal ini menyebabkan kerusakan pada lipid membran dan mitokondria, yang pada akhirnya dapat menyebabkan disfungsi organ (Tan, 2018). Peningkatan ROS menyebabkan kerusakan sel melalui mekanisme peroksidasi lipid dan kerusakan oksidatif pada protein dan DNA (Arundani *et al.*, 2021). Mekanisme peroksidasi lipid merusak DNA mitokondria dan membran sperma sehingga mengakibatkan penurunan kualitas dan kuantitas sperma (Arundani *et al.*, 2021). Proses oksidasi lipid yang diinduksi radikal bebas pada membran menghasilkan produk lipid peroksida seperti malondialdehid (MDA) yang sering digunakan sebagai penanda proses stres oksidatif (Khoubnasabjafari *et al.*, 2017).

D-galaktosa telah digunakan dalam penelitian *in vivo* untuk menginduksi stres oksidatif untuk meniru proses penuaan alami pada mencit (Wang, *et al.*, 2012). Pengaruh pemberian D-galaktosa terhadap proses penuaan dapat dilihat dari dua aspek yaitu dosis dan lama pemberian. Pemberian D-galaktosa dosis kecil dapat membangun tubuh dengan cara memetabolismenya. Hal ini tidak terjadi pada D-galaktosa dosis tinggi (Wang *et al.*, 2012), karena dosis tinggi mengubah D-galaktosa menjadi aldosa dan hidroperoksida oleh galaktosa oksidase. Proses ini dapat merangsang produksi radikal bebas (Mohammadirad *et al.*, 2013). Namun, ketika tubuh menerima terlalu banyak D-galaktosa, hal itu dapat meningkatkan stres

oksidatif. Akumulasi D-galaktosa bereaksi dengan asam amino dan peptida dalam protein membentuk basis *schiff* sehingga senyawa tidak stabil (Bohtay, Palee and Apaijai, 2018). Mekanisme stres oksidatif akibat D-galaktosa terjadi secara intraseluler, terutama pada mitokondria otak. Dengan meningkatkan konsentrasi galaktosa oksidase, D-galaktosa dioksidasi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), yang mengurangi jumlah superoksida dismutase (SOD). Kemudian H_2O_2 bereaksi dengan besi yang tereduksi dan membentuk ion hidroksida (OH^-) (Shwe, 2018).

Morfologi testis mencit normal berwarna merah muda dan lonjong, sedangkan testis mencit abnormal berwarna coklat kemerahan dan bentuknya sedikit lebih kecil (atrofi) (Harun dkk., 2017). Kerusakan testis dapat dilihat secara mikroskopis dengan membuat preparat histologis dengan pewarnaan *Hematoxylyn-Eosin* untuk melihat status sel spermatogenik pada tubulus seminiferus (Bilinska *et al.*, 2018). Gambaran histologis testis normal tampak sebagai susunan sel padat yang rongganya berisi sel spermatogenik, sedangkan gambaran histologis testis rusak berupa susunan antar sel halus akibat nekrosis sel spermatogenik yang ditandai dengan penurunan jumlah sel spermatogenik sehingga lumen tubulus seminiferus tampak kosong (Harlis dan Septiana, 2017).

Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) mengandung flavonoid, tanin, triterpen, saponin dan polifenol yang memiliki efek antioksidan. Daun kersen memiliki banyak khasiat diantaranya antiseptik, anti inflamasi, anti tumor dan anti asam urat. Kandungan antioksidan tertinggi khususnya flavonoid terdapat pada daun tua (Lathief, 2016). Berbagai penelitian telah dilakukan mengenai manfaat daun kersen. Penelitian yang dilakukan oleh Ninditya (2016) mengenai efek ekstrak daun kersen terhadap ginjal tikus menjelaskan bahwa pada dosis 500 mg/kgBB, ekstrak daun kersen mampu memperbaiki kerusakan tubulus ginjal tikus akibat etanol dan soda.

Oleh karena itu, dengan pemberian ekstrak daun kersen, diharapkan dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi sehingga daun kersen dapat dijadikan sebagai suplemen perbaikan tubulus maupun organ dalam yang dapat diamati secara mikroskopis, seperti struktur histologis tubulus seminiferus yang berfungsi sebagai penghasil sperma, penjaga sperma, dan menyalurkan sperma untuk fertilisasi. Berdasarkan uraian tersebut mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dalam memperbaiki kerusakan tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) akibat diinduksi D-Galaktosa.

1.4 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatogonium mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.
2. Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatosit primer mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.
3. Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatid mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa
4. Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat meningkatkan ukuran diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.
5. Ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat meningkatkan ukuran tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.

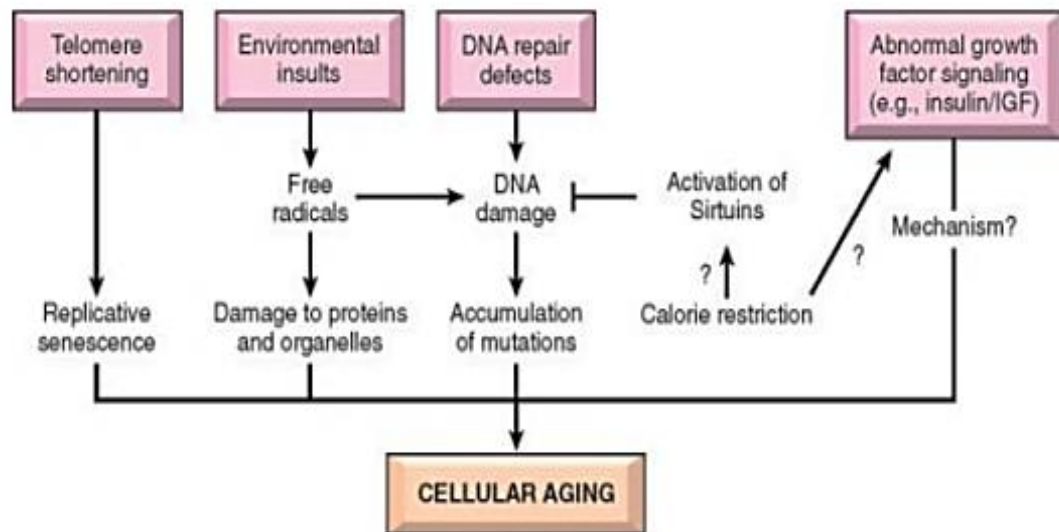
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penuaan/Aging

Penuaan merupakan suatu proses alami yang berjalan secara kumulatif sejak awal kehidupan (Datta *et al.*, 2011). Penuaan dapat terjadi pada berbagai organ tubuh. Penuaan terbagi menjadi dua faktor, yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor internal tidak dapat dihindari karena terjadi pada manusia secara alami, seperti faktor hormon, stres, genetik, kaitannya dengan adanya alel polimorfisme tertentu yang mempengaruhi usia manusia. Faktor eksternal antara lain paparan sinar UV, merokok, konsumsi alkohol berlebihan, pola makan yang buruk dan radikal bebas. Penuaan ekstrinsik sangat terkait dengan kualitas dan aktivitas hidup seseorang yang terpapar langsung dengan lingkungan luar. Hal ini tidak lepas dari mekanisme respon adaptasi terhadap stres (Tigges *et al.*, 2014).

Penuaan reproduksi pada pria ditandai dengan penurunan kesuburan dan rusaknya spermatozoa. Penuaan pada organ reproduksi pria menyebabkan berkurangnya kualitas dan kuantitas sperma pada spermatogenesis. Penuaan dapat menyebabkan penurunan ukuran testis, sel germinal, sel Sertoli, sel Leydig dan sel peritubular. Berdasarkan analisis ultrastruktur testis, dilaporkan bahwa pematangan sperma pada spermatogenesis terhenti pada tahap spermatogonium dan spermatisit pada testis. Tubulus seminiferus yang normal secara histologis memiliki bentuk bulat dan tepi teratur, sedangkan

tubulus seminiferus yang rusak memiliki tepi tidak beraturan dan jumlah lebih sedikit (Jiang *et al.*, 2013). Mekanisme faktor penyebab penuaan secara jelas dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Mekanisme Faktor Penyebab Penuaan (Robbins dan Cotran, 2007)

Anti-aging merupakan proses mencegah atau memperlambat efek penuaan sehingga seseorang tampak lebih segar dan awet muda. Perubahan fisik pada manusia dapat dicegah dengan produk anti-aging seperti obat atau kosmetik.

2.2 Mencit (*Mus musculus L.*)

2.2.1 Klasifikasi Mencit

Mencit merupakan kelompok mamalia yang biasa dijadikan sebagai hewan uji dalam penelitian karena sifat fisiologis dan biokimianya yang sangat mirip dengan manusia, terutama aspek metabolisme glukosa yang dimediasi oleh hormon insulin (Fuadah, 2019). Klasifikasi mencit (*Mus musculus L.*) menurut Nugroho (2018) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Mamalia
Ordo : Rodentia
Family : Muridae
Genus : Mus
Species : *Mus musculus L*

2.2.2 Morfologi Mencit (*Mus musculus L.*)

Mencit sering dijadikan hewan laboratorium karena secara fisiologis hampir mirip dengan manusia. Mencit sering digunakan dalam penelitian atau percobaan karena memiliki umur yang relatif pendek, memiliki jumlah keturunan yang banyak setiap kelahirannya, dan memiliki ciri-ciri reproduksi yang mirip dengan hewan lain seperti, domba, babi, dan sapi. Mencit secara jelas dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus L.*) (Haryadi, 2022)

Mencit mempunyai sifat penakut, fotofobik, dan biasanya bersembunyi serta lebih aktif pada malam hari. Usia mencit bervariasi antara 1-3 tahun. Mencit hidup di daerah beriklim dingin, sedang, dan hangat serta dapat hidup bebas atau di dalam kandang. Mencit sangat mudah beradaptasi terhadap perubahan yang dilakukan manusia, bahkan banyak yang hidup liar di hutan (Phifer-Rixey and Nachman, 2015).

2.2.3 Sistem Reproduksi Mencit Jantan (*Mus musculus L.*)

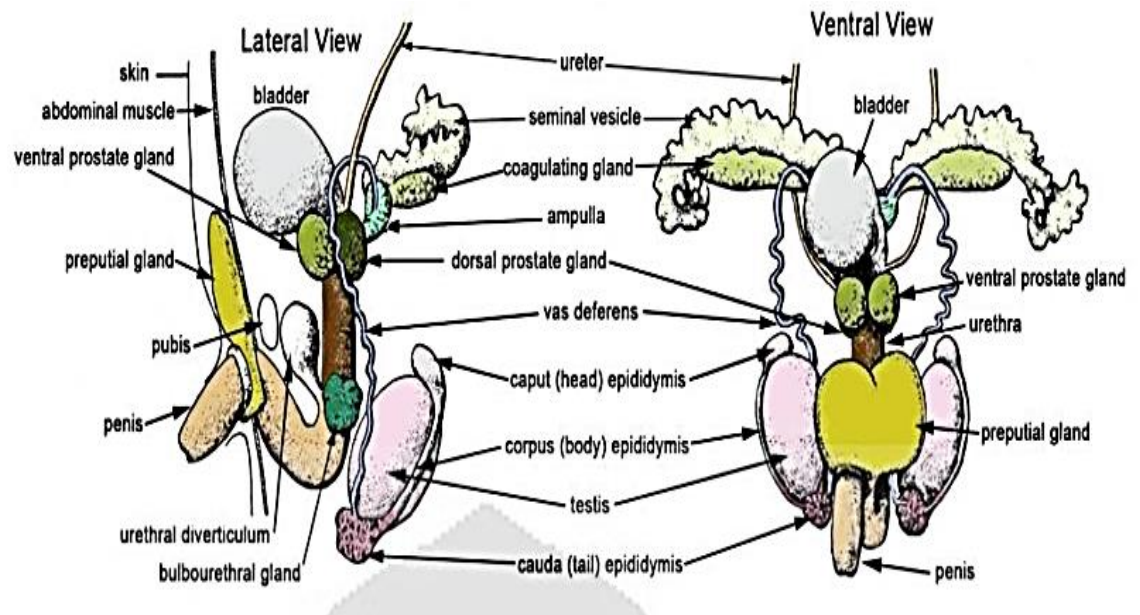
Mencit mempunyai organ reproduksi yang terdiri dari saluran reproduksi diantaranya vas eferens, epididimis, vas deferens, duktus ejakulatorius, dan uretra. Vas eferens saluran yang berliku-liku dan rongganya dilapisi dengan sel epitel bersilia. Epididimis merupakan saluran yang terdiri dari tiga bagian yaitu caput, corpus, dan cauda. Epididimis bertindak sebagai tempat penyimpanan dan pematangan sperma. Pematangan sperma ditandai dengan hilangnya tetesan protoplasma pada kepala sperma. Bagian atas epididimis berperan dalam menyerap cairan yang dikeluarkan oleh testis. Epididimis memiliki fungsi lain yaitu mengeluarkan cairan yang dihasilkan oleh sel epitelnya untuk mengubah morfologi akrosom, yaitu melalui kondensasi inti, pelepasan sitoplasma, peningkatan muatan negatif, dan penambahan lapisan glikoprotein. Pembuluh darah bagian luar-dalam ditutupi oleh lapisan otot memanjang, dan di antara keduanya terdapat lapisan otot melingkar (Nugroho, 2018; Dillasamola, 2020).

Lumen vas deferens terdiri dari sekelompok sel epitel kolumnar berlapis semu. Lanjutan dari vas deferens adalah duktus ejakulatorius. Duktus ejakulatorius terdiri dari otot-otot yang kuat dan berperan dalam ejakulasi. Saluran ejakulasi bermuara ke uretra. Uretra terdiri atas sekelompok sel peralihan, jaringan ikat longgar, memiliki banyak pembuluh darah dan ditutupi lapisan otot lurik yang tebal (Nugroho, 2018; Dillasamola, 2020).

Alat kelamin mencit jantan juga dilengkapi dengan beberapa kelenjar aksesori yaitu vesikula seminalis, kelenjar koagulasi, ampula, kelenjar bulbourethral, dan kelenjar preputialis. Kelenjar seks aksesori biasanya mengeluarkan cairan berupa cairan mani plasma yang berperan sebagai pelarut dan media pengaktif sperma, karena sperma kaya akan substrat

kalium klorida, natrium, nitrogen, asam askorbat, asam sitrat, fruktosa, inositol, fosfatase dan sedikit vitamin. Penis berfungsi sebagai organ kopulasi yang akan menyalurkan spermatozoa ke dalam organ reproduksi betina. Penis terdiri dari beberapa bagian yaitu korpus kavernosum penis, meatus uretra dan preputialis (Nugroho, 2018; Dillasamola, 2020).

Sistem reproduksi mencit jantan lebih jelas dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan (Rugh, 1968)

2.3 Kersen (*Muntingia calabura* L.)

2.3.1 Klasifikasi

Tumbuhan kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan tumbuhan asli Meksiko Selatan, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang mudah dibudidayakan di negara tropis dan subtropis. Tumbuhan ini banyak dibudidayakan di daerah tropis seperti India dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Upadhye *et al.*, 2021).

Menurut Nilasari (2018), klasifikasi tumbuhan kersen secara taksonomi adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Ordo : Malvales
 Family : Muntingiaceae
 Genus : Muntingia
 Species : *Muntingia calabura* Linn

2.3.2 Morfologi

Tumbuhan kersen memiliki batang yang ramping dan tingginya mencapai sekitar 7,5-12 meter, serta cabang-cabangnya menyebar hampir mendatar. Daun kersen berwarna hijau, panjang 5-12,5 cm, berbentuk lonjong, bagian atas meruncing, bulu halus berwarna abu-abu atau coklat di bagian atas. Bunganya lebar sekitar 1,25-2 cm, tumbuh sendiri-sendiri atau dalam ketiak daun yang terdiri dari 2 atau 3 daun, dengan lima sepal hijau dan lima kelopak putih serta banyak benang sari kuning mencolok. Buah berbentuk bulat, lebar sekitar 1-1,25 cm, berwarna hijau, kuning atau merah. Daging buahnya berwarna coklat muda, lembut, berair, rasanya manis, berisi biji kecil-kecil berwarna kekuningan (Wajdi *et al.*, 2017). Tumbuhan kersen dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Tumbuhan Kersen (*Muntingia calabura* L.)
 A (daun), B (buah), C (tangkai) (PIMNAS29,2016).

2.3.3 Senyawa Kimia pada Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Daun kersen mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, triterpenoid, glikosida, antrakuinon, fenol, air, protein, lemak, karbohidrat, serat, abu, kalsium, fosfor, zat besi, karoten, tanin, ribofalin, niacin, dan kandungan vitamin C. Berdasarkan penelitian Puspitasari & Wulandari (2017), kandungan flavonoid pada daun kersen paling tinggi dibandingkan senyawa lainnya. Kandungan total flavonoid ekstrak etil asetat daun kersen pada dosis 100 µg/ml adalah 93,21 mg. Flavonoid merupakan antioksidan alami yang aktif secara biologis dapat mencegah berbagai reaksi oksidasi dan berperan sebagai pereduksi radikal hidroksil, radikal superoksida dan peroksil (Kuntorini *et al.*, 2013). Senyawa fenol dan flavonoid juga berperan dalam mencegah terbentuknya radikal bebas. Senyawa fenol daun kersen mengandung komponen anti radikal bebas. Kapasitas donor proton gugus hidroksil pada komponen senyawa fenolik mencegah reaksi peroksidasi lipid yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa polifenol juga memiliki efek antiglikasi dengan menghambat sinyal RAGE dan reaksi glikosidasi (Sadowska-Bartosz dan Bartosz, 2015). Daun kersen juga mengandung saponin yang berperan dalam proses antipenuaan dengan mengaktifkan AKT/Forkhead box O3a. Proses ini meningkatkan ekspresi dan aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida dismutase-2, katalase, glutathione reduktase, glutamat-sistein ligase dan heme oksigenase-1 (Khan *et al.*, 2015).

2.4 Stres Oksidatif dan *Reactive Oxygen Species* (ROS)

Penuaan merupakan proses multifaktorial dimana efisiensi proses biokimia dan fisiologis secara bertahap menurun setelah fase reproduksi. Beberapa hipotesis mengenai mekanisme dasar proses penuaan antara lain perubahan

homeostatis metabolik, proses inflamasi dan/atau redoks pada sel dan jaringan, dan salah satu hipotesis konsep penuaan yang diterima adalah teori stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas dalam tubuh. Teori stres oksidatif pertama kali dikemukakan oleh Denham Harman pada tahun 1956 dengan menjelaskan bahwa oksigen radikal bebas dihasilkan secara endogen sebagai produk sampingan dari proses metabolisme yang menggunakan oksigen. Stres oksidatif yaitu ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan yang berperan dalam timbulnya kerusakan oksidatif dan kerusakan sel, sehingga menyebabkan penurunan fungsi fisiologis (Fidianingsih dan Ahsani., 2018).

Sel menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS), *reactive nitrogen species* (RNS) dan radikal bebas, yang merupakan elektron yang tidak berpasangan, sebagai bagian dari metabolisme nutrisi menggunakan oksigen. Radikal bebas yang paling banyak merusak sistem biologis adalah *oxygen free radical* atau lebih dikenal sebagai ROS. Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) atau dapat berasal dari luar tubuh (eksogen). Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme protein, karbohidrat dan lemak (proses pembakaran) di mitokondria, pada proses inflamasi atau pada reaksi antara besi logam transisi tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom dan kondisi iskemik. Radikal bebas ini dapat dihasilkan melalui beberapa mekanisme, yaitu autoksidasi, aktivitas oksidatif (misalnya siklooksigenase, lipooksigenase, dehidrogenase dan peroksidase), dan sistem transpor elektron (Fidianingsih dan Ahsani., 2018).

Sumber radikal bebas eksogen berasal dari berbagai sumber seperti polusi dan asap tembakau, makanan dan minuman, radiasi, ozon dan pestisida. Senyawa ROS terbentuk dengan jumlah antioksidan yang tidak seimbang dan menyebabkan kerusakan biomolekul (berhubungan dengan asam nukleat, lipid dan protein yang berperan sebagai makromolekul penyusun sel) dan

makromolekul sehingga menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi rantai samping asam amino (terutama sistein), pembentukan ikatan silang protein-protein dan oksidasi tulang punggung polipeptida yang menyebabkan fragmentasi protein, kerusakan DNA, dan putusannya untai DNA. *Reactive Oxygen Species (ROS)* dalam jumlah besar ini mempengaruhi homeostatis tubuh dan menimbulkan gangguan penyakit degeneratif seperti diabetes, jantung, kanker, dan lain-lain (Fidianingsih dan Ahsani., 2018).

Selain itu, produksi ROS yang berlebihan dapat menginduksi proses oksidatif yang menyebabkan disfungsi dan kematian sel melalui jalur apoptosis intrinsik dengan remodeling sel dan pemendekan ujung DNA telomer, sehingga membatasi jumlah mitosis sel. Peningkatan laju kehilangan telomer ini merupakan salah satu faktor risiko utama proses penuaan, selain ekspresi berlebih dari proses transkripsi NF- α B dan hiperaktif sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Untuk mencegah jumlah radikal bebas berlebihan, tubuh membutuhkan antioksidan. Antioksidan adalah molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel, memperlambat oksidasi substrat, menetralkan radikal bebas, menurunkan kadar peroksida dan meningkatkan oksidasi membran, mendorong zat besi untuk mengurangi produksi ROS dan menetralkan ROS melalui metabolisme lipid, asam lemak, rantai pendek dan ester kolesterol (Fidianingsih dan Ahsani., 2018).

2.5 Testis

Testis merupakan organ reproduksi jantan yang menghasilkan sperma dan hormon. Testis berjumlah sepasang, yang ditutupi oleh tunica vasculosa, tunica albuginea, dan tunica vaginalis. Tunica vasculosa merupakan lapisan pertama pembuluh darah tipis. Lapisan ini berperan sebagai lapisan pelindung

pada bagian dalam testis. Lapisan selanjutnya adalah tunica albuginea yang terdiri dari serat padat dan merupakan lapisan pelindung yang tebal. Lapisan jaringan terluar adalah tunica vaginalis. Tunika vaginalis terdiri atas tiga lapisan, yaitu lapisan pertama merupakan lapisan visceral yang menutupi tunika albuginea dan melindungi tubulus seminiferus, lapisan kedua yaitu lapisan cavum vagina yang merupakan ruang kosong antara lapisan viseral dengan lapisan terluar tunika vaginalis, lapisan ketiga yaitu lapisan pariental yaitu lapisan pelindung terluar yang mengelilingi hampir seluruh struktur testis. Testis terdiri dari dua bagian yang berbeda secara struktural dan fungsional, bagian tubulus seminiferus terdiri dari sel Sertoli dan sel germinal yang berkembang dalam berbagai tahap spermatogenesis yang membentuk 80-90% volume testis, dan kompartemen interstisial yang terdiri dari sel Leydig penghasil testosteron dan sel myoid peritubular, fibroblas, sel neurovaskular, dan makrofag. Suplai darah ke testis berasal dari arteri testis (sperma interna) yang berasal dari aorta abdominalis dan turun melalui kanalis inguinalis menuju vas deferens. Suplai darah kolateral disediakan oleh arteri kremaster dan arteri diferensial (Matsumoto and Bremner, 2016).

Di dalam testis terdapat tubulus seminiferus yang didukung oleh jaringan interstisial. Di dalam tubulus seminiferus terdapat sel Sertoli yang berperan dalam memberi nutrisi pada sel sperma. Jaringan interstisial mengandung sel Leydig, yang bertanggung jawab untuk produksi testosteron. Tubulus seminiferus merupakan tabung yang berkelok-kelok yang menyusun sebagian besar wilayah testis. Tubulus seminiferus dilapisi dengan jaringan yang disebut epitel. Epitel tubulus seminiferus terdiri dari sel Sertoli, yang membantu menghasilkan hormon untuk sel spermatogenik. Setelah spermatozoa diproduksi di dalam tubulus seminiferus, sel spermatozoa bergerak menuju epididimis melalui rete testis. Rete testis kemudian membantu mencampurkan sel spermatozoa dengan cairan yang disekresikan oleh sel Sertoli. Tubuh menyerap kembali cairan ini saat sel spermatozoa

bergerak dari tubulus seminiferus ke epididimis. Di dalam rete testis terdapat jutaan tonjolan kecil yang disebut mikrovili. Mikrovili berperan dalam pergerakan sperma ke duktus deferens (Eroschenko, 2015; Sherwood, 2012).

2.5.1 Tubulus Seminiferus

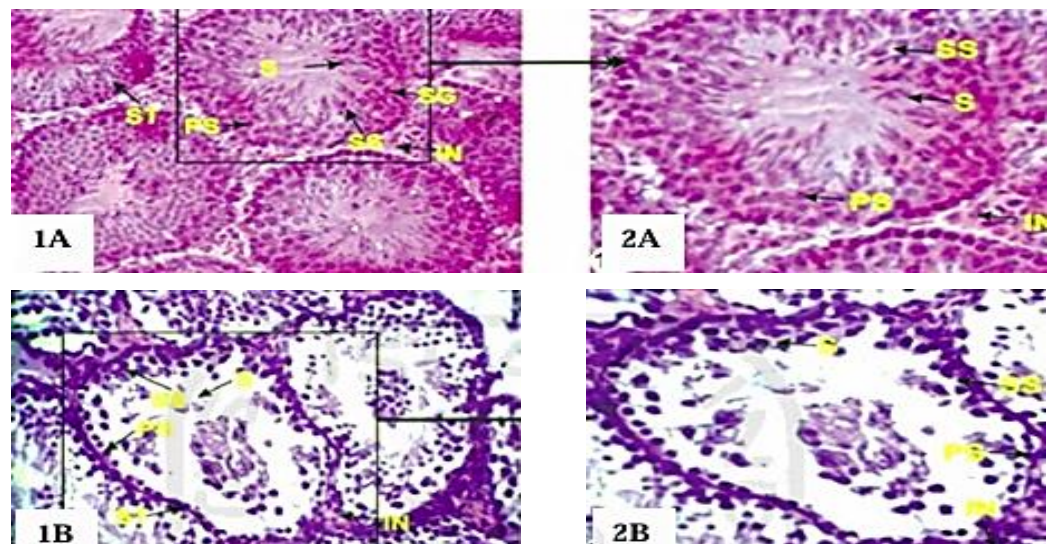
Secara histologi, tubulus seminiferus terdiri atas tiga komponen utama, yaitu lamina propria, sel Sertoli (sel somatis), dan sel epitel germinal yang terdiri atas spermatogonia, spermatosit, dan spermatid. Tubulus seminiferus dikelilingi oleh epitel. Di dalamnya terdapat sel Sertoli yang mengelilingi dan menopang sel germinal yang berdiferensiasi dan berkembang menjadi spermatozoa matang. Spermatozoa kemudian dikeluarkan ke dalam lumen dan diangkut dari tubulus seminiferus ke rete testis, kemudian ke saluran eferen ke epididimis, dan kemudian ke vas deferens untuk ejakulasi akhir. Tubulus seminiferus dikelilingi oleh membran basal dan sel Leydig di bagian interstisial. Sel Sertoli memanjang dari lamina basal ke lumen tubulus. Sel induk spermatogenik, sering disebut spermatogonia, terletak di sepanjang membran basal di tepi tubulus antara sel Sertoli. Sel Sertoli yang berdekatan mengelilingi sperma dan membentuk sambungan khusus, atau sambungan rapat, yang membagi tubulus seminiferus menjadi membran basal yang berisi sperma dan membran adluminal yang berisi sel germinal. Membran basal terdiri dari fibroblas, serat kolagen dan sel myoid. Sel myoid mendukung fungsi sel sperma yang diarahkan ke rete testis (Kierszenbaum and Tres, 2012; Matsumoto and Bremner, 2016).

Persimpangan ketat sel Sertoli mencegah lewatnya molekul besar, steroid, dan ion ke dalam tubulus seminiferus. Pada bagian adluminal, spermatosit yang berasal dari spermatogonia di kompartemen basal mengalami meiosis membentuk spermatid yang semakin matang

(spermiogenesis). Sel Sertoli mengandung reseptor untuk *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan androgen, dan memediasi regulasi spermatogenesis dengan sirkulasi FSH dan testosteron yang diproduksi oleh sel Leydig sebagai respons terhadap rangsangan oleh sirkulasi *luteinizing hormone* (LH) (Matsumoto and Bremner, 2016).

Fungsi dinding dan epitel tubulus seminiferus sangat dipengaruhi oleh ketebalan epitel tubulus seminiferus pada saat produksi sperma. Diameter yang tebal disertai penurunan diameter lumen tubulus seminiferus artinya ketebalan epitel tubulus seminiferus meningkat. Penebalan epitel tubulus seminiferus menunjukkan bahwa sel Sertoli dan sel spermatogenik dalam keadaan baik dan dapat melakukan proses spermatogenesis dengan baik (Golalipour, 2011).

Perbandingan gambaran histologi tubulus seminiferus pada testis normal dan testis abnormal secara jelas dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Perbandingan Histologi Tubulus Seminiferus Normal dan Abnormal (Shaikh *et al.*, 2015).

Gambar 1A merupakan histologi tubulus seminiferus normal dan gambar 2A merupakan perbesarannya.

Gambar 1B merupakan gambaran tubulus seminiferus yang telah diinduksi D-Galaktosa, dan gambar 2B merupakan perbesarannya.

S= Spermatozoa, SG= Spermatogonium, PS= Spermatosit Primer, SS= Spermatosit sekunder, ST= Tubulus Seminiferus, IN= Sel interstisial Leydig

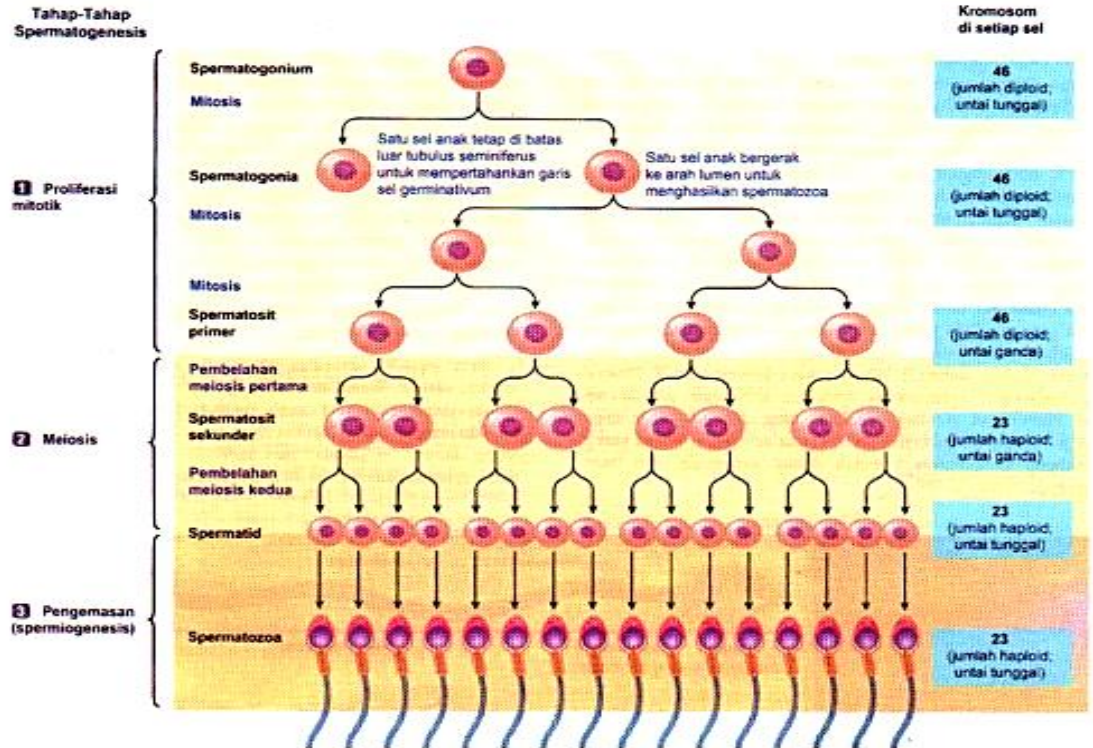
2.5.2 Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses menghasilkan sel spermatozoa. Spermatogenesis terjadi di testis, tepatnya di tubulus seminiferus. Spermatogenesis terjadi karena adanya rangsangan terhadap hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh hipotalamus, selanjutnya hipofisis anterior merangsang dan mengeluarkan LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) yang bekerja dalam proses spermatogenesis. Penurunan hormon FSH dan LH menyebabkan penurunan sekresi testosteron, yang menyebabkan penurunan spermatogenesis. Spermatogenesis normal diatur dengan baik untuk menjaga keseimbangan antara proliferasi sel yang berkelanjutan dan kematian sel terprogram secara simultan. Bentuk kematian sel germinal terprogram ini telah dipelajari secara rinci dan dikenal sebagai apoptosis. Proses kematian sel diatur dan dikendalikan oleh berbagai karakteristik morfologi dan biokimia (Nugroho, 2018). Beberapa tahap spermatogenesis meliputi proliferasi mitosis, meiosis dan pengemasan, atau spermiogenesis. Spermatogenesis dimulai dengan penumpukan spermatozoa primitif di tepi membran epitel germinativum untuk mempertahankan sel germinativum. Spermatogonia memiliki 46 kromosom yang disebut dengan spermatogonia tipe A. Sel spermatogonia tipe A kemudian berdiferensiasi menjadi sel spermatogonia tipe B, yang kemudian berpindah dan membelah untuk menghasilkan sel spermatozoa. Spermatogonium mengalami mitosis sebanyak dua kali dan menghasilkan empat spermatosit primer, dilanjutkan dengan fase meiosis dimana spermatosit primer menghasilkan empat spermatid (Karaeng dkk, 2021).

Busman (2020) menjelaskan bahwa spermatozoa terdiri atas tiga bagian utama, yaitu kepala, akrosom, dan ekor. Kepala spermatozoa berbentuk lonjong dan mengandung *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) kompleks

yang berasal dari protamin sperma, inti spermatozoa yang dilindungi oleh selaput tipis yang mengandung berbagai enzim dapat digunakan untuk membantu fertilisasi, dan ekor spermatozoa mengandung aksonema yang bertanggungjawab atas pergerakan spermatozoa. Sel spermatogonia yang sudah berada di antara sel Sertoli kemudian berdiferensiasi menjadi sel yang lebih besar membentuk spermatosit primer. Spermatosit primer yang terbentuk memiliki 46 kromosom (diploid). Spermatosit primer kemudian mengalami pembelahan meiosis sekitar 22 hari dan menghasilkan 2 spermatosit sekunder yang masing-masing memiliki 23 kromosom berulang (haploid). Spermatosit sekunder kemudian mengalami pembelahan meiosis kedua yang menghasilkan 4 spermatid yang memiliki jumlah 23 kromosom tunggal. Struktur sel spermatid masih seperti sel epitel, namun pada fase spermiogenesis berdiferensiasi menjadi sel spermatozoa. Selama spermiogenesis, sel spermatid mengalami diferensiasi yang meliputi pembentukan kepala, akrosom, ekor, kondensasi dan pemanjangan inti, serta sebagian besar sitoplasma hilang (Guyton & Hall, 2014; Sherwood, 2016).

Tahapan spermatogenesis secara jelas dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Tahapan Spermatogenesis Mencit (Sherwood, 2016)

2.6 Pembelahan Sel

Kemampuan organisme untuk bereproduksi menghasilkan spesiesnya sendiri adalah salah satu ciri untuk membedakan makhluk hidup dengan materi tak hidup. Kemampuan untuk menghasilkan keturunan, seperti semua fungsi biologis, memiliki dasar selular. Dokter Jerman, Rudolf Virchow, menyatakan pada tahun 1858 bahwa “Dimana ada sel, pasti sebelumnya pernah ada sel, misalnya hewan yang hanya muncul dari hewan dan tumbuhan yang hanya muncul dari tumbuhan”. Konsep ini ia rangkum dengan aksioma latin “*Omnis Cellula E Cellula*” yang artinya setiap sel berasal dari sel (Starr, 2012). Pembelahan sel terbagi menjadi dua yaitu mitosis dan meiosis.

2.6.1 Pembelahan Mitosis

Pembelahan mitosis adalah proses pembelahan inti pada tahapan tertentu menjadi dua inti baru, menghasilkan sel anak dengan jumlah dan jenis kromosom yang sama dengan sel induk, dari satu sel menjadi dua sel identik, masing-masing mewarisi kromosom yang sama dengan induknya. Jika sel induk mempunyai $2n$ kromosom, setiap sel anak juga mempunyai $2n$ kromosom. Pembelahan mitosis terjadi dalam beberapa tahap (Masruroh dan Esty, 2016).

Mitosis biasanya diikuti oleh sitokinesis, yang membagi sitoplasma dan membran sel. Proses ini menghasilkan dua sel anak yang identik dengan distribusi sel anak dan organel sel yang hampir sama. Mitosis dan sitokinesis termasuk fase mitosis dalam siklus sel, dimana sel asli membelah menjadi dua sel anak yang memiliki genetika yang sama dengan sel aslinya (Masruroh dan Esty, 2016).

Secara umum, mitosis terbagi menjadi 4 fase yaitu Profase, Metafase, Anafase, dan Telofase. Namun, sebelum keempat fase ini dimulai, terdapat fase persiapan atau Interfase. Proses terjadinya mitosis sebagai berikut:

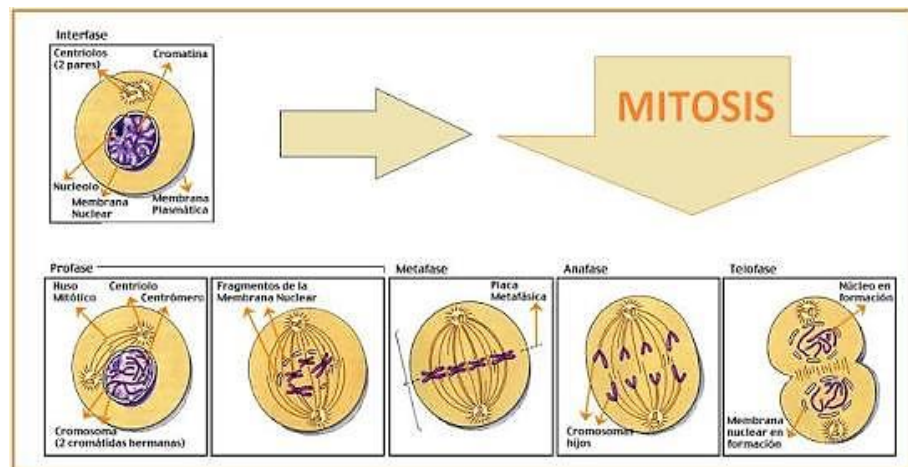
1. Interfase, pada fase ini selaput pada nukleus (*nuclear envelope*) membatasi nukleus. Nukleus mengandung satu atau lebih nukleolus (nukleoil). Pada fase interfase, dua sentrosom terbentuk melalui satu replikasi. Pada sel hewan dalam interfase, setiap sentrosom memiliki dua sentriol.
2. Profase, terdapat serat kromatin yang menumpuk dan menebal, serat kromatin memadat menjadi kromosom individu, yang dapat diamati dengan mikroskop cahaya. Pada fase profase, inti sel hilang atau tidak ditemukan pada fase profase tersebut. Setiap kromosom ganda tampak seperti dua kromatid saudara identik yang disatukan

oleh sentromer dan lengannya. Selain itu, gelendong mitosis mulai terbentuk selama fase profase. Spindel ini terdiri dari sentrosom dan mikrotubulus yang memanjang dari sentrosom.

3. Metafase merupakan fase mitosis yang paling lama, seringkali berlangsung selama 20 menit. Pada fase metafase terdapat sentromer yang berada pada kutub sel yang berlawanan, sentromer terletak berjauhan ataupun saling menjauh.

4. Anafase adalah fase mitosis terpendek, anafase seringkali hanya berlangsung beberapa menit selama pembelahan. Kerja anafase dimulai dengan pemecahan protein kohesin. Pembelahan protein kohesin memungkinkan pemisahan dua kromatid saudara dari masing-masing pasangan secara tiba-tiba. Hal ini menyebabkan setiap kromatid menjadi satu kromosom utuh.

5. Telofase, pada fase ini proses mitosis pada dua sel membentuk dua inti anak dan terbentuknya membran inti dari fragmen membran inti sel induk dan bagian lain dari sistem endomembran. Di fase ini, nukleus muncul kembali dan kromosom menjadi kurang kondensasi (Jackson, 2008).



Gambar 7. Proses Pembelahan Mitosis

2.6.2 Pembelahan Meiosis

Pembelahan meiosis yang disebut juga sebagai pembelahan reduksi merupakan pembelahan sel induk dengan jumlah kromosom diploid ($2n$) menghasilkan empat sel anakan. Setiap sel anak mengandung setengah kromosom sel induk atau disebut haploid (n). Pembelahan meiosis terjadi pada proses pembentukan sel gamet (sel kelamin) pada organ reproduksi (testis atau ovarium). Pada manusia atau hewan, sperma yang haploid diproduksi di dalam testis maupun di dalam ovarium. Pada dasarnya, tahap pembelahan meiosis mirip dengan mitosis. Namun, pada meiosis terjadi dua kali pembelahan, yaitu meiosis I dan meiosis II. Masing-masing pembelahan meiosis terdiri dari fase yang sama, yaitu profase, metafase, anafase, dan telofase.

1. Tahap Meiosis I

Seperti halnya pembelahan mitosis, sebelum mengalami pembelahan meiosis, sel kelamin perlu mempersiapkan diri. Fase persiapan ini disebut tahap interfase. Pada tahap ini, sel melakukan persiapan dengan penggandaan DNA dari satu salinan menjadi dua salinan. Tahap meiosis I terdiri dari profase I, metafase I, anafase I, dan telofase I, serta sitokinesis I.

a. Profase I

Pada fase meiosis I, profase I merupakan fase terpanjang dibandingkan fase lainnya. Profase I dapat berlangsung dalam beberapa hari. Biasanya, profase I membutuhkan waktu sekitar 90% dari total waktu pembelahan meiosis. Tahap ini terdiri dari lima subfase, yaitu leptoten, zigoten, pakiten, diploten, dan diakinesis.

- 1) Leptoten, ditandai adanya adanya benang kromatin yang memendek dan menebal. Pada subfase ini mulai terbentuk kromosom homolog.
- 2) Zigoten, kromosom homolog saling berdekatan memanjang atau berpasangan. Peristiwa ini disebut sinapsis. Pasangan kromosom homolog ini disebut bivalen (terdiri dari dua kromosom homolog).
- 3) Pakiten, kromatid antara satu kromosom homolog dengan kromosom homolog lainnya disebut sebagai kromatid bukan saudara (*non sister chromatids*).
- 4) Diploten, setiap bivalen mengandung empat kromatid yang tetap berkaitan di suatu titik yang disebut kiasma (tunggal). Proses perlekatan atau persilangan kromatid-kromatid disebut pindah silang (*crossing over*).
- 5) Diakinesis, terbentuk benang spindel pembelahan (gelendong mikrotubulus). Sementara itu, membran inti sel atau karioteka dan nukleolus mulai menghilang. Profase I diakhiri dengan pembentukan tetrad yang membentuk dua pasang kromosom homolog.

b. Metafase I

Pada metafase I, kromatid dari kromosom homolog yang tumpang tindih berhadapan di daerah ekuator nukleus (tingkat metafase I). Membran inti mulai menghilang. Dalam hal ini kromosom masih diploid.

c. Anafase I

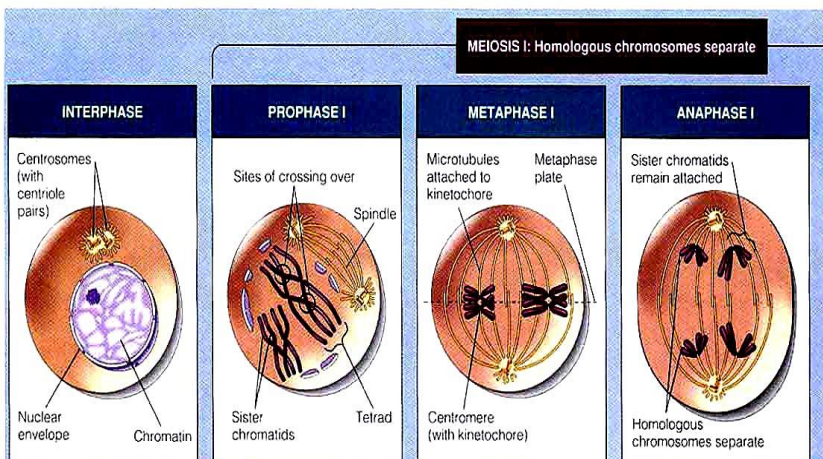
Ketika metafase I selesai, gelendong mikrotubulus mulai menarik kromosom homolog sehingga pasangan kromosom homolog berpisah dan masing-masing menuju kutub yang berlawanan.

d. Telifase I

Pada telifase, setiap kromosom homolog telah mencapai kutub yang berlawanan. Artinya setiap kutub memiliki satu set kromosom haploid. Namun, setiap kromosom tetap memiliki dua kromatid saudara. Pada fase ini, membran inti muncul kembali, dan dilanjutkan ke tahap sitokinesis.

e. Sitokinesis

Merupakan proses pembelahan sitoplasma. Fase sitokinesis terjadi bersamaan dengan telifase. Tahap ini merupakan tahap antara dua pembelahan meiosis. Tidak ada replikasi DNA (replikasi) yang terjadi pada tahap ini. Meiosis I menghasilkan dua sel haploid yang mengandung setengah jumlah kromosom homolog. Namun, kromosom masih merupakan kromatid saudara (masih mengandung DNA duplikat). Untuk menghasilkan sel anakan dengan kromosom haploid diperlukan proses pembelahan meiosis II. Jarak waktu antara meiosis I dengan meiosis II disebut dengan interkinesis. Jadi, tujuan meiosis II adalah untuk membagi dua salinan DNA menjadi sel anakan yang baru hasil dari meiosis I.



Gambar 8. Tahapan Meiosis 1

2. Tahap Meiosis II

Tahap meiosis II juga terdiri dari profase, metafase, anafase, dan telofase. Tahap ini merupakan kelanjutan dari tahap meiosis I. Setiap sel anak yang terbentuk akibat meiosis I membelah lagi menjadi dua bagian. Jadi ketika pembelahan meiosis selesai, empat sel anak dihasilkan.

a. Profase II

Pada fase ini, kromatid saudara dari masing-masing sel anak masih melekat pada sentromer kromosom. Sementara itu, filamen mikrotubulus mulai terbentuk dan kromosom mulai bergerak menuju bidang metafase.

b. Metafase II

Pada metafase II, tiap kromosom mengandung dua kromatid yang memanjang atau berbaris pada tingkat metafase II. Pada tahap ini, benang spindel (benang mikrotubulus) melekat pada kinetokor setiap kromatid.

c. Anafase II

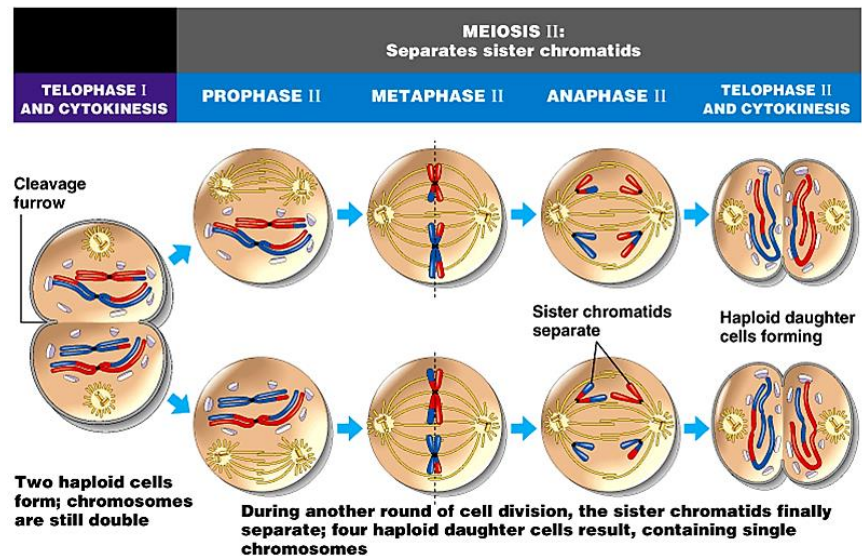
Fase ini mudah dikenali ketika serat gelendong mulai menarik kromatid ke kutub yang berlawanan. Akibatnya kromosom memisahkan kedua kromatidnya untuk berpindah ke kutub yang berbeda. Kromatid yang terpisah ini kemudian berfungsi sebagai kromosom individu.

d. Telofase II

Pada telofase II, kromatid yang telah menjadi kromosom mencapai kutub pembelahan. Hasil akhir telofase II adalah terbentuknya 4 sel haploid dengan satu salinan DNA di dalam inti sel (nukleus).

e. Sitokinesis II

Selama telofase II, terjadi pula sitokinesis II yang ditandai dengan adanya pembelahan sel yang memisahkan tiap inti sel, sehingga terbentuk 4 sel kembar yang haploid.



Gambar 9. Tahapan Meiosis 2

2.7 D-Galaktosa

D-galaktosa yang diinduksi dan masuk ke dalam tubuh dapat mempercepat proses penuaan pada semua sistem organ dan jaringan (Ji *et al.*, 2017). Pemberian D-galaktosa secara terus menerus selama 2 bulan dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa seluler (Ahangarpur *et al.*, 2014). Aldose reduktase mengubah galaktosa menjadi galaktitol, senyawa yang tidak dapat dimetabolisme oleh tubuh. Akumulasi galaktitol dalam sel menyebabkan perubahan tekanan osmotik, pembengkakan sel, disfungsi sel dan penuaan (Ye *et al.*, 2014). Induksi D-galaktosa dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel, jaringan dan organ akibat peningkatan konsentrasi *reactive*

oxygen species (ROS). Stres oksidatif merupakan keadaan dimana metabolisme sel meningkatkan reproduksi radikal bebas dan ROS yang melebihi kadar antioksidan (Mohammadi *et al.*, 2018).

Menurut Sadigh (2017), D-galaktosa sering kali digunakan dalam berbagai penelitian mengenai penuaan pada hewan percobaan. Menurut Sulistyoningrum (2017), kondisi radikal bebas dan stres oksidatif yang disebabkan oleh induksi D-galaktosa terus meningkat, sehingga penggunaan induksi D-galaktosa merupakan metode yang efektif untuk mempelajari proses penuaan. Proses ini menghasilkan banyak penelitian yang menggunakan d-galaktosa sebagai bahan uji. Mencit merupakan hewan yang dapat dijadikan sebagai hewan uji laboratorium yang mudah dalam pemanfaatannya karena mudah perawatannya serta struktur organnya menyerupai manusia. Pemberian D-galaktosa yang menyebabkan stres oksidatif mempercepat proses penuaan dan degeneratif pada sel mencit. Oleh karena itu, perlu diteliti lebih lanjut proses anti-aging ekstrak daun kersen terhadap mencit yang telah diinduksi D-Galaktosa.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini direncanakan berlangsung pada bulan September-November 2023 dan dilakukan di Laboratorium Botani sebagai tempat pembuatan ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.), Laboratorium Zoologi sebagai tempat pembedahan hewan uji dan pengamatan sel-sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.), Unit Pemeliharaan Hewan Uji Coba Jurusan Biologi FMIPA sebagai tempat pemeliharaan hewan uji, penginduksian D-Galaktosa, dan pemberian perlakuan terhadap hewan uji, serta Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung sebagai tempat pembuatan preparat histologi testis mencit (*Mus musculus* L.).

3.2 Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu mikroskop untuk mengamati preparat histologi, objek glass sebagai alas untuk meletakkan preparat yang akan diamati, cover glass untuk menutup preparat yang diletakkan pada objek glass, *cell counter* untuk menghitung jumlah sel-sel spermatogenik, gelas ukur untuk mengukur jumlah cairan yang diperlukan untuk penelitian, pipet tetes untuk mengambil cairan yang akan digunakan, alat bedah untuk membedah hewan

uji, jarum suntik sebagai alat untuk menginduksi D-galaktosa ke tubuh mencit, sonde oral untuk memberikan perlakuan ekstrak daun kersen melalui mulut pada mencit, kandang mencit sebagai tempat tinggal mencit, wadah pakan mencit sebagai tempat makan mencit, botol minum mencit sebagai tempat penyimpanan minum mencit, rak kandang untuk meletakkan mencit di dalam kandang mencit, corong buchner untuk penyaringan, timbangan untuk menimbang berat badan mencit, label untuk menandai objek pengamatan, tisu untuk membersihkan sisa zat warna pada objek pengamatan, kamera untuk dokumentasi penelitian, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus L.*) strain wistar berumur 3 bulan dengan berat sekitar 25-35 gram sebanyak 25 ekor, D-Galaktosa untuk mempercepat penuaan mencit, kloroform untuk membius mencit, ekstrak daun kersen sebagai *anti-aging*, aquabides sebagai larutan pada perlakuan kontrol, buffer formalin sebagai larutan fiksasi, xylol sebagai larutan penjernih, parafin (titik didih 56-80°C) untuk filtrasi dan *embedding* sediaan, pewarna HE untuk memberikan pewarnaan pada preparat, *canada balsam* untuk merekatkan bahan preparat ke dalam objek glass (Wahyuni, 2015), alkohol untuk sterilisasi alat, pelet sebagai pakan mencit, air bersih untuk minum mencit, dan sekam padi untuk alas kandang.

3.3 Metode

Pada penelitian ini dibuat 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdapat 5 kali pengulangan (Tabel. 1)

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Uraian	Jumlah ulangan
Kontrol Nol (K0)	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) tidak diberi perlakuan apapun	5
Kontrol Negatif (K-)	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) hanya diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB	5
Perlakuan 1 (P1)	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB dan diberi perlakuan ekstrak daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) secara oral dengan dosis 35 mg/kgBB	5
Perlakuan 2 (P2)	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB dan diberi perlakuan ekstrak daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) secara oral dengan dosis 70 mg/kgBB	5
Perlakuan 3 (P3)	Mencit (<i>Mus musculus</i> L.) diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB dan diberi perlakuan ekstrak daun kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.) secara oral dengan dosis 105 mg/kgBB	5

3.4 Pelaksanaan

3.4.1 Tahap Persiapan

a. Persiapan alat dan bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Kemudian sampel daun kersen yang digunakan sebagai ekstrak disiapkan. Daun kersen diambil di Natar, Lampung Selatan. Lalu dibawa ke

Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Unila untuk dilakukan ekstraksi, daun kersen dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir.

b. Persiapan hewan uji

Pada penelitian ini digunakan hewan percobaan sebanyak 25 ekor mencit, fertil, berumur 3 bulan dengan berat badan 25-35 gram dan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Banyaknya hewan uji dari tiap kelompok perlakuan ditentukan dengan menggunakan rumus Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t menyatakan banyaknya perlakuan dan n menyatakan banyaknya pengulangan. Selanjutnya sebelum perlakuan, kandang mencit disiapkan terlebih dahulu. Kandang diisi dengan sekam padi sebagai alas dan pada bagian atas kandang diberi ram kawat agar mencit tidak keluar dari kandang. Kemudian mencit diaklimatisasi atau diadaptasikan pada lingkungan kandang selama satu minggu. Mencit diberi makan pellet dan air minum setiap hari pada pukul 09.00 WIB dan 16.00 WIB, perlakuan dilakukan selama 35 hari.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Daun kersen (*Muntingia calabura* L.)

Daun kersen segar dan berwarna hijau tua dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan aquades, lalu dikering-anginkan semalaman, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 37 – 40°C selama 3 hari. Setelah kering, daun kersen diblender hingga halus. Ekstrak daun kersen dibuat dengan metode maserasi menggunakan aquades. Kemudian dimasukkan 100 gr serbuk kersen ke dalam wadah maserasi dan ditambah aquades 1000 ml hingga serbuk terendam. Diaduk dan didiamkan selama 24 jam hingga mengendap, lalu disaring untuk mendapatkan filtratnya. Setelah

itu, difiltrasi dengan corong buchner untuk menghasilkan filtrat dan residu sebelum dilakukan evaporasi. Kemudian hasil perendaman dimasukkan ke dalam labu evaporasi dan dipasang pada evaporator dan *water bath* diisi dengan air sampai penuh. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai 70-80°C), kemudian disambungkan dengan aliran listrik. Lalu ditunggu hingga larutan berhenti menetes pada lampu penampung. Hasil yang diperoleh sekitar sepertiga dari bahan alami kering. Hasil ekstraksi ditempatkan pada botol ekstrak dan dapat digunakan untuk perlakuan.

3.4.3 Perlakuan pada Mencit (*Mus musculus L.*)

a. Penginduksian D-Galaktosa pada Mencit (*Mus musculus L.*)

D-galaktosa diinduksikan secara intraperitoneal pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Metode ini dipilih mengingat Budni dkk (2015) yang menemukan bahwa kadar protein prekursor amiloid-beta ($\alpha\beta$) dan protein prekursor $\alpha\beta$ hippocampus mencit meningkat setelah D-galaktosa yang diinduksi secara intraperitoneal. Dosis yang digunakan adalah 150 mg/kg (Bintang *et al.*, 2019). Hal ini sejalan dengan Sulistyoningrum (2017) yang menjelaskan bahwa dosis yang tepat untuk menurunkan parameter sperma adalah 100-200 mg/kg yang dilarutkan dalam 1 ml aquades. Menginduksi D-galaktosa pada mencit cenderung meningkatkan kadar radikal bebas, sehingga tubuh mencit mengalami stres oksidatif dan penuaan dapat terjadi lebih cepat.

b. Pemberian Perlakuan pada Setiap Kelompok Perlakuan

Mencit yang akan digunakan dalam penelitian ditimbang terlebih dahulu, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5

ekor mencit. Berikut lima kelompok yang digunakan dalam penelitian ini:

1. Kelompok Kontrol (K0): Mencit tidak diberi perlakuan apapun.
2. Kelompok Kontrol Negatif (K-): Mencit hanya diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari senin dan Kamis pukul 13.00 WIB.
3. Kelompok Perlakuan 1 (P1): Mencit diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB dan diberi perlakuan ekstrak daun kersen secara oral sebanyak 35 mg/kgBB setiap hari selama 35 hari pada pukul 13.00 WIB.
4. Kelompok Perlakuan 2 (P2): Mencit diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB dan diberi perlakuan ekstrak daun kersen secara oral sebanyak 70 mg/kgBB setiap hari selama 35 hari pada pukul 13.00 WIB.
5. Kelompok Perlakuan 3 (P3): Mencit diinduksi D-Galaktosa sebanyak 150 mg/kgBB dan diberi perlakuan ekstrak daun kersen secara oral sebanyak 105 mg/kgBB setiap hari selama 35 hari pada pukul 13.00 WIB.

Dosis ekstrak daun kersen yang digunakan terdiri dari tiga jenis yaitu 35 mg/kgBB (rendah), 70 mg/kgBB (sedang), dan 105 mg/kgBB (tinggi). Penentuan dosis ini didasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mahmood *et al.*, (2014), yang menggunakan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB pada tikus (*Rattus norvegicus*). Sehingga untuk diujikan pada mencit (*Mus musculus* L.) perlu dilakukan konversi perhitungan dosis dengan pengalihan dengan faktor konversi dosis tikus ke mencit 0,14 (Paget dan Barnes, 1964) sehingga dosis yang digunakan adalah $250 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 35 \text{ mg/kgBB}$ dan $500 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 70 \text{ mg/kgBB}$. Kelompok perlakuan dicekokkan ekstrak daun kersen setiap hari selama 35 hari. Lamanya masa pengobatan didasarkan pada lamanya satu siklus

spermatogenesis pada mencit. Setelah 35 hari, mencit dibedah dan dibuat preparat histologi untuk mengamati struktur tubulus seminiferus meliputi jumlah sel spermatogenik, diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus.

3.4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sebanyak 25 ekor mencit berasal dari peternakan hewan di Fajar Baru Lampung Selatan, yang dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelima kelompok mencit tersebut adalah K0 (kontrol), K- (kontrol negatif), P1 (diberi ekstrak daun kersen 35 mg/kgBB), P2 (diberi ekstrak daun kersen 70 mg/kgBB), dan P3 (diberi ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB). Banyaknya ulangan ditentukan dengan rumus Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t menyatakan banyaknya perlakuan dan n menyatakan banyaknya pengulangan. Dengan demikian, jumlah pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini sebagai berikut:

$$\begin{aligned} (t-1)(n-1) &\geq 15 \\ (5-1)(n-1) &\geq 15 \\ 4n-3 &\geq 15 \\ 4n &\geq 19 \\ n &\geq 5 \end{aligned}$$

3.4.5 Parameter yang diamati

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

mencit pada penelitian ini menunjukkan jumlah populasi sel spermatogenik yaitu spermatogonia, spermatosit, spermatid, serta diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus. Pelacakan sel spermatogenik dilakukan dengan menghitung jumlah sel tersebut menggunakan *cell counter*. Jumlah sel-sel ini dihitung di setiap tubulus seminiferus yang dipilih. Pengamatan dilakukan terhadap potongan melintang tubulus seminiferus yang diambil secara acak. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40×10 .

3.4.6 Proses Pembedahan Mencit (*Mus musculus L.*)

Setelah mencit diberi perlakuan selama 35 hari, kemudian dilakukan pembedahan. Mencit yang dibedah pertama-tama diberi kloroform dan ditempatkan dalam penangas parafin. Spesimen dibuka di bagian perut untuk diambil testisnya. Testis yang telah dikeluarkan difiksasi dalam botol yang diberi buffer formalin 10% kemudian dibawa ke laboratorium patologi Balai Veteriner Lampung untuk dibuat preparat histologi guna pengamatan tubulus seminiferus.

3.4.7 Teknik Pembuatan Slide

a. Trimming

Trimming merupakan posisi memotong jaringan tipis-tipis setebal sekitar 4 mm, dengan arah mengikuti organ yang akan dipotong yaitu pada bagian testis. Proses ini dilakukan setelah sampel yang sebelumnya berupa organ difiksasi dengan larutan pengawet dalam buffer formalin atau formalin 10%. Setelah itu, sepotong jaringan testis dimasukkan ke dalam *embedding cassette*.

b. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan *tissue processor* yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan air pada jaringan. Proses ini dilakukan secara bertahap dengan menggunakan larutan alkohol (konsentrasi 70-100%). Setelah proses dehidrasi selesai, dilanjutkan pembersihan dengan larutan xylol dan impregnasi dengan larutan parafin.

c. Embedding

Setelah melalui proses dehidrasi, jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke base mold, kemudian diisi dengan parafin cair, lalu dilekatkan pada balok kayu ukuran 3×3cm.

d. Cutting

Proses pemotongan dilakukan di ruangan dingin. Sebelumnya, blok didinginkan terlebih dahulu. Pemotongan dimulai dengan potongan kasar, kemudian dipotong halus hingga ketebalan 4-5 mikron. Setelah dipotong, pilih lembaran potongan yang terbaik, apung dalam air. Kemudian pindahkan lembaran jaringan ke dalam water bath selama beberapa detik hingga menyebar dengan baik. Selanjutnya letakkan jaringan pada slide bersih dengan menyendok lembaran jaringan tersebut di dalam water bath. Slide kemudian ditempatkan dalam inkubator (37°C) selama 24 jam sampai jaringan terpasang sepenuhnya.

e. Staining

Ketika jaringan sudah melekat sempurna, slide diwarnai dengan teknik pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE).

f. Mounting

Mounting dilakukan dengan meneteskan canada balsam pada slide preparat, kemudian ditutup dengan *coverglass*.

g. Pembacaan Slide

Pembacaan slide dilakukan dengan memeriksa slide di bawah mikroskop cahaya dan membedakan antara spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid, serta mengukur diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus.

3.5 Pengamatan

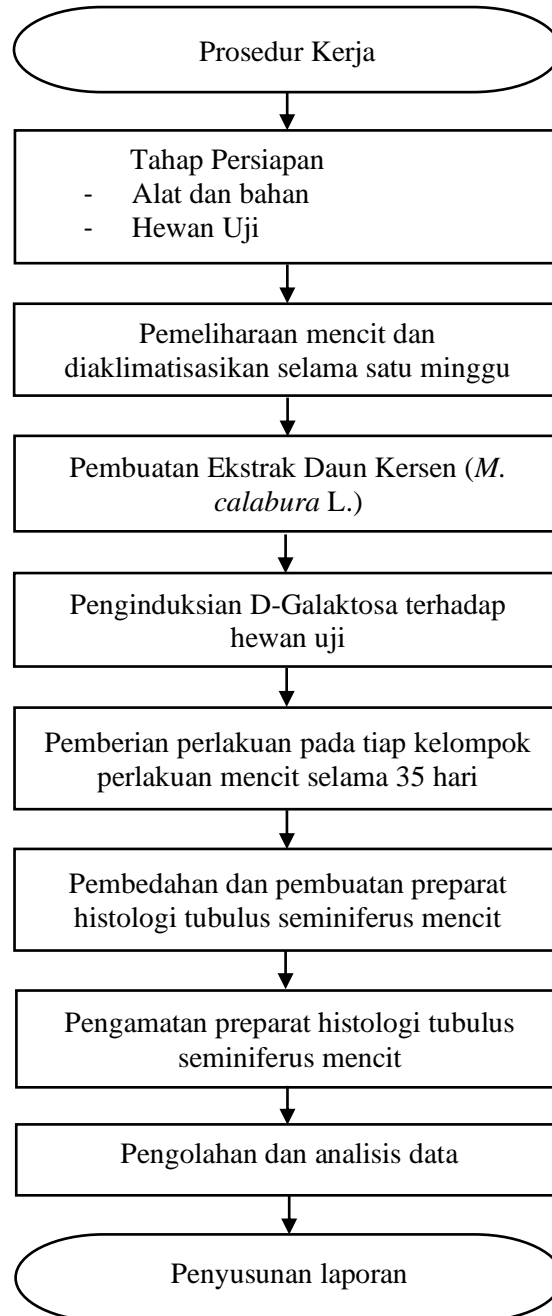
Pengamatan jumlah sel spermatogonium, sel spermatosit primer, sel spermatid, serta diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran $400\times$, dihitung dengan menggunakan *cell counter*, diamati 5 tubulus seminiferus pilihan yang berbeda untuk setiap sediaan dengan pengamatan 5 lapang pandang, kemudian hasil penghitungan sel dirata-rata. Pengamatan dilakukan pada tubulus seminiferus yang dipotong secara melintang.

3.6 Analisis

Data yang diperoleh dari penelitian kemudian dianalisis secara statistik berupa data dari hasil perhitungan jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, spermatid, serta diameter dan tebal epitel tubulus seminiferus. Pertama, normalitas data yang diperoleh diuji dengan uji Shapiro-Wilk, apabila data yang ditemukan normal maka uji homogenitas dilanjutkan dengan uji Levene. Jika terjadi ketidak normalan data, data tersebut ditransformasikan secara logaritmik. Selain itu, data yang homogen kemudian diuji menggunakan ANOVA untuk melihat signifikan atau tidaknya suatu perlakuan yang diberikan. Jika signifikan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan untuk melihat pengobatan mana yang paling efektif (terbaik) dengan $P < \alpha 0.05$.

3.7 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian ini disajikan sebagai berikut:



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat:

1. Meningkatkan jumlah sel spermatogonium mencit yang diinduksi D-Galaktosa, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan 3 (ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB) yaitu $69,24 \pm 5,17^{cd}$.
2. Meningkatkan jumlah sel spermatosit primer mencit yang diinduksi D-Galaktosa, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan 3 (ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB) yaitu $134,34 \pm 10,74^c$.
3. Meningkatkan jumlah sel spermatid mencit yang diinduksi D-Galaktosa, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan 3 (ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB) yaitu $165,24 \pm 16,41^{cd}$.
4. Meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan 3 (ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB) yaitu $82,20 \pm 6,37^{bc}$.
5. Meningkatkan tebal epitel tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa, dengan hasil terbaik ditunjukkan oleh perlakuan 3 (ekstrak daun kersen 105 mg/kgBB) yaitu $35,20 \pm 4,83^c$.

5.2 Saran

Adapun saran dari penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa uji toksisitas akut oral jika ingin mengaplikasikan hasil penelitian ini sebagai salah satu pilihan terapi infertilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., Prabakaran, A., Said, T.M. 2005. Oxidative Stress And Antioxidants In Male Infertility A Difficult Balance. *Iranian Journal Of Reproductive Medicine*, 3(1): 1-8.
- Ahangarpour., Orooan A.A., Heidari H. 2014. Effects of Exendin-4 on Male Reproductive Parameters of D-Galactose Induced Aging Mouse Model. *World J Mens Health*. 32(3): 176-183.
- Apriliani, M., Nurcahyani, N., Busman, H. 2013. Efek Pemaparan Kebisingan terhadap Jumlah Selsel Spermatogenik dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.). *Prosiding Seminar Nasional Sains & Teknologi V*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Aras, Fatmawati., T.G.O. Pemayun., I.B.O. Winaya. 2023. Pengaruh Ekstrak Kayu Secang terhadap Gambaran Spermatogenesis dan Kadar *Reactive Oxygen Species* Eritrosit Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Rokok Konvensional. *Buletin Veteriner Udayana*, 15(2): 242-255.
- Arief, Y.S. 2011. Stres Dapat Mengganggu Proses Spermatogenesis pada Mencit. *Jurnal Ners*, 6(2): 169-174.
- Aruna, S. M., Bodke, Y. D., Chandrashekar, A. 2013. Antioxidant and In Vivo Anti-Hyperglycemic Activity of *Muntingia calabura* L. Extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 5(3):427-435.
- Arundani, P., I'tishom, R., Purwanto, B. 2021. Pemberian ekstrak rumput kebar (*Biophytum petersianum Klotszch*) terhadap viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*) diabetes melitus. *Oceana Biomedicina Journal*. 4 (1): 26-37.
- Asadi. 2012. Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan terhadap Umur dan Produktivitas pada Kedelai. *Jurnal AgroBiogen*. 9(3):135-142.

- Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 13(2): 126-136).
- Azzahra, M., Merta, I.W., Kusmiyati. 2023. The Effect of Kepel Fruit Extract on The Number of Spermatogenic Cells in Mice (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi Tropis*, 23 (4): 522-529.
- Bamasri, T. H. 2021. Daun Kersen *Muntingia calabura* Sebagai Antibakteri. *J. Penelit. Perawat Prof.* 3:1–6.
- Bilinska, B., Hejmej, A., Balak, M.K. 2018. *Preparation of Testicular Samples for Histology and Immunohistochemistry In Sertoli Cells*. New York: Humana Press.
- Bintang, S.S., Siregar, Y., Ichwan, M. 2019. Studi Preliminari Tentang Pengaruh D-Galaktosa Dalam Menginduksi Stres Oksidatif Pada Mencit Jantan Galur Outbred FK USU. *Jurnal Farmasi*, 2(1): 1-5.
- Bohtay, C., Palee, S., Apaijai, N. 2018. *review effects of d - galaktosa-induced ageing on the heart and its potential interventions*, XX(X), 1–19. doi: 10.1111/jcmm.13472.
- Budni, J., Santos, T.B., Mina, F., Garcez, L., Zugno, A.I. 2015. *The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease*.
- Busman, H. 2020. *Spermatozoa dan Spermatogenesis*. Lampung: Pustaka Ali Imron. x + 66 halaman.
- Calado, J.C.P., Albertao, P.A., de Oliveira, E.A., Letra, M.H.S., Sawaya, A.C.H.F., Marcucci, M.C., 2015. Flavonoids Content and Antioxdant Activity In Fruit, Vegetables, and Other Types of Food. *Agricultural Science*, 6: 426-435.
- Cheng, C. 2008. *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*. Center for Biomedical Research The Population Council New York. USA.
- 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
- Datta, H.S., Mitra, S. K., Paramesh, R., Patwardhan, B. 2011. Theories and Management of Aging: Modern and Ayurveda Perspectives. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 528527:6.

- Dewanto, H.N., Isnaeni, W. 2017. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kualitas Sperma Tikus yang Terpapar Asap Rokok. *Life Science*. Vol. 6(2): 62-68.
- Dillasamola, D. 2020. *Infertilitas: Kumpulan Jurnal Penelitian mengenai Infertilitas*. LPPM Universitas Andalas. Padang.
- Eroschenko, V.P. 2015. *Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Fidianingsih, I., Ahsani, D.N. 2018. Age-related changes of malondialdehyde, body weight and organ weight in male mice. *Universa Medicina*, 37(2), p. 115. doi: 10.18051/univmed, 37:115-126.
- Fuadah, N. 2019. Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol 96% Bekatu (*Rice bran*) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan MDA (*Malondialdehyde*) pada Hati Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Ganong, W.F., 2001. *Review of Medical Physiology*, 20th ed. Appleton and Large, Stanford, Connecticut, pp 545–567.
- Ghanbari, R.I., Anwar, F., Alkharfy, K.M. 2012. Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive. *International Journal of Molecule Science*, 13:3291-3340.
- Golalipour, M. J., Balajadeh, B. K., Ghafari, S., Azarhosh, R., Khor, V. 2011. Protective effect of *Urtica dioica* L. (*Urticaceae*) on morphometric and morphologic alterations of seminiferous tubules in STZ diabetic rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 14(5): 472–477.
- Guerriero, G., Trocchia, S., Gawad, F.K.A., Ciarcia, G. 2014. Roles of Reactive Oxygen Species in the Spermatogenesis Regulation. *Frontiers in Endocrinology*, 5: 56.
- Gülkesen, K.H., Erdoğan, T., Sargin, C.F., Karpuzoğlu, G. 2002. Expression of Extracellular Matrix Proteins and Vimentin in Testes of Azoospermic Man: an Immunohistochemical and Morphometric Study, *Asian Journal of Andrology*, 4(1):55-60.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed. 12. Jakarta: Elsevier.

- Halliwell, B., Whiteman, M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *Br J Pharm*, 142: 231-255.
- Hardiningtyas, S.D., Purwaningsih, S., Handharyani, E. 2014. Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i1.8140>.
- Harlis, W.O., Andi, S. 2017. Gambaran histologi testis mencit (*Mus musculus*) setelah pemberian ekstrak tumbuhan brotowali (*Tinospora crispa*). *Biowallacea*, 4(1):558–565.
- Harun, F., Dasrul., Sugito., Zuhrawaty., Nazaruddin, E. Rahmi. 2017. Pengaruh Paparan Asap Ganja (*Cannabis sativa*) terhadap Patologi Anatomi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. *JIMVET*, 1(2): 226-234.
- Haryadi, M. Y. 2022. Uji Aktivitas Antidepresan Ekstrak Etanol Bunga Melati (*Jasminum sambac*) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Skripsi*. Universitas dr. Soebandi Jember.
- Hayati, A., Mangkoewidjojo, S., Hinting, A., Moeljopawiro, S., Reproduksi, L. B., Klinik, L. P., Biokimia, L. 2006. Hubungan Kadar Mda Sperma Dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemaparan. *Berk. Panel*, 11: 151–159.
- Ho, S., Liu, J. and Wu, R. 2003. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D - galaktosa, *Biogerontology*, 4:15– 16.
- 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.
- Jiang, L., Wang., Zhu., Shan., Xiao., Ai J. 2013. Mechanism of Heshouwuyin inhibiting the Cyt c/Apaf- 1/Caspase-9/Caspase-3 pathway in spermatogenic cell apoptosis. *BMC Complement Med Ther*, 20(1):1–14.
- Jirasatid, S., Phornnapa, N. 2015. Thermal Degradation Kinetics of vitamin C in Jamaican cherry (*Muntingia calabura L.*) juice. *Proceedings of the Burapha University International Conference*. 540-548.
- Johnson, H., Everitt, J. 2018. *Essential Reproduction*. 8th edition, Blackwell Science.Pub.Oxford, London, Edinburg, 53–68, 102–103.

- Karaeng, I.G.S., Busman, H., Wulan, A.J. 2021. Rerata Spermatisit Primer Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur Spragua Dawley Yang Diinduksi Plumbum Asetat. *Medula*, 11(4): 334-340.
- Khan Y, M. A., Mundasada, S. C., Ramadas, D. 2015. Antioxidant Activity: Root, Leaves and Fruits Aqueous Extracts of *Muntingia calabura*. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 2 (4), 363-368.
- Khoubnasabjafari, M., Ansarin, K., Jouyban, A. 2017. Reliability of Malondialdehyde as a Biomarker of Oxidative Stress in Psychological Disorders. *Bioimpacts*, 5(3): Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4597159/>
- Kuntorini, E. M., Fitriana, S., Astuti, D. 2013. Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung Mangkurat.
- Kierszenbaum, A.L., and Tres, L.L. 2012. *Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology* 3th Ed. Elsevier Saunders.
- Ko, E.Y., Sabanegh, E.S., Agarwal, A. 2014. Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril*, 102(6):1518-1527. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.10.020.
- Larasati, W. 2013. Uji Antifertilitas Ekstrak Etil Asetat Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Lathief, Y. 2016. Pengaruh Lama Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Daun Kersen Terhadap Total Asam, Ph Dan Aktivitas Antioksidan Kefir Air Daun Kersen. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Liao, H. C., Chen, H. B., Chiang, S. H., Chen, W. C., Chen, F. M., Ke, C. C., Wang Y. Y., Lin N. W., Wang C. C., and Lin H. Y. 2016. Optimilizing a Male Reproductive Aging Mouse Model by D-Galactose Injection. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1): 98-108.
- Lima, D. 2017. Sciencedirect the effect of d-galaktosa induced oxidative stress on in vitro redox homeostasis in rat plasma and erythrocytes. Elsevier Masson SAS, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86: 686–693.
- Mahmood, N.D., Mamat, S.S., Kamisan, F.H., Kamarolzaman, M.F.F., Nasir, N., Mohtarrudin, N. 2014. Amelioration of Paracetamol-Induced Hepatotoxicity

- in Rat by the Administration of Methanol Extract of *Muntingia calabura* L. Leaves. *Biology Medical Research International*, 1-14. doi: 10.1155.
- Mandasari, A.A, Asiyah, S.T, Lintang, K. 2019. Perubahan kualitas sperma mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok elektrik. *J. Trop. Biol*, 3(2): 122-128.
- Masruroh, F., Esty, S.N. 2016. Peran Algoritma Julia Set dalam Mengkonstruksi Pembelahan Sel Mitosis. *Jurnal Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 4(2): 173-184.
- Matsumoto, A.M., Bremner, W.J. 2016. *Chapter 19-Testicular Disorders Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)*. Elsevier.
- Mitchel, S. J., Scheibye, K.M., Longo, D.L., Cabo, R. 2015. Animal Models of Aging Research: Implications of Human Aging and AgeRelated Diseases. *Annual Review of Animal Biosciences*, 3:283-303.
- Mohammadi, E., Soghra, M., Hasan, B.B., Hossein, H. 2018. Protective effect of crocin against d-galactose-induced aging in mice. *Journal of Phytomedicine*. 8(1):14-23.
- Mohammadirad, A., Aghamohammadali, F., Badiei, S., Faraji, Z., Hajiaghaee, R., Baeeri, M. 2013. Anti-Aging Effects of Some Selected Iranian Folk Medicinal Herbs-Biochemical Evidences. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 16(11):1170–1180.
- Moreira, O. C. 2017. Mitochondrial Function and Mitophagy in the Elderly: Effects of Exercise, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2017/2012798.
- Munaya, 2018. Efek Stres Puasa terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus *Rattus norvegicus*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 18(1): 1-7.
- Murod, A.M. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Air Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap Kualitas Sperma dan Densitas Sel Spermatogenesis Tikus Sprague – Dawley Jantan secara in vivo. *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Mustika, S.E., Retno, Y. 2018. Pengaruh pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap tubulus seminiferus testis mencit diabetes melitus yang diinduksi aloksan. *Ibnu Sina Biomedika*, 2 (1): 7-16.

- Narayanaswamy, N., Duraisamy, A. 2011. Tyrosinase Inhibition and Anti Oxidant Properties of *Muntingia calabura* Extracts: In vitro Studies. *International Journal of Pharma and Biology Sciences*, (2)1: 294-303.
- Nilasari, A. 2018. *Efektivitas Pemberian Gel Daun Kersen (Muntingia calabura) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) (Dimanfaatkan Sebagai Sumber Belajar Biologi)* (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
- Ninditya, D. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Mikroskopik Hepar Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Etanol Dan Softdrink. *J Kedokteran Diponegoro*, 5(4).
- Noorhamdani, Y., Rosalia. 2014. Uji Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Sebagai Antibakteri Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara in Vitro. *Jurnal Laboratorium Fakultas Kedokteran*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nugroho, R.A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Nurcholidah, S., B. Purwantara., Supriatna, I., Winarto, A. 2013. Perkembangan Sel-Sel Spermatogenik dan Kualitas Sperma Pascapemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*), *JITV* 18(3).
- Nurkarimah, 2017. Effect of Propolis on Spermatogenic Cells Number and Diameter of Seminiferous Tubules in Male Mice (*Mus musculus*). *The Veterinary Medicine International Conference 2017*.
- Nurlely., Aslama, A.I., Cahaya, N., Srikartika, V.M. 2022. Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakan Banyu (*Croton argyratus Blume*) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa sebagai Antifertilitas. *Jurnal Pharmascience*, 9(1): 29-39.
- Parameshwaran, K., Irwin, M.H., Steliou, K., Pinkert, C.A. 2010. D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice. *Rejuvenation Research*, 13(6):729–735. doi: 10.1089/rej.2010.1020.
- Patil, R.B., Vora, S.R., Milai, M.M. 2009. Antioxidant effectf plant extracts on phospholipids levels in oxidatively stressed male reproductive organs in mice. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* (7) 1: 35-39.
- Phifer-Rixey, M., Nachman, M.W. 2015. Insights into mammalian biology from the wild house mouse *Mus musculus*. *eLife* (4): 1-13.

- PIMNAS29. 2016. Potensi Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai Terapi Kanker Kolorektal, <http://pimnas29.ipb.ac.id/index.php/2016/09/05/potensi-ekstrak-metanol-daun-kersen-muntingia-calabura-l-sebagai-terapi-kanker-kolorektal/>, diakses pada 2 September 2023, pukul 14.35 WIB.
- Pramono, V.J., Santoso, R. 2014. Pengaruh Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura*) Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Jurnal Sain Veteriner* 32(2).
- Pranadya, N. M. E., Setyawati, I., Yulihastuti, D. A. 2019. Jumlah sel-sel spermatogenik dan histologis testis mencit (*Mus musculus L.*) pasca pemberian ekstrak daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) dengan dosis dan interval waktu yang berbeda. *Jurnal Biologi Udayana*. 23(1): 34-41. DOI: 10.24843/JBIOUNUD, 23.i01.p05.
- Puspitasari, A. D., Wulandari, R. L. 2017. Antioxidant activity, determination of total phenolic and flavonoid content of *Muntingia calabura L.* extracts. *Pharmaciana*, 147-158.
- Ramadas, D., Muhamed, A.K.Y., Mundasada, S.C. 2015. Antioxidant activity: root, leaves, and fruits aqueous extracts of *Muntingia calabura*. *JIPBS*, 2 (4), 363-368.
- Reni, S., Kanedi, M., Nurcahyani, N., Sutyarso, S. 2013. Histologi Testis Mencit (*Mus musculus L.*) Muda dan Tua yang Diberi Ekstrak Lada Hitam (*Piper nigrum L.*). *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 1(2): 92–95. <https://doi.org/10.23960/jbekh.v1i2.144>.
- Robbins, S.L., V. Kumar., Cotran, R.S. 2007. *Buku Ajar Patologi I*. Diterjemahkan Oleh: Prasetya Awal, Pendit B U, Priliono Toni. Jakarta: EGC, 52-78.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its Reproduction and Development*. Oxford University Press. New York.
- Sadigh, S.E., Madji, A., McCann, K.S., Mahmoudi, J., Vafae, S.M., Malcolm, R.M. 2017. D-Galactose-Induced Brain Aging Model: A Systematic Review and Meta-Analysis on Cognitive Outcomes and Oxidative Stress Indices. *Research Article*. 12(8): 1-13.
- Sadowska-Bartosz, I., Bartosz, G. 2015. Prevention of protein glycation by natural compounds. *Molecules*, 20(2): 3309–3334.

- Setiawan, I. 2020. Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Mencegah Kerusakan Mukosa Duodenum Tikus Wistar Yang Dipapar Etanol 40%. *Herb-Medicine Journal*, 3(2): 27 <https://doi.org/10.30595/hmj.v3i2.7050>.
- Shaikh, N.H., Desai, S.R., Walvekar, M.V. 2014. Protective Effect of Glycowithanolides on Antioxidantive Enzymes in Testes and Accessory Reproductive Organs of D-galactose Induced Stress Mice. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, (3) 4: 458-464.
- Shaikh, T, Patel, B, Joshi, D, Patel, R, Jegoda, M. 2015. Repeated Dose Oral Toxicity of Inorganic Mercury in Wistar Rats: Biochemical and Morphological Alterations. *Vet World*, 6: 563-567.
- Sherwood, L., Kidanorf, H., Yance, P. 2005. *Animal Physiology Form Gees to Organism*. Thomson Books/cole. United States.
- Sherwood, L. 2012. *Fundamental of Human Physiology*. 4th Ed. Canada.
- _____. 2016. *Human Physiology: From Cells to Systems*, 9th Edition, Cengage Learning, USA, hlm. 726, diakses 30 Agustus 2023.
- Shwe, T. 2018. Role of dgalaktosa-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions, *Experimental Gerontology*. Elsevier, 101:13–36. doi: 10.1016/j.exger.2017.10.029.
- Sinaga. 2016. Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus*, 9(2): 176-189.
- Sukmaningsih., Ermawati, I., Wiratmini, N.I., Sudatri, N.W. 2011. Gangguan Spermatogenesis setelah pemberian monosodium glutamate pada mencit (*Mus musculus* L.) *Jurnal Biologi XV*, (2):49-52.
- Sulistyoningrum, E. 2017. D- Galactose-Induced Animal Model of Male Reproductive Aging. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 8(1):19–27. doi: 10.20885/JKKI.Vol8.Iss1.art4.
- Sutyarso., Busman, H., Kanedi, M., Muhartono. 2016. Rhizome Extract of White Ginger (*Zingiber officinale*) Maintains Testicular Function of Aging Mice. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(3):175-178.
- Sutyarso, S. 2017. *Penuaan dan Fungsi Seksual*. Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

- Sutyarso., Annida, S., Kanedi, M., Busman, H., Nurcahyani, N. 2018. Penurunan Laju Penuaan Produksi Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) Dengan 45 Pemberian Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*) Dalam pakan. *Jurnal Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 5(1):1-10.
- Starr, C. 2012. *Biologi Kesatuan dan Keragaman Makhluk Hidup*. Jakarta: Salemba Teknika.
- Tan. 2018. Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9:1–28. doi: 10.3389/fphar.2018.01162.
- Tigges, J., Krutmann., Fritsche., Haendeler., Schaal., Fischer. 2014. Mechanisms of Ageing and Development: Review of The hallmarks of fibroblast ageing. *Elsevier Ireland Ltd*, 138(1):26–44.
- Upadhye, M., Kuchekar., Pujari., Kadam., Gunjal. 2021. *Muntingia calabura*: A comprehensive review. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 9(2):81.
- Van Dam, R.M., Naidoo, N., Landberg, R., 2013. Dietary Flavonoids and the Development of Type 2 Diabetes and cardiovascular disease: a review of recent findings. *Wolters Kluwer Health*, 24 (1): 25-33.
- Wahyuni, S., Agungpriyono, S., Agil, M., Yusuf, T.L. 2012. Histologi dan Histomorfometri Testis dan Epididimis Muncak (*Muntiacus muntjak muntjak*) pada Periode Rongkah Keras. *Jurnal Veteriner*, 13(1): 211-219.
- Wahyuni, S. 2015. Identifikasi Preparat Gosok Tulang (Bone) Berdasarkan Teknik Pewarnaan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*, Prodi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Malang, 657-666.
- Wajdi, S.A., Kasmiyati, S., Hastuti, S.P. 2017. Uji aktivitas antibakteri campuran ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) dan daun kersen (*Muntingia calabura*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2(1):10-15.
- Wang, D.H., Hu, J.R., Wang, L.Y., Hu, Y.J., Tan, F.Q., Zhou, H. 2012. The apoptotic function analysis of p53, Apaf1, Caspase3 and Caspase7 during the spermatogenesis of the Chinese fire-bellied Newt *Cynops orientalis*. *PLoS One*, 7(6).
- Wang, Z., Yang, T., Liu, S., Chen, Y. 2020. Effects of bone marrow mesenchymal stem cells on ovarian and testicular function in aging Sprague-Dawley rats induced by D-galactose, *Cell Cycle*. *Bellwether Publishing, Ltd*, 19(18):2340–

2350. doi: 10.1080/15384101.2020.1806434/SUPPL_FILE/KCCY_A_1806434_SM2684.ZIP.

- Wardiyah, A., Aryanti, L., Marliyana., Oktaliana., Khoirudin, P., Dea, M.A. 2022. Penyuluhan Kesehatan tentang Pentingnya Menjaga Kesehatan Alat Reproduksi. *Journal Of Public Health Concerns*, 2(1): 41-53.
- Widawati T., Sudjarwo, S.A., Hermadi, H.A. 2017. Protective effect of propolis extract against lead acetate toxicity in mice (*Mus musculus*) testes. *The Veterinary Medicine International Conference (VMIC)*: 557-565.
- Widyaningrum, A. 2015. Pengaruh Perasan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) Terhadap Kadar Kolesterol Mencit (*Mus musculus* L.) dan Pemanfaatannya Sebagai Karya Ilmiah Populer. *Skripsi*. Universitas Jember.
- Winarno, M. W. B., Nuratmi, Y. Astuti. 2002. Pengaruh Infus Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Kelenjar Prostat Tikus Putih. *Media Litbang Kesehatan*, 12(2):41-45.
- Ye, Y., Jia, R. R., Tang, L., Chen, F. 2014. In Vivo Antioxidant and Anti-Skin-Aging Activities of Ethyl Acetate Extraction From *Idesia Polycarpa* Defatted Fruit Residue in Aging Mice Induced by D-Galactose. *EvidenceBased Complementary and Alternative Medicine*, 185716: 1–12.
- Yuliyantika., Iswari, R.S., Marianti, A. 2019. Daya Proteksi Ekstrak Tauge Kacang Hijau terhadap Kualitas Spermatozoa dan Kadar Superoksida Dismutase Mencit yang Terpapar *Transfluthrin*. *Life Science*, 8(2): 138-149.
- Yuslianti, E.R. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish: Yogyakarta.
- Zahidov, S.T., Hohlov, A.N., Malolina, E.A., Yu-Kulibin, A., Marshak, T.L. 2010. Ageing of the Spermatogenesis System. *Biol Bull*, 37: 10–17.
- Zakaria, Z.A., Mohd, H.M.S., Manraj, S.C., Arifah, A.K., Teh, L.K., Mohd, Z.S. 2014. Antinociceptive activity of methanolic extract of *Muntingia calabura* leaves: further elucidation of the possible mechanisms. *BioMedCenter Complementary and Alternative Medicine*, (14) 63. doi: 10.1186.