

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.)
TERHADAP RASIO BERAT TESTIS, JUMLAH SEL LEYDIG DAN
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK PADA MENCIT (*Mus
musculus* L.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA**

(Skripsi)

Oleh

RISKA AMELIA DEWI

NPM 2057061007



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

ABSTRAK

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) TERHADAP RASIO BERAT TESTIS, JUMLAH SEL LEYDIG DAN KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK PADA MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA

Oleh

Riska Amelia Dewi

Penuaan merupakan proses fisiologis dalam tubuh yang akan terjadi seiring dengan peningkatan usia. Penuaan berpengaruh juga pada bagian organ tubuh salah satunya pada organ reproduksi yang mengakibatkan perubahan di jaringan testis dan produksi sperma yang menurun. Diketahui tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) mengandung zat-zat bioaktif yang dapat meminimalisir efek dari kerusakan sel oleh radikal bebas. Zat-zat berupa karbohidrat, protein, flavonoid, dan asam askorbat lebih dominan terkandung dalam ekstrak daun *M. calabura* dibandingkan akar dan buah. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kersen (*M. calabura* L.) terhadap rasio berat testis, jumlah sel Leydig, dan ketebalan sel-sel spermatogenik yang diinduksi dengan D-Galaktosa. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober – Desember 2023, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 konsentrasi dan setiap konsentrasinya terdapat 5 kali pengulangan yaitu kontrol nol (K0) mencit hanya diberi makan dan minum, kontrol negatif (K-) mencit diinduksi dengan D-Galaktosa, (P1, P2, dan P3) mencit diinduksi dengan D-Galaktosa dan dengan konsentrasi ekstrak daun kersen 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB, dan 105 mg/kgBB. Data di uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk Test* dan dilanjutkan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Setelah homogen maka dilanjutkan dengan uji ANOVA jika hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terjadi penurunan setelah diinduksi dengan D-Galaktosa pada rasio berat testis mencit sebesar 0,11, jumlah sel Leydig sebesar 150,60 dan ketebalan sel-sel spermatogenik sebesar 19,32 kemudian terjadi peningkatan pada rasio berat testis sebesar 0,15, jumlah sel Leydig sebesar 218,20 dan ketebalan sel-sel spermatogenik sebesar 35,20 setelah diberikan ekstrak daun kersen, dan didapat hasil yang paling efektif dari semua perlakuan yaitu pada konsentrasi ekstrak 105mg/kgBB (P3).

Kata Kunci: Daun kersen, Radikal Bebas, dan Tubulus seminiferus.

**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.)
TERHADAP RASIO BERAT TESTIS, JUMLAH SEL LEYDIG DAN
KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK PADA MENCIT (*Mus
musculus* L.) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA**

Oleh

RISKA AMELIA DEWI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Universitas Lampung**



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

Judul Skripsi

: **Efektivitas Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Rasio Berat Testis, Jumlah Sel Leydig dan Ketebalan Sel-Sel Spermatogenik pada Mencit (*Mus musculus L.*) yang Diinduksi D-Galaktosa**

Nama Mahasiswa

: **Riska Amelia Dewi**

No. Pokok Mahasiswa

: 2057061007

Jurusan

: Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. **Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

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

Gina Danla Pratami, S.Si., M.Si.
NIP. 198804222015042001

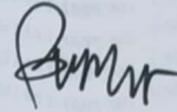
2. **Ketua Jurusan Biologi FMIPA**

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

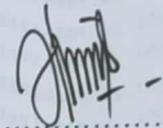
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

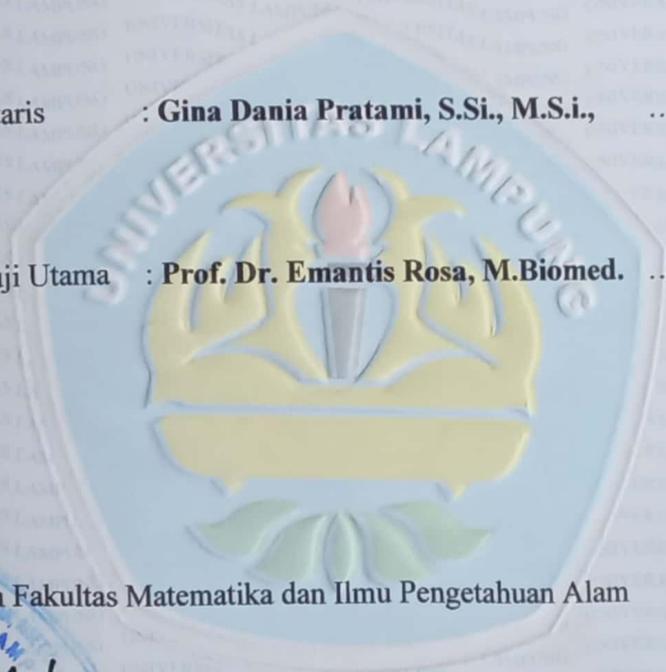
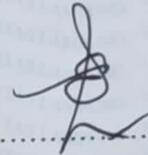
Ketua : **Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.**



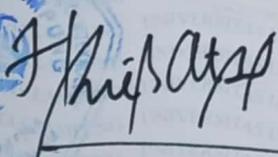
Sekretaris : **Gina Dania Pratami, S.Si., M.S.i.,**



Penguji Utama : **Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 Maret 2024

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Riska Amelia Dewi

NPM : 2057061007

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

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

Bandar Lampung, April 2024
Yang Menyatakan



Riska Amelia Dewi
NPM. 2057061007

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Hajimena pada tanggal 28 Februari 2002 dari pasangan Bapak Syahri Nurdin dan Ibu Mardiana. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis bertempat tinggal di Hajimena, Kec. Natar, Kab. Lampung Selatan, Lampung. Penulis bersekolah di TK Harapan Jaya pada tahun 2008. Kemudian, penulis melanjutkan ke sekolah dasar di SDN 1 Rajabasa Raya. Di tahun 2014, penulis melanjutkan ke sekolah menengah pertama di SMPN 3 Natar. Setelah lulus dari sekolah menengah pertama, penulis melanjutkan sekolah di SMK Farmasi Kesuma Bangsa pada tahun 2017 hingga lulus 2020.

Lalu, penulis melanjutkan ke Perguruan Tinggi sebagai mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila penulis pernah menjadi asisten praktikum Teknik Kultur Invitro, Biosistemika, Parasitologi Hewan. Penulis juga aktif dalam kegiatan Organisasi diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota biro Dana dan Usaha pada tahun 2021, Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA sebagai Generasi Muda Pemberdayaan Wanita (PW) pada tahun 2020, staf ahli Pemberdayaan Wanita (PW) pada tahun 2021, Asisten Keuangan BEM FMIPA pada tahun 2022, Bendahara Dinas Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM) pada tahun 2023, serta sebagai Koordinator pada kepanitiaan Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSA) ke 26 tahun 2022, Sekretaris Koordinator pada kepanitiaan Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Tingkat Menengah (LKMM-TM) tahun 2022 dan Sekretaris Koordinator pada kepanitiaan Karya Wisata Ilmiah (KWI) ke 33 pada tahun 2022.

Pada tahun 2020, penulis pernah mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah (KWI) Di Desa Hajimena, Kec. Natar, Kab. Lampung Selatan, Lampung. Pada tahun 2021 penulis mengikuti program MBKM yaitu Program Kurator Hayati (KH) di Fakultas Biologi UGM dan Program Mikro Mahasiswa Indonesia (KMMI) pada course **“How to Start Your Food & Beverage Business”** di Universitas Podomoro. Pada tahun 2023, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Kekarantinaan Kesehatan Kelas I Panjang pada tanggal 4 Januari 2023 sampai 12 Februari 2023 dengan judul **“Uji Resistensi Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* Menggunakan Air Perasan Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*)**

Sebagai Upaya Pencegahan Demam Berdarah Dengue Di Sekitar Wilayah Kerja Pelabuhan Panjang”. Pada tahun 2023 juga, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sinar Harapan, Kec. Kedondong Kab. Pesawaran selama 40 hari pada 26 Juni 2023 sampai 4 Agustus 2023. Penulis menyusun skripsi dengan judul “Efektivitas Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Rasio Berat Testis, Jumlah Sel Leydig dan Ketebalan Sel-Sel Spermatogenik pada Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi D-Galaktosa”.

MOTTO

“Sembunyikan prosesmu dan tunjukkan hasilmu”

“Barang siapa yang mengerjakan kebaikan seberat zarrah, dia akan melihat
(balasan)-nya”

(Al-Zalzalah ayat 7)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. ia mendapat pahala (dari kebaikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang dikerjakannya.”

(Al-Baqarah ayat 286)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmannirohim. Allahuma sholi ala sayyidina Muhammad, wa'ala ali sayyidina Muhammad.

Dengan rasa syukur tak terhingga atas berkas dan rahmat Allah Yang Maha Kuasa, kupersembahkan skripsi ini yang ku kerjakan dengan sepenuh hati kepada:

Kedua orang tua,

Bapak Syahri Nurdin dan Ibu Mardiana

yang cinta dan kasih sayanginya tak terbalas serta tak kenal lelah yang telah memberikan nasihat dan dukungan sehingga skripsi ini selesai dengan tepat waktu.

Diri Sendiri,

Riska Amelia Dewi

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

Dosen-dosen pembimbing dan pembahas,

Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed., Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si., dan Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.,

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

SANWACANA

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT atas ridha, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan proses penulisan skripsi ini dengan baik. Sholawat serta salam senantiasa kita haturkan kepada junjungan dari suri tauladan seluruh umat manusia, Nabi Muhammad SAW. Semoga kita menjadi umat yang mendapat pertolongan di hari akhir kelak.

Skripsi dengan **judul “EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L.*) TERHADAP RASIO BERAT TESTIS, JUMLAH SEL LEYDIG DAN KETEBALAN SEL-SEL SPERMATOGENIK PADA MENCIT (*Mus musculus L.*) YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA”** dibuat sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana sains (S.Si) di jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini. Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Syahri Nurdin dan Ibu Mardiana yang telah bekerja keras untuk mengasuh, membesarkan dan memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus kepada penulis. Memberikan dukungan dalam bentuk ucapan dan doa.
2. Kakak dan adik penulis, Ahmad Zainal Abidin, S.H., dan Chik Matu Zahra yang telah memberikan dukungan, nasihat, doa serta motivasi kepada penulis.
3. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed., selaku pembimbing I penulis yang telah sabar dan ikhlas dalam memberikan ilmu, bimbingan, motivasi,

kritik/saran dan arahan selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi ini.

4. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si., selaku pembimbing II penulis dan Kaprodi Biologi Terapan yang telah sabar dan ikhlas dalam memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik/saran dan arahan selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed., selaku pembahas penulis yang telah sabar dan senantiasa dalam memberikan masukan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini
6. Ibu Prof. Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku dosen Pembimbing Akademik yang selalu mengarahkan dalam menentukan keputusan-keputusan terbaik selama masa perkuliahan.
7. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Bapak Ibu Dosen serta Staff yang tidak dapat disebutkan satu persatu, penulis mengucapkan terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang sudah diberikan kepada penulis selama melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
11. Teman-teman tim Penelitian Khofifat Suryani Harahap dan Lucy Adi Tama yang selalu saling membantu dan senantiasa memberikan semangat kepada penulis selama melaksanakan penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
12. Teman-teman Berisik, Khofifat Suryani Harahap, Melga Fadillah Putri, Riska Nava Mutiara dan Khusnul Nur Afifah yang telah menghibur, memberikan dukungan serta menemani penulis sejak awal perkuliahan.
13. Teman-teman Presidium BEM FMIPA 2022 dan PSDM BEM FMIPA 2023 yang telah memberikan motivasi dan semangat kepada penulis.
14. Teman-teman KKN Desa Sinar Harapan, Mutiara Aprillia Ayu, Ida Rismawati, Giok Fing Ligan, Debora Jeniver, Yunias Ari dan Ade Putra

yang telah memberikan pengalaman baru selama 40 hari, kisah baru dan menjadi bagian dalam pengabdian diri ini kepada masyarakat.

15. Seluruh teman-teman angkatan 2020 (S1 Biologi dan S1 Biologi Terapan) yang telah berjuang bersama hingga akhir.

Bandar Lampung, Maret 2024

Penulis,

Riska Amelia Dewi

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
MOTTO	i
PERSEMBAHAN.....	ii
SANWACANA	iii
DAFTAR ISI.....	vi
Halaman	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	5
1.3 Kerangka Pemikiran	5
1.4 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Proses Penuaan	7
2.2 Testis	8
2.3 Penuaan Pada Testis	8
2.4 Induksi D-Galaktosa Terhadap Penuaan Hewan Uji.....	9
2.5 Tanaman Kersen.....	11
2.5.1 Klasifikasi Tanaman Kersen	11
2.5.2 Deskripsi Tanaman Kersen	11
2.5.3 Kandungan Senyawa Bioaktif Daun Kersen.....	13
2.6 Mencit (<i>Mus Musculus L.</i>)	14

2.6.1	Klasifikasi Mencit (<i>Mus Musculus L.</i>).....	14
2.6.2	Deskripsi Mencit (<i>Mus Musculus L.</i>).....	14
2.6.3	Sistem Reproduksi Mencit (<i>Mus musculus L.</i>)	15
III.	METODE PENELITIAN.....	18
3.1	Tempat dan Waktu	18
3.2	Bahan dan Alat	18
3.3	Prosedur Kerja	19
3.3.1	Tahap Persiapan	19
3.4	Rancangan Penelitian	22
3.5	Proses Pembedahan Mencit.....	22
3.6	Prosedur.....	22
3.6.1	Teknik Pembuatan Slide	23
3.6.2	Pengamatan	24
3.7	Analisis Data	25
3.8.	Diagram Alir Metode Penelitian	25
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1	Hasil.....	27
4.1.1	Rasio Berat Testis Mencit (<i>M. musculus</i>)	27
4.1.2	Jumlah Sel Leydig.....	28
4.1.3	Ketebalan Sel-sel Spermatogenik	30
4.2	Pembahasan	32
4.2.1	Berat Testis.....	32
4.2.2	Jumlah Sel Leydig.....	34
V.	KESIMPULAN	40
5.1	Kesimpulan.....	40
5.2	Saran.....	40
	DAFTAR PUSTAKA	41
	LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Rasio Berat Testis Mencit (<i>M. musculus</i>)	27
2. Rata-rata Jumlah Sel Leydig	28
3. Rata-rata Ketebalan Sel-sel Spermatogenik	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambar histologi tubulus semeniferus normal (1A dan 2A), gambar histologi tubulus seminiferus yang diinduksi D-galaktosa (1B dan 2B)	9
2. Morfologi dari <i>Muntingia calabura</i> L.	12
3. Mencit (<i>M. musculus</i>)	15
4. Gambar a. Posisi Testis Pada Mencit dan Gambar b. Struktur Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	17
5. Diagram alir metode penelitian	26
6. Panah pada potongan melintang tubulus seminiferus mencit (<i>M. musculus</i>) dari semua perlakuan yang menunjukkan Sel Leydig Tubulus Seminiferus (Perbesaran mikroskop 100x).....	29
7. Potongan melintang tubulus seminiferus testis mencit (<i>M. musculus</i>)) dari semua perlakuan yang menunjukkan ketebalan sel-sel spermatogenik (Perbesaran mikroskop 400 x)....	31

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini masyarakat mulai menyadari bahwa proses penuaan seharusnya dianggap sebagai penyakit dan bukanlah sesuatu yang dapat dihindari. Penuaan merupakan suatu penyakit degeneratif dan berjalan secara progresif dengan terjadinya sel yang mulai rusak, jaringan, dan organ tubuh yang nantinya dapat berakibat fatal. Sebagai pencegahan, dunia kedokteran mulai menerima bahwa konsep penuaan atau *aging* dapat dicegah dan diobati (Sutyarso, 2017). Oleh karena itu, berbagai upaya pencegahan dan pengobatan dapat dilakukan untuk mengatasi gangguan defisiensi nutrisi, suplemen, hormon, imunitas, anti-oksidan, gaya hidup, seksualitas, obesitas sampai terapi *stem-cells* dan terapi gen telah diteliti untuk menghentikan, menghambat bahkan *Aging Reversal* atau membalikkan proses menua (Mitchell, *et al.*, 2015).

Penuaan reproduksi pada pria ditandai dengan menurunnya kesuburan. Secara umum, penuaan adalah proses perubahan secara reguler yang meliputi perubahan genetik, biokimia, morfologi, dan fisiologis. Perubahan yang nampak menyimpang, melanggar dan menyederhanakan struktur dan fungsi sistem kehidupan, sehingga terjadi peningkatan gangguan dan kematian. Singkatnya, penuaan mengacu pada perubahan kompleks yang terjadi seiring dengan bertambahnya usia suatu organisme, yang menyebabkan peningkatan probabilitas kematiannya, demikian juga dengan spermatogenesis selama penuaan (Zahidov *et al.*, 2010).

Pemberian D-galaktosa dalam jumlah banyak dapat menyebabkan kerusakan oksidatif di berbagai jaringan dan organ, paparan sistemik dari D-Galaktosa untuk mempercepat proses penuaan secara biokimia dan morfologi termasuk sistem saraf pusat (Cardoso *et al.*, 2015). Saat pemberian dosis D-Galaktosa melebihi dosis normal dapat meningkatkan stress oksidatif yang menginduksi proses penuaan (Shwe, 2018).

Dari berbagai teori yang menyebutkan proses terjadinya penuaan, diantaranya adalah mekanisme dari stress oksidatif yang menjadi salah satu teori menjelaskan mekanisme penuaan pada makhluk hidup (Mohammadirad, *et al.*, 2013). Suatu molekul yang tidak berpasangan dan memiliki sifat merusak sel-sel tubuh disebut sebagai radikal bebas. ROS (*Reactive Oxygen Species*) adalah suatu senyawa yang sangat reaktif, ROS mampu merusak jaringan dengan cara memodifikasi lipid dan protein dalam tubuh makhluk hidup. Radikal bebas merupakan salah satu dari ROS yang berlebihan dan masuk kedalam tubuh manusia akan merusak unsur makro DNA, karbohidrat, protein dan asam lemak. Akibatnya fungsi sel akan terganggu dan terjadi kerusakan pada struktur sel tersebut (Yuslianti, 2018).

Dari keadaan ROS yang meningkat dapat mempercepat terjadinya proses penuaan, termasuk pada sistem reproduksi. Pada pria, proses penuaan tersebut ditandai dengan berkurangnya ukuran testis serta penurunan spermatogenesis atau pembentukan sperma. Pada keadaan normal testis dapat mempertahankan diri dari ROS dengan antioksidan yang dihasilkannya, namun seiring dengan peningkatan usia pembentukan antioksidan semakin berkurang (Ahangarpour, 2014).

Infertilitas sekunder pada pria dapat terjadi oleh beberapa faktor. Faktor usia mempengaruhi kesuburan dari pria. Pria dapat menghasilkan sperma sepanjang hidupnya, namun seiring berjalannya umur, konsentrasi, motilitas, dan morfologi sperma akan menurun (Harris, *et al.*, 2011). Faktor lainnya

yang mempengaruhi adalah faktor gaya hidup. Mengenakan celana ketat dapat mengurangi kesuburan pria karena pemakaian celana ketat dapat mengurangi motilitas sperma. Kebiasaan merokok juga mengurangi kualitas sperma antara lain menurunkan motilitas dan meningkatkan rasio antara sperma abnormal dan normal (Meri, *et al.*, 2013).

Selain merokok, kebiasaan untuk mengonsumsi alkohol juga berpengaruh buruk pada fertilitas pria. Konsumsi alkohol pada pria. Pada pria, konsumsi alkohol jangka panjang dapat menyebabkan menurunnya ukuran testis, volume semen, serta menurunkan konsentrasi, viabilitas, dan morfologi normal sperma. Pemakaian narkoba seperti ganja, kokain, ekstasi, sabu-sabu dan heroin juga berdampak buruk pada umum pada kesuburan pria karena dapat menekan sekresi gonadotropin yang menyebabkan menurunnya sekresi testosteron. Spermatogenesis membutuhkan hormon testosteron, sehingga turunnya hormon testosteron menyebabkan turunnya produksi sperma (Anifandis *et al.*, 2014).

Dari banyaknya faktor penyebab infertilitas pria, stres oksidatif memiliki pengaruh signifikan dalam menurunkan kualitas sperma. Stres oksidatif merupakan keadaan terjadinya ketidakseimbangan jumlah oksidan (radikal bebas) dengan jumlah antioksidan dalam tubuh sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan beruntun yang dimulai dari sel hingga tingkatan yang lebih tinggi. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh dapat disebabkan oleh meningkatnya jumlah radikal bebas, menurunnya produksi antioksidan, atau keduanya. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel dan merupakan dasar patogenesis bagi proses penyakit kronik seperti kardiovaskuler, autoimun, pulmoner, gangguan metabolik dan penuaan (Meri, *et al.*, 2013).

WHO (2005) dan Paju *et al.*, (2013) menegaskan bahwa tanaman yang berkhasiat dan dimanfaatkan sebagai obat dikenal dengan nama obat herbal atau herbal *medicine*, yang didefinisikan sebagai bahan baku atau sediaan

yang berasal dari tanaman yang memiliki efek terapi atau efek lain yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Lebih lanjut dikatakannya bahwa komposisi obat herbal dapat berupa bahan mentah atau bahan yang telah mengalami proses lebih lanjut yang berasal dari satu jenis tanaman atau lebih.

Kerusakan sel pada testis dapat dikurangi dengan cara pemberian sejumlah dosis antioksidan yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas (ROS). Berbagai penelitian telah membahas tentang aktivitas antioksidan, salah satunya adalah vitamin C atau asam askorbat. Asam askorbat sendiri merupakan antioksidan golongan nonenzimatik yang efektif menyingkirkan radikal bebas (Barros *et al.*, 2011). Aktivitas antioksidan juga terdapat pada beberapa tanaman salah satunya adalah *Muntingia calabura* L. Tanaman ini dikenal dengan nama kersen atau talok di Indonesia. Tanaman kersen memiliki fungsi adaptasi yang baik sehingga dapat tumbuh dimana saja tanpa mengenal musim. Hal inilah yang menyebabkan tanaman ini mudah didapatkan bahkan ditempat yang tandus sekalipun (Pramono dan Santoso, 2014). Tanaman kersen merupakan salah satu jenis tanaman yang mengandung senyawa kimia. Diketahui, daun kersen mengandung terpenoid, karbohidrat, protein, polifenol, flavonoid, asam askorbat, alfa tokoferol dan klorofil. Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun kersen diharapkan mampu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan akibat radikal bebas dengan flavonoid sebagai senyawa aktif yang dominan.

Dengan adanya kandungan antioksidan pada daun kersen, maka diharapkan dengan pemberian ekstrak daun kersen dapat mengurangi penuaan pada mencit yang diinduksi dengan menggunakan D-Galaktosa terhadap testis mencit.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui efektivitas ekstrak daun kersen (*M. calabura* L.) terhadap rasio berat testis mencit (*M. musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.
2. Mengetahui efektivitas ekstrak daun kersen (*M. calabura* L.) terhadap jumlah sel Leydig dan ketebalan lapisan sel-sel spermatogenik mencit (*M. musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.

1.3 Kerangka Pemikiran

Penuaan merupakan perubahan pada anatomi, fisiologi, dan psikologi yang terjadi akibat bertambahnya umur makhluk hidup. Proses penuaan tidak hanya disebabkan oleh usia namun dapat juga dipercepat oleh beberapa faktor lingkungan yang berhubungan dengan stres oksidatif. D-Galaktosa telah digunakan dalam penelitian *in vivo* untuk menginduksi pembentukan stres oksidatif meniru proses penuaan alami yang terjadi pada mencit. Radikal bebas atau ROS merupakan produk akhir dari setiap proses metabolisme sel akibat proses oksidasi dan pembakaran sel. Produksi ROS dapat berasal dari internal dan eksternal, proses ini akan menyebabkan ROS akan bereaksi dengan komponen seluler tubuh dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif sehingga memicu terjadinya peradangan, penuaan dan berbagai penyakit degeneratif. Stres oksidatif dapat dicegah dengan adanya senyawa antioksidan yang akan menyumbangkan atom hidrogennya kepada ROS dan dapat mencegah terjadinya efek lanjutan dari stres oksidatif terhadap sel. Adanya proses penuaan dapat menurunkan ukuran testis, jumlah sel Germinal, sel Sertoli, maupun sel Leydig, serta sel Pritubular.

Ekstrak tanaman *M. calabura* mengandung zat-zat bioaktif yang dapat meminimalisir efek dari kerusakan sel oleh radikal bebas. Zat-zat berupa karbohidrat, protein, flavonoid, dan asam askorbat lebih dominan terkandung dalam ekstrak daun *M. calabura* dibandingkan akar dan buah. Flavonoid

adalah suatu antioksidan alam yang mempunyai aktivitas biologis yang dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil. Senyawa fenol dan flavonoid berperan penting dalam pencegahan pembentukan radikal bebas. Senyawa fenol dalam daun *M. calabura* memiliki komponen anti radikal bebas sehingga daun kersen *M. calabura* ini dapat mencegah penuaan.

Dari uraian di atas, maka dalam penelitian ini akan dilakukan pengamatan dan peninjauan terkait pengaruh dari pemberian ekstrak daun kersen (*M. calabura*) terhadap rasio berat testis, jumlah sel Leydig dan ketebalan sel-sel spermatogenik pada mencit yang sebelumnya telah diinduksi dengan menggunakan D-Galaktosa sehingga menyebabkan penuaan.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan tujuan yang telah disebutkan, terdapat beberapa hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Efektivitas ekstrak daun kersen (*M. calabura* L.) dapat menurunkan rasio berat testis mencit (*M. musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.
2. Efektivitas ekstrak daun kersen (*M. calabura* L.) dapat meningkatkan jumlah sel Leydig dan ketebalan lapisan sel-sel spermatogenetik mencit (*M. musculus* L.) yang diinduksi D-Galaktosa.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Proses Penuaan

Penuaan merupakan proses fisiologis dalam tubuh yang akan terjadi seiring dengan peningkatan usia. Penurunan fungsi organ merupakan salah satu bentuk nyata dari proses penuaan. Proses penuaan pada berbagai organ belum tentu sama, seperti halnya proses penuaan yang berbeda pada setiap individu (Navaratnarajah dan Jackson, 2013). Bertambahnya usia akan menyebabkan terjadi penurunan fungsi organ tubuh dan perubahan fisik baik tingkat seluler, organ maupun sistem karena proses penuaan. Menjadi tua adalah proses yang secara alami dialami oleh setiap makhluk hidup. Proses penuaan pada setiap orang berbeda-beda, pada umumnya terjadi setelah pertumbuhan dan perkembangan sudah mencapai puncak. Proses penuaan meliputi bermacam-macam faktor intrinsik maupun ekstrinsik. Faktor intrinsik ialah faktor alamiah yang berasal dari dalam tubuh sendiri seperti genetik, maupun hormonal. Sedangkan faktor ekstrinsik berasal dari luar tubuh. Faktor ini mencakup faktor-faktor lingkungan seperti paparan sinar matahari atau ultraviolet, kelembaban, suhu, serta berbagai faktor lainnya. Biasanya dimulai di usia 25-30an tahun dan gejalanya terlihat jelas pada usia 50an tahun keatas. Proses menua terjadi baik secara fisik maupun psikis. Secara fisik proses menua terjadi pada semua sel, jaringan maupun organ yang ada diseluruh tubuh manusia (Swastika, 2013).

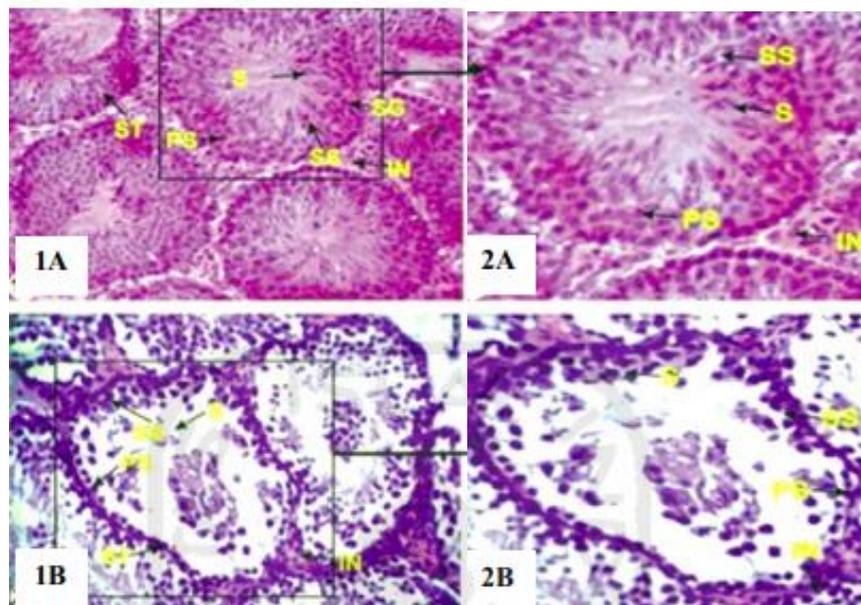
2.2 Testis

Testis atau buah zakar merupakan organ kelamin jantan yang berfungsi sebagai tempat sintesis hormon androgen (terutama testosteron) dan tempat berlangsungnya proses spermatogenesis. Kedua fungsi testis ini mempunyai lokasi tempat berlangsungnya proses spermatogenesis, biosintesis androgen berlangsung dalam sel Leydig di jaringan intertubuler, sedangkan proses spermatogenesis berlangsung dalam epitel tubulus seminiferus (Guyton, 2011).

Mencit jantan dewasa mempunyai testis yang berbentuk bulat lonjong sebesar kacang tanah dengan ukuran rata-rata 0,9 x 0,5 x 0,5 cm. di dalam testis terdapat tubulus seminiferus berupa suatu saluran yang berlilit-lilit, tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat yang mengandung serabut saraf, pembuluh darah, serta sel interstisial Leydig yang menghasilkan hormon androgen. Ketika pubertas, kelenjar adrenal melepaskan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating Hormone* (FSH). LH akan mengaktifkan sel interstisial Leydig dan menghasilkan sperma. Sedangkan FSH akan mengaktifkan sel Sertoli untuk menghasilkan *adenylate cyclase* melalui perantara cAMP dan akan terbentuk Androgen Binding-Protein (ABP). Testosteron selanjutnya akan berikatan dengan ABP, ikatan inilah yang akan dikeluarkan ke dalam lumen tubulus seminiferus dan akan meningkatkan spermatogenesis (Gartner dan Hiatt, 2012).

2.3 Penuaan Pada Testis

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Jiang *at al.*, (2013) pada manusia menunjukkan penurunan kuantitas dan kualitas sperma selama spermatogenesis sangat erat hubungannya dengan gambaran histologis testis. Adanya penuaan dapat menyebabkan kemunduran ukuran testis, jumlah sel germinal, sel Sertoli dan sel Leydig di sekitar tabung, dapat dilihat perbedaan gambaran histologi tubulus seminiferus normal dengan yang telah diinduksi dengan D-Galaktosa Gambar 1.



Gambar 1. Gambar histologi tubulus semeniferus normal (1A dan 2A), gambar histologi tubulus seminiferus yang diinduksi D-galaktosa (1B dan 2B) (Shaikh *et al.*, 2015)

Berkurangnya ukuran testis merupakan akibat dari proses penuaan. Secara histologis, tubulus seminiferus normal memiliki bentuk yang bulat dengan tepi yang teratur, sedangkan pada tubulus seminiferus cedera didapatkan gambaran yang tepi irregular serta jumlah yang berkurang (Shaikh *et al.*, 2015).

2.4 Induksi D-Galaktosa Terhadap Penuaan Hewan Uji

Mencit yang telah mendapat perlakuan dengan berbagai cara, salah satunya dengan induksi zat kimia seperti D-Galaktosa (Chen *et al.*, 2010). D-Galaktosa memiliki kemampuan untuk membentuk radikal bebas serta meningkatkan produksi *Advance Glycation end Products* (AGEs) yang dapat mempercepat proses penuaan fisiologis (Shaikh, 2014). Pemberian D-galaktosa dapat menginduksi penuaan menyeluruh pada berbagai sistem organ. Dilaporkan bahwa pemberian D-Galaktosa selama 6 minggu berturut-turut dapat

menyebabkan peningkatan galaktosa dalam tubuh (Ahangarpour, 2014). Enzim aldosa reduktase berperan dalam mengubah galaktosa menjadi galaktikol, suatu senyawa yang tidak dapat dimetabolisme oleh tubuh. Galaktikol yang terbentuk tidak dapat dimetabolisme di dalam tubuh, sehingga apabila terakumulasi dalam sel dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik. Hal ini dapat menyebabkan pembengkakan sel, disfungsi sel, dan pada akhirnya akan menyebabkan penuaan (Ye, 2014). Induksi penuaan dengan D-Galaktosa lebih efektif jika dibandingkan dengan galaktosa karena induksi galaktosa pada diet akan menyebabkan penuaan yang melibatkan apoptosis melalui mitokondria (Lu *et al.*, 2010).

Pemberian D-Galaktosa terbukti memberikan berbagai efek pada penuaan organ reproduksi, khususnya testis. Induksi D-Galaktosa dapat menyebabkan penurunan spermatogenesis, penurunan berat serta ukuran testis, epididimis, serta vesikula seminalis (Shaikh *et al.*, 2014). D-Galaktosa dapat menginduksi terjadinya peroksidasi lipid pada testis serta epididimis karena strukturnya terdiri atas fosfolipid. Reaksi ini berlangsung apabila D-Galaktosa bereaksi dengan makromolekul seperti lipid, protein, dan DNA tanpa reaksi enzimatik. Hasil akhir dari reaksi ini adalah AGEs, yang dapat mengaktivasi reseptornya atau disebut RAGE dan apabila terakumulasi dalam sel akan menginduksi pembentukan ROS serta mencetuskan terjadinya reaksi peroksidasi lipid (Kumar and Anil, 2011).

2.5 Tanaman Kersen

2.5.1 Klasifikasi Tanaman Kersen

Klasifikasi tanaman kersen menurut Tjitrosoepomo (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan biji)
Subdivisi	: Angiospermae (Tumbuhan biji tertutup)
Kelas	: Dicotyledoneae (Tumbuhan biji belah/ dikotil)
Subkelas	: Dialypetalae
Ordo	: Malvales / Columniferae
Famili	: Elaeocarpaceae
Genus	: Muntingia
Spesies	: <i>Muntingia calabura</i> L.

2.5.2 Deskripsi Tanaman Kersen

M. calabura atau lebih dikenal dengan tanaman kersen di Indonesia dan Jamaican cherry dalam Dunia Internasional memiliki beragam manfaat khususnya dalam bidang medis. Di berbagai daerah tanaman ini memiliki julukan yang berbeda-beda, seperti Chinese cherry atau Japanese cherry di India, dan Cherry chettu di Telugu (Sridhar et al., 2011). Kersen adalah pohon yang selalu hijau (*evergreen*), tinggi pohon antara 3 sampai 12 meter, tumbuh dan berbuah sepanjang tahun pada ranting-ranting yang mirip kipas. Percabangannya mendatar, menggantung ke arah ujung, berbulu halus. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur sampai berbentuk lanset dengan panjang 4 – 14 cm dan lebar 1 – 4 cm dengan pangkal lembaran daun yang nyata tidak simetris, tepi daun bergerigi, lembaran daun sebelah bawah berbulu kelabu seperti pada Gambar 2. (Rosandari, *et al*, 2015).



Gambar 2. Morfologi dari *Muntingia calabura* L. (Dokumentasi Pribadi).

Tanaman kersen mulai berbunga pada umur dua tahun, bunga-bunga tumbuh 1–5 kuntum, terletak pada satu kuntum pada satu berkas yang letaknya supra-aksilar dari daun, bersifat biseksual. Mahkota bunga berbilangan lima dan berwarna putih, dalam satu berkas jumlah benang sarinya meningkat dari 10 – 25 helai pada bunga yang muncul pertama menjadi lebih dari 100 helai pada bunga yang muncul terakhir. Bunga mekar ketika menjelang fajar dan hanya berlangsung satu hari (Rosandari *et al.*, 2015).

Umumnya hanya satu-dua bunga yang menjadi buah. Buah tanaman ini bertangkai panjang, bulat hampir sempurna, diameter 1-1,5 cm, hijau kuning dan merah jika sudah masak, bermahkota sisa tangkai putik yang tidak rontok serupa bintang hitam bersudut lima. Berisi beberapa ribu biji kecil-kecil, halus, putih dan kekuningan dalam daging dan sari buah yang manis sekali. Buah kersen bertipe buni, mempunyai rasa manis dan flavor yang khas. Buah kersen mempunyai nilai gizi yang baik, yaitu mengandung vitamin A dan C, juga mineral seperti kalsium dan fosfor (Rosandari *et al.*, 2015).

2.5.3 Kandungan Senyawa Bioaktif Daun Kersen

Penelitian yang dilakukan Khan, *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa ekstrak tanaman *M. calabura* mengandung zat bioaktif yang dapat meminimalisir efek dari kerusakan sel akibat dari radikal bebas. Zat-zat berupa karbohidrat, protein, flavonoid, dan asam askorbat lebih dominan terkandung dalam ekstrak daun *M. calabura* dibandingkan akar dan buahnya. Sedangkan, ekstrak buah *M. calabura* dominan akan kandungan polifenol dibandingkan akar dan daun. Ekstrak akarnya sendiri lebih kaya alfa tokoferol dibanding daun dan buahnya. Karena mekanisme kerjanya yang saling berhubungan, seluruh senyawa ini akan dapat menghambat stress oksidatif dalam tubuh (Khan, *et al.*, 2015).

Flavonoid merupakan suatu antioksidan alami dengan aktivitas biologis yang dapat menghambat berbagai reaksi oksidatif dan berperan sebagai agen pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil (Kuntorini, *et al.*, 2013). Senyawa fenol dan flavonoid berperan penting dalam mencegah terbentuknya radikal bebas. Senyawa fenol dalam daun *M. calabura* mengandung senyawa yang mampu melawan radikal bebas. Reaksi peroksidasi lipid yang disebabkan oleh radikal bebas akan dihambat oleh 17 kemampuan donasi proton dari kelompok hidroksil yang terdapat pada komponen senyawa fenol (Narayanaswamy, 2011).

Senyawa polifenol juga memiliki aktivitas antiglikasi dengan menghambat signaling RAGEs, menghambat reaksi glikosidasi (Bartosz dan Sadowska, 2015) *M. calabura* juga mengandung saponin. Saponin dapat berperan dalam mencegah penuaan melalui aktivasi AKT/Forkhead box O3a dan jaras Nuclear factor-erythroid 2-related factor-2. Proses ini akan meningkatkan ekspresi dan fungsi enzim antioksidan seperti superoksida dismutase-2, katalase, glutathion reduktase, glutamat-sistein ligase, dan heme oksigenase-1 (Khan, *et al.*, 2015). *M. calabura* juga mengandung asam askorbat. Asam askorbat atau vitamin C merupakan salah satu jenis

antioksidan yang poten. Vitamin C terdiri dari 6 rantai karbon lakton dan disintesis dari glukosa di dalam hati mamalia kecuali manusia, hal ini disebabkan karena manusia tidak mempunyai enzim glukonolakton oksidase yang dapat mensintesis asam askorbat dari glukosa (Dianasari, 2014).

2.6 Mencit (*Mus Musculus L.*)

2.6.1 Klasifikasi Mencit (*Mus Musculus L.*)

Klasifikasi mencit (*M. musculus L.*) menurut Guneberg (1943) disajikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus L.</i>

2.6.2 Deskripsi Mencit (*Mus Musculus L.*)

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan uji coba dalam penelitian. Mencit banyak digunakan sebagai hewan penelitian di laboratorium karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif pendek, jumlah anak perkelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi. Selain itu, mencit dapat hidup mencapai umur 1-3 tahun. Gambar mencit secara lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Mencit (*M. musculus*) (Dokumentasi Pribadi)

Mencit merupakan hewan yang termasuk dalam famili Muridae. Pada mencit terdapat tahap estrus siklus terpenting dari siklus birahi, yang menunjukkan gejala khusus diamati pada perilaku mencit jantan dan betina untuk berkopulasi. Tahap estrus pada betina bisa diamati dengan mengamati secara visual genitalia eksterna (Byers *et al.*, 2012).

Mencit betina bisa dilihat dengan keanehan perilaku mencit seperti kegelisahan dan tidak menolak ketika pejantan mulai mendekatinya. Di luar estrus, betina akan menolak, bersikap agresif, dan tidak mau berkopulasi dengan pasangannya, fase estrus berlangsung selama 12 jam. Menurut Byers *et al.*, (2012) pengamatan fase estrus secara genitalia betina membutuhkan cahaya yang cukup, untuk menentukan warna yang dihasilkan pada vagina mencit. Saat estrus terjadi ditandai dengan mulai terbukanya vagina membesar dengan jaringan merah yang cukup bengkak muda dan cukup lembab di area genital. Mencit adalah hewan pengujian yang paling mudah digunakan karena mudah digunakan karena pemeliharaan dan tidak memerlukan ruang yang besar. Pada saat masa kehamilannya singkat, mencit bisa melahirkan dalam jumlah yang cukup besar.

2.6.3 Sistem Reproduksi Mencit (*Mus musculus* L.)

Sistem reproduksi mencit jantan tersusun atas organ genital eksternal dan internal. Pada organ genital eksternal terdapat skrotum yang terletak di

depan anus mencit dan penis yang digunakan sebagai alat kopulasi sebagian besar hewan mamalia. Sistem reproduksi mencit jantan tersusun atas sepasang testis yang merupakan lokasi pembuatan sel gamet, epididimis yang merupakan tempat pemasakan spermatozoa mencit, dan saluran panjang yang disebut vas deferens yang menghubungkan testis dengan kelenjar aksesori. Di dalam sistem reproduksi mencit terdapat pula beberapa kelenjar aksesori seperti vesikula seminalis dan prostat. Sistem reproduksi mencit jantan berakhir pada penis (Wiranata, 2013).

Sistem reproduksi mencit jantan terdiri dari beberapa bagian seperti:

a. Testis

Testis berjumlah dua buah, terdapat didalam kantong luar disebut skrotum. Pada semua spesies testis berkembang di dekat ginjal, yakni didaerah kista genitalis primitif. Testis merupakan kelenjar campuran, yakni kelenjar eksokrin juga sekaligus sebagai kelenjar endokrin. Sebagai kelenjar eksokrin testi berfungsi menghasilkan sel sperma.

b. Kelenjar Asesoris

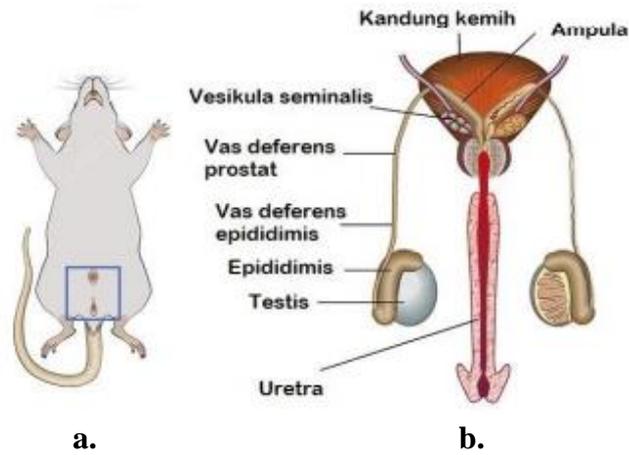
Kelenjar asesoris rodentia dan mamalia terdiri atas epididimis, vas deferens, prostat, sepasang glandula cowper dan sepasang vasikula seminalis. Kelenjar ini berfungsi membuat cairan semen yang dapat memungkinkan sperma bergerak aktif dan hidup untuk waktu tertentu.

c. Alat Kelamin atau Organ Kopulatoris

Organ kopulatoris pada mencit jantan yaitu penis yang memiliki tugas ganda seperti untuk alat pengeluaran urin dan penyaluran semen ke dalam saluran reproduksi mencit betina (Akbar, 2010).

Nugroho (2018), menjelaskan bahwa di dalam testis mencit terdiri dari tubulus seminiferus dan jaringan stroma. Lapisan dalam epitel tubulus seminiferus terdapat sel germinatif dan sel Sertoli, sedangkan pada

jaringan stroma terdapat pembuluh darah, limfe, sel saraf, sel makrofag dan sel Leydig. Sel Leydig berfungsi menghasilkan hormon testosteron. Sekresi hormon oleh sel Leydig dikontrol oleh hormon gonadotropin, bila sekresi hormon gonadotropin mengalami hambatan maka sekresi testosteron akan mengalami penurunan, untuk gambar lebih jelasnya seperti pada gambar 4.



Gambar 4. Gambar a. Posisi Testis Pada Mencit dan Gambar b. Struktur Testis Mencit (*Mus musculus*) (Science Photo Library, 2002).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Botani, Laboratorium Zoologi, Tempat Pemeliharaan Hewan Uji Coba Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dan Balai Veteriner Lampung pada bulan Oktober - Desember 2023.

3.2 Bahan dan Alat

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian yaitu 25 ekor Mencit jantan (*Mus musculus* L.) fertil umur 3 bulan dengan berat rata-rata 30-40 gram yang berasal dari Peternakan Hewan di Fajar Baru, Kab. Lampung Selatan, Pur ayam atau *pellet* sebagai pakan mencit, air sebagai minum mencit, alkohol untuk sterilisasi alat penelitian, D-galaktosa untuk meningkatkan *aging* pada mencit, kloroform sebagai larutan pembius saat pembedahan, ekstrak daun kersen sebagai anti-*aging*, akuades sebagai larutan pada perlakuan kontrol. Xylol untuk menarik alkohol kembali, paraffin (titik didih 56-80 °C) untuk filtrasi dan embedding sediaan, pewarna HE untuk mewarnai preparat dan Canada balsam untuk mempelkan *cover glass*.

Alat yang digunakan adalah 25 kandang mencit (*Mus musculus* L.) beserta penutupnya yang berfungsi untuk tempat tinggal mencit, wadah pakan mencit yang berfungsi untuk tempat makanan bagi mencit, botol air minum mencit yang berfungsi untuk tempat penyimpanan air minum mencit, rak kandang

mencit berfungsi untuk tempat meletakkan kandang mencit, timbangan yang berfungsi untuk menimbang berat badan mencit, alat bedah yang berfungsi untuk membedah hewan uji, mikroskop yang berfungsi untuk mengamati preparat histologi, jarum suntik yang berfungsi untuk alat penginduksian mencit dengan D-galaktosa, sonde oral untuk memberikan perlakuan ekstrak daun kersen melalui peroral/mulut pada mencit, *obyek glass* dan *cover glass* berfungsi untuk pembuatan preparat, label yang berfungsi untuk memberi label pada objek pengamatan, tisu yang berfungsi untuk membersihkan sisa zat warna pada *obyek glass*, pipet tetes yang berfungsi untuk membantu proses pengambilan cairan, dan kamera berfungsi untuk dokumentasi penelitian dan alat tulis yang berfungsi untuk mencatat data hasil penelitian.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Tahap Persiapan

a. Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu seperti alat bedah dan sonde. Mempersiapkan sampel daun kersen yang digunakan sebagai ekstrak. Daun kersen diambil di daerah Natar, Kab. Lampung Selatan. Lalu dibawa ke Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Unila daun kersen dicuci dengan menggunakan air yang mengalir sampai bersih untuk dibuat ekstrak.

b. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang dipakai dalam penelitian ini terdiri dari mencit jantan sejumlah 25 ekor yang berumur 3 bulan, fertil, dengan berat 35 gram yang dipisahkan dalam 5 perlakuan dan setiap perlakuannya terdiri dari 5 ekor. Sebelum diberi perlakuan, semua mencit di aklimatisasi terlebih dahulu selama dua minggu. Mencit-mencit tersebut diberi makan *pellet*

dan air minum yang di setiap harinya, penelitian dilakukan selama 35 hari.

c. Pembuatan Ekstrak Kersen

Daun kersen dibersihkan secara menyeluruh dengan air mengalir, selanjutnya dibilas menggunakan air suling. Daun dikeringkan pada suhu kamar kemudian dikeringkan secara sempurna pada oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Daun kersen yang telah kering selanjutnya digiling menjadi serbuk simplisia menggunakan mesin penggiling. Serbuk simplisia disimpan dalam botol tertutup rapat pada suhu ruang. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan terlebih dahulu menimbang simplisia sebanyak 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, dituang akuades 1000 ml sampai seluruh permukaan simplisia terendam kemudian dibiarkan selama 3 hari.

Setelah 3 hari ekstrak tersebut difilter dengan menggunakan corong *Buchner* untuk menghasilkan filtrat dan residu sebelum dilakukannya evaporasi. Hasil perendaman dimasukkan ke dalam labu evaporasi. Labu evaporasi dipasang pada evaporator dan *waterbath* diisi dengan air sampai penuh. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *waterbath* (diatur sampai 70-80°C), sambungkan dengan aliran pemanas listrik. Lalu tunggu hingga larutan berhenti menetes pada lampu penampung ($\pm 1,5-2$ jam untuk 1 labu). Hasil yang diperoleh sekitar sepertiga dari bahan alami kering. Hasil ekstraksi ditempatkan pada botol ekstrak, kemudian hasil ekstrak cair dapat digunakan perlakuan ke mencit.

Mencit jantan yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu, setelah ditimbang mencit dibagi menjadi 5 konsentrasi ekstrak yang masing-masing konsentrasi terdiri dari 5 kali pengulangan. Berikut 5 konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini:

1. Kontrol (K0): mencit hanya diberi makan dan minum secara normal tanpa mendapat perlakuan apapun.
2. Kontrol Negatif (K-): mencit diinduksi dengan menggunakan D-galaktosa 150 mg/kgBB, kemudian diberi makan dan minum secara normal.
3. Perlakuan 1, 2 dan 3 (P1, P2, dan P3): mencit diinduksi dengan D-galaktosa 150 mg/kgBB, kemudian diberi makan dan minum secara normal serta mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak kersen dengan cara di cekok (secara oral) sebanyak 35, 70 dan 105 mg/kgBB.

D-galaktosa diinduksikan kepada mencit Kontrol negatif dan Perlakuan secara intraperitoneal. Menggunakan metode ini karena dalam penelitian Budni *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa kadar amyloid beta ($\alpha\beta$) dan protein prekursor $\alpha\beta$ *hippocampus* mencit akan mengalami peningkatan setelah diinduksi D-Galaktosa secara intraperitoneal. Sedangkan dosis yang digunakan adalah sebanyak 150 mg/Kg (Siti *et al.*, 2019), hal ini sesuai dengan Sulistyoningrum, (2017) yang menjelaskan bahwa dosis yang tepat untuk menurunkan parameter sperma adalah 100-200 mg/kg yang dilarutkan dalam 1 ml akuades.

Tujuan dari perlakuan induksi D-galaktosa pada mencit yaitu untuk meningkatkan radikal bebas sehingga tubuh mencit mengalami stress oksidatif dan penuaan dapat berjalan lebih cepat dibandingkan dengan kondisi normal, sedangkan dosis ekstrak daun kersen yang dipakai dalam penelitian ini terdiri dari tiga jenis yaitu 35 mg/kgBB (rendah), 70 mg/kgBB (sedang) dan 105 mg/kgBB (tinggi). Proses pencekokan pada perlakuan dilakukan setiap hari selama 35 hari. Lama waktu perlakuan didasarkan pada lama waktu satu siklus pembentukan spermatozoa pada mencit. Setelah 35 hari mencit ditimbang berat badannya kemudian mencit dibedah dan diambil jaringan testis, setelah itu dilakukan penimbangan kedua testis untuk mengetahui rasio berat testis dan dibuat preparat histologinya dengan mengamati jumlah sel Leydig dan mengukur ketebalan sel-sel spermatogenik.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sebanyak 25 ekor mencit yang berasal dari Peternakan Hewan di Fajar Baru, Kab. Lampung Selatan, yang dibagi menjadi 5 konsentrasi dimana masing-masing konsentrasi terdiri dari 5 kali pengulangan. 5 konsentrasi mencit tersebut, yaitu K0 (kontrol nol), K- (kontrol negatif), P1 (perlakuan 35 mg/kgBB daun kersen), P2 (perlakuan 70mg/kgBB daun kersen) dan P3 (perlakuan 105mg/kgBB daun kersen). Penentuan jumlah pengulangan dilakukan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t menyatakan jumlah perlakuan dan n menyatakan jumlah ulangan. Sehingga jumlah ulangan yang dibutuhkan untuk penelitian ini disajikan sebagai berikut:

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

3.5 Proses Pembedahan Mencit

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

3.6 Prosedur

3.6.1 Teknik Pembuatan Slide

a. Trimming

Proses trimming ini adalah pose pemotongan tipis jaringan setebal ± 4 mm dengan orientasi sesuai organ yang akan dipotong yaitu pada bagian testis. Proses ini dilakukan setelah sebelumnya spesimen yang berupa potongan organ difiksasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan pengawet yaitu buffer formalin atau 10% formalin. Kemudian potongan jaringan testis tersebut dimasukkan ke dalam *embedding cassette*.

b. Dehidrasi

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

c. Embedding

Pada proses embedding ini, jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan parafin cair, yang selanjutnya dilekatkan pada balok kayu ukuran 3×3 cm.

d. Cutting

Proses cutting ini dilakukan didalam ruangan dingin. Sebelumnya blok terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan diawali dengan pemotongan kasar selanjutnya dilakukan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Setelah dipotong, dipilih lembar potongan yang paling baik, apungkan di air. Kemudian pindahkan lembaran jaringan ke dalam water bath selama beberapa detik sampai

mengembang sempurna. Selanjutnya menempatkan jaringan pada slide bersih dengan cara menyendok lembaran jaringan tersebut di dalam waterbath. Setelah itu, slide ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

e. Staining

Pada proses staining ini dilakukan pewarnaan slide dengan menggunakan Teknik pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

f. Mounting

Proses mounting merupakan tahap penetasan bahan dengan menggunakan Canada balsam yang ditutup dengan *cover glass*, saat penetasan jangan sampai terbentuknya gelembung udara.

g. Pembacaan Slide

Pembacaan slide dilakukan dengan memeriksa slide dibawah mikroskop cahaya.

3.6.2 Pengamatan

a. Rasio Berat Testis

Mencit ditimbang berat badannya kemudian di terminasi dan diambil jaringan testis, setelah itu dilakukan penimbangan kedua testis. Penilaian berat testis diukur dengan menimbang testis kanan dan kiri. Rasio berat testis dihitung dengan menggunakan rumus menurut Kurniati dan Nugraheni, (2019) berikut ini:

$$RASIO = \frac{\text{Berat Testis (gram)}}{\text{Berat badan hewan uji saat dikorbankan (gram)}}$$

b. Pengamatan Jumlah Sel Leydig

Perhitungan jumlah sel Leydig dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel yang berada diantar tiga sampai empat tubulus seminiferus dalam 10 lapang pandang dengan perbesaran 400×.

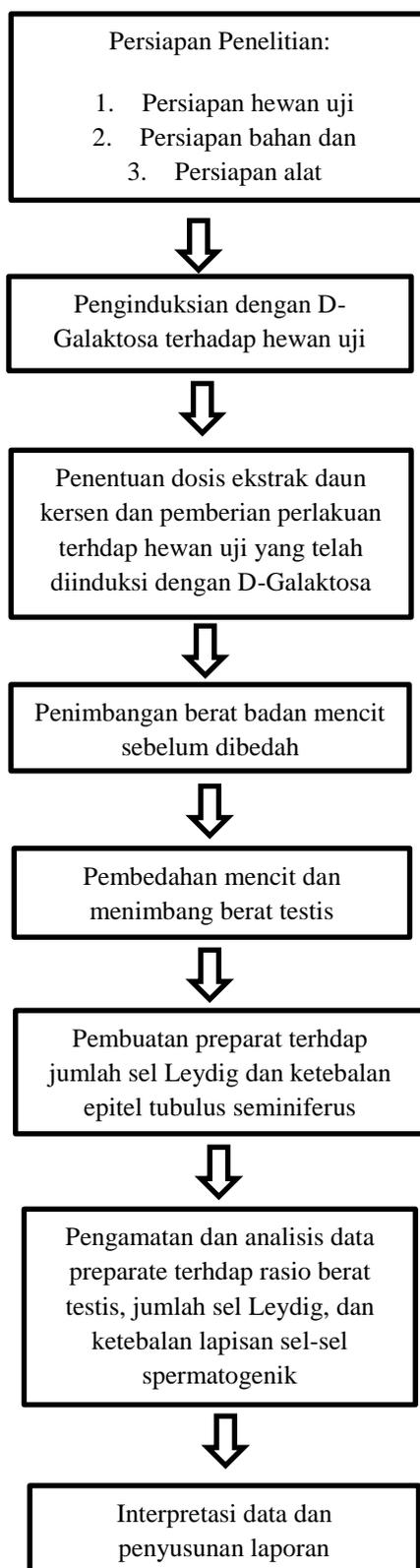
c. Pengamatan Tebal Sel-Sel Spermatogenik

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

3.7 Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian kemudian dianalisis secara statistik berupa data dari hasil perhitungan rasio berat testis, data yang diperoleh diolah dengan Program komputer SPSS. Data di uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk Test* dan dilanjutkan dengan uji homogenitas. Selanjutnya, data yang sudah homogen kemudian di uji ANOVA, dari hasil analisis ANOVA nantinya hasil akan menunjukkan apakah perlakuan yang diberikan signifikan atau tidak. Apabila signifikan antar perlakuan, maka akan dilanjutkan dengan uji lanjut selang berganda Duncan untuk melihat perlakuan mana yang paling efektif (paling baik) dengan $P < \alpha 0.05$.

3.8. Diagram Alir Metode Penelitian



Gambar 5. Diagram alir metode penelitian

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Penelitian yang sudah dilaksanakan menghasilkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daun kersen (*M. calabura*) dapat meningkatkan rasio berat testis mencit (*M. musculus*) yang sebelumnya mengalami kerusakan akibat diinduksi dengan D-Galaktosa dan didapati hasil yang paling efektif pada konsentrasi ekstrak 105mg/kgBB (P3) sebesar 0,15.
2. Pemberian ekstrak daun kersen (*M. calabura*) dapat meningkatkan jumlah sel Leydig sebesar 218,20 dan Ketebalan sel-sel spermatogenik sebesar 35,20 pada mencit (*M. musculus*) yang sebelumnya mengalami kerusakan akibat diinduksi dengan D-Galaktosa dan didapati hasil yang paling efektif pada konsentrasi ekstrak 105mg/kgBB (P3).

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang dampak pemberian ekstrak daun kersen (*M. calabura*) terhadap histologi organ tubuh mencit (*M. musculus*) yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A., Parekh N., Selvam M.K.P., Henkel R., Shah R., Homa S.T., Ramasamy R., Ko E., Tremellen K., Esteves S., *et al.* 2019. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J. Mens Health.* 37:296–312.
- Ahangarpour, A., Heidari, H., Ali, R., Pakmehr, M., Shahbazian, H., Ahmadi, I. 2014. Effect Of Boswellia Serrata Supplementation On Blood Lipid, Hepatic Enzymes And Fructosamine Levels In Type2 Diabetic Patients. *Journal Of Diabetes And Metabolic Disorder.* 8:1–5.
- Amarya, S., Singh, K., and Sabharwal, M. 2016. Ageing Process and Physiological Changes. *In Intech.*
- Andareto, O. 2015. *Apotik Herbal Di Sekitar Anda.* Jakarta: Pustaka Ilmu Semesta.
- Andriawati, F. 2009. *Efek Amfetamin Terhadap Spermatogenesis Mencit.* http://biologyonly.com/2009/09/efekamfetaminterhadapspermatogenesis_02.htm.
- Anifandis, G., Bounartzi, T., Messini, C. I., Dafopoulos, K., Sotiriou, S., & Messinis, I. E. 2014. The impact of cigarette smoking and alcohol consumption on sperm parameters and sperm DNA fragmentation (SDF) measured by Halosperm®. *Archives of Gynecology and Obstetrics.* 290(4): 777–782.
- Asadi. 2012. Pemuliaan Mutasi untuk Perbaikan terhadap Umur dan Produktivitas pada Kedelai. *Jurnal AgroBiogen.* 9(3):135-142.
- Barros, L., Carvalho, A. M., Ferreira, I.C.F. 2011. Buah-buahan eksotis sebagai sumber fitokimia penting: meningkatkan penggunaan tradisional buah rosa canina di portugal. *Penelitian makanan internasional.* 44 (7):2233–2236.
- Bartosz G., Sadowska-Bartosz I. 2015. “Stres oksidatif, nitrosatif, dan klorinatif: biomarker,” dalam *Studi Gangguan Psikiatri, Stres Oksidatif dalam*

- Penelitian Dasar Terapan dan Praktik Klinis*. New York, NY: Humana Press. 1–39.
- Budhi A. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press .15-18.
- Batubara, I.V.D., B. Wantouw, dan L. Tendean. 2013. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus Musculus*). *Jurnal e-Biomedik*. 1(1):2-3.
- Bjorklund, G., Chirumbolo, S., Dadar, M., Pivina, L., Lindh, U., Butnariu, M., Aaseth, J. 2019. Mercury Exposure and Its Effects on Fertility and Pregnancy Outcome. *Basic and Clininical Pharmacology and Toxicologi*. 125(4):317-327.
- Budhi Akbar. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press. Jakarta. 15-18.
- Budni, M. L., and Garcez, M. L. 2016. Evaluation of folic acid protective effect in an animal model of aging induced by D-galactose. *Biological Psychiatry*. 79.
- Busman, H. 2020. *Spermatozoa dan Spermatogenesis*. Lampung: Pustaka Ali Imron.
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., and Taft, R. A. 2012. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PloS one*. 7(4).
- Campbell., Reece., Mitchell. 2004. *Biologi*. Jakarta: Erlangga.
- Cardoso, A., Magano, S., Francisco M., and Andrade, Jose P. 2015. D-galactose high-dose administration failed to induce accelerated aging changes in neurogenesis, anxiety, and spatial memory on young male wistar rats. *Rejuvenation Research*. 18(6):. 497–507.
- Chen, Y and Lyga J. 2010. Brain-skin connection: Stress, inflammation and skin aging. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*, 13(3): 177-190.
- Daniel, R.M., Stelian, S., Dragomir, C., 2010. The Effect of Acutu Physical Exerciense on The Antioxidant Status of The Skeletal and Cardiac Muscle in the Wistar Rat. *Romanian Biotechnological Letters*. 15(3):56-61.
- Darmojo dan Martono, (2006). *Buku Ajar Geriatri (Ilmu Kesehatan Lanjut Usia)*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Dewi, E.R.S. 2011. Pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu terhadap histopatologi testis tikus putih setelah menghirup asap rokok. *J.Bioma*. 1(2):2-3.

- Dianasari, R., 2014. Pemberian Krim Ekstrak Jagung Ungu (*Zea Mays*) Menghambat Peningkatan Kadar Mmp-1 dan Penurunan Jumlah Kolagen Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Sinar Uv-B. *Tesis*. Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar.
- Diemer T., Allen J.A., Hales K.H., Hales D.B. 2003. Reactive oxygen disrupts mitochondria in MA-10 tumor Leydig cells and inhibits steroidogenic acute regulatory (StAR) protein and steroidogenesis. *Endocrinology*. 144:2882–2891.
- Gartner, L. P., Hiatt, J. L., dan Strum, L. M. 2012. *Biologi Sel dan Histologi*. Binarupa Aksara: Tangerang.
- Gary. 2005. Steroidogenesis screening assays and endocrine disruptors. *J Endocrinol*. 13.
- Geneser, F. 1994. *Text Book Of Histology (Buku Teks Histologi) Jilid 2 Terjemahan F. Arifin Gunawijaya*. Jakarta: Binarupa Aksara..
- Gillum RF, Obisesan TO. 2011. High-density lipoprotein cholesterol, cognitive function and mortality in a U.S. national cohort. *Lipids Health Dis*. 10:26.
- Gulkesen, K.H., Erdogru, T., Sargin, C.F., Karpuzogl, 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.
- Gruneberg, H. 1943. *The Genetics of the Mouse*. London: Cambridge University Press.
- Gurunanth, S., Pandian, Z., Anderson, R, A., Bhattacharya S. 2011. Mendefinisikan infertilitas – tinjauan sistematis studi prevalensi. *Pembaruan Reproduksi Hum*. 17 :575–588.
- Guyton AC, Hall JE. 2011. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Edisi ke 11. Jakarta: EGC.
- Handayani, F., Sentat, T. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 1. 131–142.
- Harris, I.D., Fronczak, C., Roth, L., Meacham, R.B., 2011. Fertility and the aging male. *Rev Urol*. 13(4): 184-190.
- Haryadi, M. Y. 2022. Uji Aktivitas Antidepresan Ekstrak Etanol Bunga Melati (*Jasminum sambac*) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Skripsi*. Univeristas dr. Soebandi Jember.

- Heni. Arreneuz, S., Zaharah, T, A. 2015. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *JKK*. 4(1).
- Hermawanto dan Hadiwidjaja. 2011. *Faktor terjadinya Infertilitas*. Bandung : Universitas Padjadjaran.
- Indriana, Y., Kristiana, IF., Sonda, AA., dan Intanirian, A. 2010. Tingkat Stres Lansia di Panti Wredha “Pucang Gading” Semarang. *Jurnal Psikologi Undip*. 8 (2): 87-96.
- Integrated Taxonomic Information System. 2022. *Mus musculus* Linnaeus, 1758. *Internet*. www.itis.gov. Diakses pada Senin, 22 September 2022 Pukul 17.09 WIB.
- Jiang, J., Xu, Y., Klaunig, JE. 2013. Induksi stres oksidatif pada otak tikus oleh akrilonitril (ACN) *Toxicol Sci*. 46 :333–41.
- Khan Y, M. A., Mudasada, 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.
- Kuntorini, E.M., Fitriana, S., Astuti, M. 2013. Struktur Anatomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Skripsi*. 291-296.
- Kosasih, E., Supriatna, N., Ana, E. 2013. Informasi singkat benih kersen/talok (*Muntingia calabura* L.). *Balai pembenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura*.
- Kumar and Anil. 2011. *Centella asiatica* Attenuates D-Galactose-Induced Cognitive Impairment, Oxidative and Mitochondrial Dysfunction in Mice. *International Journal of Alzheimer’s Disease*. 9.
- Kurniati, I.D dan Nugraheni, D, M. 2019. Efektivitas Pemberian Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Rasio Berat Testis pada Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Medica Anteriana*. 1(1).
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta : University Press.
- Lu, J., D. M., Wu, Y. L., Zheng, B., Hu, and Z. F. Zhang. 2010. Purple sweet potato color alleviates D-galactose-induced brain aging in old mice by promoting survival of neurons via PI3K pathway and inhibiting cytochrome C-mediated apoptosis. *Brain Pathol*. 20 (3):598-612.
- Luo L., Chen H., Trush MA, Show MD, Anway MD, Zirkin BR. 2006. Aging and the brown Norway rat Leydig cell antioxidant defense system. *J.Androl*. 27: 240–247.

- Mahmood, N. D., Nasir, N. L., Rofiee, M. S., Tohid, S. F., Ching, S. M., Teh, L. K., et al. 2014. *Muntingia calabura*: A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations. *Pharmaceutical Biology*. 1598-1623.
- Meri, Z.B., Irshid, I.B., Migdadi, M., Irshid, A.B., Mhanna, S.A. 2013. Apakah Merokok Mempengaruhi Parameter Cairan Mani? Studi Banding. *Jurnal Medis Oman*. 28(1): 12–15.
- Mescher, A. L. 2010. *Junquiera's Basic Histology Text & Atlas 12th ed.* New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Mitchell SJ., Longo DL., Scheibye-Knudsen M, and de Cabo R. 2015. Animal Models of Aging Research: Implications for Human Aging and Age-Related Diseases.
- Mohammadirad, A., Aghamohammadali-Sarraf, F., Badiei, S., Faraji, Z., Hajiaghachee, R., Baeri M., et al. 2013. Anti-aging effects of some selected Iranian folk medicinal herbs-biochemical e.
- Munaya. 2018. Efek Stres Puasa Terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus *Rattus norvegicus*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 18(1):1-7.
- Nalbandov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada mamalia dan Unggas*. Jakarta: UI-Press.
- Narayanaswamy, N and Duraisamy, A. 2011. Tyrosinase Inhibition And Anti Oxidant Properties Of *Muntingia calabura* Extracts: In Vitro Studies. India: ITC R&D Centre, Peenya Industrial Area Phase I. *Bangalore*. 560.
- Navaratnarajah, A., and Jackson, S. H. D. 2013. The physiology of ageing. *Medicine United Kingdom*. 41(1): 5–8.
- Novita, M., J. Mangimbulude, dan F.S. Rondonuwu. 2010. *Karakteristik Likopen Sebagai Antioksidan*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga: 3-5.
- Nurkarimah. 2017. Effect of Propolis on Spermatogenic Cells Number and Diameter of Seminiferous Tubules in Male Mice (*Mus musculus*). *The Veterinary Medicine International Conference*.
- Nurliani, A. 2004. Gambaran Struktur Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah pemberian Ekstrak Kulit Batang Durian (*Durio*

- zibethius* Murr). *Unpublished Bachelor thesis*, FMIPA UNLAM. Banjarbaru.
- Oyeyemi, M.O., Okediran, A.O., Ajala, O., Oluwatoyin., Idehen. 2007. Differences in Testicular Parameters and Morphological Characteristics of Spermatozoa as Related to Age of West African Dwarf Bucks. *Tropical Journal Animals Science*. 5(1):99-107.
- Paju, N., Yamlean, P.V.Y., dan Kojong, N. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (1): 51-61.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara Sumber Widya.
- Patil, V. S., Patil, V.P., Gokhale, N., Acharya A., Kangokar P. 2009. Periodontitis kronis pada diabetes mellitus tipe 2: stres oksidatif sebagai faktor umum cedera jaringan periodontal . *J.Klin. Diagnosis. Res*. 10.
- Peixoto, G.C.X., Silva, M.A., Castelo, T.S., Silva, A.M., Bazerra, J.A.B., Souza, A.L.P. 2012. Individual Variation Related to Testicular Biometry and Semen Characteristics in Collared Peccaries (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758). *Animal Reproduction Science*. 134:191-196.
- Pramono, V.J. dan 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).
- Rahmawati, P. D. 2018. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. 10.
- Riris AAIDC, I'tishom R., Khaerunnisa S. 2021. Peran antioksidan untuk melindungi sel Leydig yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif: Tinjauan literatur. *Qanun Med.-Med. J.Fakta. medis. muhammadiyah surabaya*. 5:49–60.
- Rosandari, T., H. Thayib, dan N. Krisdiawati. 2015. Variasi Penambahan Gula Dan Lama Inkubasi Pada Proses Fermentasi Cider Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 1–11.
- Rosidah, A. N., P. E. Lestari, dan P. Astuti. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G . Don) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*.
- Rugh,R. 1968. *The Mouse : Its Reproduction and Development*. New York: Oxford University Press.
- Sadowska-Bartosz, I., Bartosz, G., 2015. Prevention of protein glycation by natural compounds. *Molecules*. 20(2): 3309–3334.

- Salisbury, G.W. 1987. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sanders, K. M., Stuart, A. L., Scott, D., Kotowicz, M. A., Nicholson, G. C. 2015. Validity of 12-month falls recall in community-dwelling older women participating in a clinical trial. *International Journal of Endocrinology*.
- Science Photo Library. 2022. Mouse Male Reproductive System Illustration Shwe . [Internet]. <https://www.sciencephoto.com>. Diakses pada 20 September 2023 pukul 13.52 WIB.
- Senger, P. L. 2005. *Pathways to Pregnancy and Parturition. 2nd edition*. Washington: Current Conception
- Sergiey, P. V., Dontsova, O. A., and Berezkin, G. V. 2015. Theories of aging: An everevolving field. *Acta Naturae*. 7(1): 9–18.
- Setiadi. 2007. *Anatomi dan Fisiologi Manusia*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sgarbieri, V. C., Teresa, M. and Pacheco, B. 2017. Healthy human aging : intrinsic and environmental factors. *Brazilian Journal Of Food Technology*. 20:1–23.
- Shwe, T. 2018. Role of Dgalactose-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions, *Experimental Gerontology*. Elsevier. 101: 13–36.
- Sinaga FA. 2016. Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Gener Kampus*. 9(2): 176–89.
- Siregar. J.H. 2009. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Sel Leydig dan Jumlah Sperma Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus* L.) Yang Dipapari Monosodium Glutamate (MSG). *Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara Medan*.
- Soebadi, P., 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan. Hormon Reproduksi*. Fakultas Kedokteran Veteriner, Jurusan Reproduksi, IPB. Pen. MSW - Jakarta.
- Soewolo, 2000. *Pengantar Fisiologi Hewan*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.
- Sridhar, M., Thirupathi, K., Chaitanya, G., Kumar, B. R., and Mohan, G. K. 2011. Antidiabetic effect of leaves of *Muntingia calabura* L. In normal and alloxaninduced diabetic rats. *Pharmacologyonline*. 2:626-632.
- Sulistyoningrum, E. 2017. D- Galactose-Induced Animal Model of Male Reproductive Aging. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 8(1).19–27.

- Sulistiyoningrum E, Pradipta DM, Fanana S, Haikhah JA, danPutro MDH, 2018. Protective effect of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl extract on the testicular damage of streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetic rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8 (6): 139-146.
- Suryadi, E., Iryani, D., dan Suyono, S.K. 2007. Perubahan sel-sel Leydig tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa setelah pemberian monosodium glutamat peroral. *Jurnal Anatomi Indonesia*. 1: 129-132.
- Sutyarso. 2017. Penuaan dan Fungsi Seksual. Orasi Ilmiah Pengukuhan Guru Besar. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Swastika A, Purwanto M. 2013. Antioxidant activity of cream dosage form of tomato extract (*Solanum lycopersicum* L.). *Tradit. Med. J*. 18:132–140.
- Tarafdar A., Pula G. 2018. The role of NADPH oxidases and oxidative stress in neurodegenerative disorders. *Int. J. Mol. Sci*. 19:3824.
- Tjitrosoepomo, G. 1993. Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Toksin Zhang YF, Su PK, Wang LJ, Zheng HQ, Bai XF, Li P., Meng XP, Yang JY T-2. 2018. Menginduksi apoptosis melalui aktivasi caspase-3 yang bergantung pada Bax pada sel Leydig primer tikus. beracun. *Mekanisme Metode*. 28 :23–28.
- Wang Y., Chen F., Ye L., Zirkin B., Chen H. 2017. Steroidogenesis dalam sel Leydig: Pengaruh penuaan dan faktor lingkungan. *Reproduksi*. 154 :111–122.
- WHO (*World Health Organization*). 2005. National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines, Report of a WHO global survey, Geneva.
- _____. 2014. *Buku Panduan WHO untuk Pengembangan Pedoman WHO 2014*. Jenewa: Organisasi Kesehatan Dunia.
- Widiastuti, E.L., Arifianti, R., Khairani, I.A., Christianto, Y., Ara, N.F. & Maharani, H.W. 2019. Antioxidant Effect of *Clerodendrum* sp and *Acanthus illicifolius* Methanol Extraction on Blood (α) pyrene. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. (1)305.
- Wiranata, A.E. 2013. Sel-sel Kelamin Mencit. *Laporan Lengkap Perkembangan Hewan*. Universitas Palangkaraya. 1-9.
- Wortmann. D. 2012. A global health priority - highlights from an ADI and World Health Organization report. *Alzheimers Res Ther*. 4(5):40.

- Wulandari, S. A. R. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Stapylococcus epidermidis* Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* Linn.) Dengan Fase Minyak Isopropil Mirystate. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Yatim, W. 1996. *Histologi*. Bandung: Tarsito.
- Ye, Y. 2014. In vivo antioxidant and anti-skin-aging activities of ethyl acetate extraction from idesia polycarpa defatted fruit residue in aging mice induced by Dgalactose. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 1–12.
- Yuslianti, E.R. 2018. Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Yogyakarta: Deepublish.
- Zahara, R. 2011. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Monosodium Glutamat. *Program Studi Kedokteran Universitas Lampung*.