PERBAIKAN KERUSAKAN JUMLAH SEL SPERMATOSIT PRIMER, SEL SPERMATID, SEL LEYDIG DAN DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI DIAZINON

(Skripsi)

Oleh

Febrian Aditia Mulawarman
2117021048

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025

PERBAIKAN KERUSAKAN JUMLAH SEL SPERMATOSIT PRIMER, SEL SPERMATID, SEL LEYDIG DAN DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI DIAZINON

Oleh

Febrian Aditia Mulawarman

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025

ABSTRAK

PERBAIKAN KERUSAKAN JUMLAH SEL SPERMATOSIT PRIMER, SEL SPERMATID, SEL LEYDIG DAN DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI DIAZINON

Oleh

FEBRIAN ADITIA MULAWARMAN

Diazinon merupakan pestisida golongan *organofosfat* yang umum digunakan dalam bidang pertanian karena efektif membunuh serangga. Namun, paparan diazinon akan menyebabkan efek toksik yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif yang diakibatkan diazinon akan menimbulkan efek neurotoksin pada sistem hipotalamus-hipofisis-gonad yang dapat menyebabkan kerusakan dan penurunan jumlah sel spermatogenik serta penurunan kerja hormon reproduksi sehingga mengganggu proses spermatogenesis. Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) berpotensi sebagai tanaman obat yang dapat melindungi sel terhadap kerusakan akibat radikal bebas dan sebagai agen fertilitas karena memiliki senyawa aktif berupa flavonoid, *zinc*, dan arginin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kemangi terhadap jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid, sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan teknik Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 kelompok yaitu K_0: (diinduksi *aquabidest*), K-: (diinduksi diazinon 1,2mg/grBB), P1: (diinduksi diazinon + ekstrak kemangi 3mg/grBB), P2: (diinduksi diazinon + ekstrak kemangi 6mg/grBB), dan P3: (diinduksi diazinon + ekstrak kemangi 9mg/grBB) selama 35 hari. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah peningkatan jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid, sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus mencit. Data dianalisis menggunakan uji statistik *Oneway* ANOVA dan dilanjut dengan uji *posthoc* (Duncan). Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian diazinon dapat menurunkan jumlah sel spermatosit, sel spermatid, sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus mencit, pada pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan jumlah sel spermatosit dengan konsentrasi paling efektif 6mg/grBB, sel spermatid dengan konsentrasi paling efektif 9mg/grBB, sel Leydig dengan konsentrasi paling efektif 6mg/grBB, dan diameter tubulus seminiferus dengan konsentrasi paling efektif 3mg/grBB secara signifikan.

Kata Kunci: Daun Kemangi, Diazinon, Stres Oksidatif, Tubulus Seminiferus.

ABSTRACT

REPAIR OF DAMAGE TO PRIMARY SPERMATOCYTES COUNT, SPERMATID CELLS, LEYDIG CELLS AND DIAMETER OF SEMINIFERUS TUBULES IN MICE (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) BY GIVING ETHANOL EXTRACT OF BASIL LEAVES (*Ocimum basilicum* Linn.) DUE TO DIAZINONE INDUCTION

By

FEBRIAN ADITIA MULAWARMAN

Diazinon is an organophosphate class of pesticide commonly used in agriculture which is effective in killing insects. Free radicals and oxidative stress caused by diazinon will cause neurotoxic effects on the hypothalamus-pituitary-gonad system which can cause damage and decrease the number of spermatogenic cells and decrease the work of reproductive hormones, thus disrupting the spermatogenesis process. The basil plant (*Ocimum basilicum* Linn.) has potential as a medicinal plant that can protect cells from damage caused by free radicals and as a fertility agent because it has active compounds in the form of flavonoids, zinc and arginine. This study aims to determine the effect of basil leaf extract on the number of primary spermatocyte cells, spermatid cells, Leydig cells and seminiferous tubule diameter in mice due to diazinon induction. This study is an experimental study using a Completely Randomized Design technique consisting of 5 groups, K0: (induced by aquabidest), K-: (induced by diazinon 1.2mg/grBW), P1: (induced by diazinon+basil extract 3mg/grBW), P2: (induced by diazinon+basil extract 6mg/grBW), and P3: (induced by diazinon+basil extract 9mg/grBW) for 35 days. The parameters observed in this study were the increase in primary spermatocytes count, spermatid cells, Leydig cells and tubules seminiferous diameter of mice. Data were analyzed using *Oneway* ANOVA and Duncan. The results of the analysis showed that diazinon can reduce the number of spermatocyte cells, spermatid cells, Leydig cells and the diameter of the seminiferous tubules of mice, while the adduction of basil leaf ethanol extract can significantly increase the number of spermatocyte cells with the most effective concentration of 6 mg/grBW, spermatid cells with the most effective concentration of 9 mg/grBW, Leydig cells with the most effective concentration of 6 mg/grBW, and the diameter of the seminiferous tubules with the most effective concentration of 3 mg/grBW.

Key words: Basil Leaves, Diazinon, Oxidative Stress, Seminiferous Tubules.

Judul Skripsi	: PERBAIKAN KERUSAKAN JUMLAH SEL SPERMATOSIT PRIMER, SEL SPERMATID, SEL LEYDIG DAN DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* Linn.) AKIBAT INDUKSI DIAZINON
Nama Mahasiswa	: Febrian Aditia Mulawarman
Nomor Pokok Mahasiswa	: 2117021048
Program Studi	: Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed.	**Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc.**
NIP. 195901011987031001	NIP. 199105212019032020

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji :

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

   Anggota : **Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc.** .....

   Penguji Utama : **Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed.** .....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **12 Maret 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Febrian Aditia Mulawarman

NPM : 2117021048

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujur-jujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

"Perbaikan Kerusakan Jumlah Sel Spermatosit Primer, Sel Spermatid, Sel Leydig dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) Akibat Induksi Diazinon"

Adalah benar merupakan karya saya sendiri, baik gagasan, data, maupun pembahasannya. Karya ilmiah ini adalah hasil dari pengetahuan dan informasi yang saya dapatkan, karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya seseorang.

Dengan demikian karya ini saya buat dan dapat dipertanggung jawabkan apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini. Saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandarlampung, 13 Maret 2025

Febrian Aditia Mulawarman
NPM. 2117021048

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tanjung Karang, pada tanggal 06 Februari 2003, anak tunggal dari pasangan Bapak Heri Purwanto dan Ibu Marina Triastuti. Penulis beralamat di Sepang Jaya, Kecamatan Labuhan Ratu, Kota Bandar Lampung, Lampung. Penulis memulai pendidikan di TK Harapan Jaya pada tahun 2008. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Perumnas Way Halim pada tahun 2009, dilanjutkan dengan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 29 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2018 , kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Perintis 1 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2021. Lalu, penulis melanjutkan pendidikan ke Perguruan Tinggi dan terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2021 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Zoologi Invertebrata dan Biologi Perkembangan Hewan. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Embriologi Hewan di Universitas Terbuka Bandar Lampung. Penulis juga aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada tahun 2021-2023, Ketua Pelaksana Desa Binaan (HIMBIO) FMIPA Unila pada tahun 2022, *Master of Ceremony* Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSDA) ke-26 pada tahun 2022, dan Ketua Koordinator Perlengkapan Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSDA) ke- 27 pada tahun

2023. Penulis juga aktif berkontribusi dalam Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila sebagai panitia Karya Wisata Ilmiah (KWI) ke-33 pada tahun 2022, serta aktif menjadi anggota Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Bulu Tangkis Unila pada tahun 2021-2022.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada bulan Desember 2023-Februari 2024 di Laboratorium Patologi, Balai Veteriner Lampung dan telah menyelesaikan Laporan Praktik Kerja Lapangannya dengan judul **"Analisis Nilai Total Protein Plasma (TPP) dan *Packed Cell Volume* (PCV) Darah Sebagai Diagnosa Kondisi Kesehatan Domba (*Ovis aries*) di Balai Veteriner Lampung".** Kemudian penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari pada bulan Juni-Agustus 2024 di Desa Sripendowo, Kecamatan Bandar Sribhawono, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Penulis melakukan penelitian di Laboratorium Zoologi dan Botani FMIPA Unila serta Laboratorium Patologi, Balai Veteriner Lampung dan menyusun skripsi dengan judul **"Perbaikan Kerusakan Jumlah Sel Spermatosit Primer, Sel Spermatid, Sel Leydig dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) Akibat Induksi Diazinon".**

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”

(QS. Ar-Ra’d: 11)

“Maka ingatlah kepadaku, akupun akan mengingatmu”

(QS. Al-Baqarah: 152)

عْنَاوَرَفَ لَكَ ذِكْرَ كُ

“Tidak akan Allah halangi jika sesuatu itu pantas untukmu”

“Fortis Fortuna Adiuvat”

“Keberuntungan berpihak pada yang berani”

“Keberhasilan itu bukan milik orang yang pintar, tetapi keberhasilan milik orang yang beruntung”

-Febrian Adita Mulawarman-

“Don’t practice until you get it right, practice until you can’t get it wrong”

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih dan maha penyayang

Dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWT atas rahmat, ridho dan karunia-Nya yang selalu ia berikan, Kupersembahkan karya kecilku ini kepada:

Kedua Orang tuaku,
Heri Purwanto dan Marina Triastuti
Yang senantiasa menyebut namaku dalam do'anya, selalu mengusahakan semuanya untukku tanpa mengenal rasa lelah, selalu memberikan semangat, memotivasi, dan memberikan dukungan di setiap langkah perjalananku untuk menggapai sebuah kesuksesan.

Diriku,
Febrian Aditia Mulawarman
Seorang anak laki-laki semata wayang yang memiliki banyak impian, yang ingin menggapai kesuksesan untuk membahagiakan orang tuanya dan yang telah mampu bertahan sejauh ini dalam perjalanan kehidupan termasuk selama meraih pendidikan.

Untuk ***Mutiara Anggita*** *yang selalu memberikan dukungan, do'a, menghibur, tempat bercerita dan menemani dalam senang maupun kesulitanku.*

Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmunya, semangat, saran, dan membimbingku serta membantu dalam proses penelitian hingga penulisan skripsi ini selesai dengan tepat waktu.

Saudara, sahabat, teman, kakak-kakak dan adik-adik yang ikut membantu, memberi semangat, canda tawa dan pengalaman yang berharga di dunia perkuliahan ini.

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

SANWACANA

Alhamdulilahirobbilalamiin,

Puji syukur kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan baik dan lancar, sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga dan para sahabatnya. Semoga kita tergolong umatnya yang akan mendapatkan syafaatnya di hari akhir kelak Aamiin.

Skripsi dengan judul **"Perbaikan Kerusakan Jumlah Sel Spermatosit Primer, Sel Spermatid, Sel Leydig dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) Akibat Induksi Diazinon"** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan karya ini, penulis menyadari bahwa banyak sekali bantuan yang penulis dapatkan selama menjalani penelitian dan pembuatan karya ini. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung.
4. Ibu Rochmah Agustrina, Ph.D. selaku Sekretaris Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung.

5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi FMIPA, Universitas Lampung.
6. Ibu Lili Chrisnawati, S.Pd., M.Si. selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing dari awal penulis memulai perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung.
7. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku pembimbing utama atas kesediaannya yang telah memberikan bimbingan, support, saran dan kritik selama proses pembuatan karya ini serta memberi motivasi dan menghibur penulis disaat jenuh dalam melakukan penelitian.
8. Ibu Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc. selaku pembimbing kedua atas kesediaannya yang telah memberikan bimbingan, support, saran dan kritik selama proses pembuatan karya ini.
9. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. selaku penguji utama pada ujian skripsi yang telah memberikan masukan, kritik dan saran yang membangun serta membimbing selama proses penyelesaian karya ini.
10. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang telah berjasa dan membantu selama penulis menyelesaikan studi di Jurusan Biologi.
11. Kedua Orang tuaku, Bapak Heri Purwanto dan Ibu Marina Triastuti terima kasih yang sebesar-besarnya atas pengorbanan, usaha, kasih sayang dan doa yang selalu dipanjatkan serta memberi motivasi dan semangat kepada penulis selama menjalani proses studi hingga selesai.
12. Mutiara Anggita, S.Si. yang telah mendampingi, memberi semangat, meluangkan dan memberikan waktunya untuk membantu penulis menyelesaikan karya ini, serta menjadi tempat untuk bercerita dan berkeluh kesah.
13. Muhammad Sulthan Perdana Daramel teman seperjuangan penulis yang telah menemani dan melaksanakan penelitian bersama hingga menyelesaikan studi.
14. Sahabatku Albert Pribadi, Kurniawan dan Made Angga yang setia menemani penulis sejak SMA hingga menyelesaikan karya ini serta telah memberikan dukungan semangat, menghibur dan bercanda tawa bersama.

15. M. Hafid Hak, Riska Tri Yani, Khania Putri Frama Yudha dan Fannia Khairani Mz yang telah menemani penulis, memberi dukungan, dan menjalani kehidupan kampus bersama-sama hingga menyelesaikan perkuliahan di Universitas Lampung.
16. Kanda Jensa Yuswantoro, S.Si. yang telah membantu, memberikan arahan, saran, bimbingan dan dukungan kepada penulis sejak mulai memasuki dunia kampus hingga menyelesaikan perkuliahan.
17. Kakak-kakak, teman-teman Biologi Angkatan 2021 dan adik-adik yang telah memberikan dukungan, motivasi dan semangat kepada penulis.
18. Terimakasih untuk diriku sendiri yang telah mampu berjuang dan bertahan setelah melalui berbagai kesulitan dan kesusahan dari awal hingga akhir proses perkuliahan selesai.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, dengan segala keterbatasan pengetahuan dan pengalaman yang masih harus ditingkatkan supaya menjadi lebih baik lagi kedepannya. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima segala kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Penulis berharap semoga karya ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang membacanya, khususnya untuk berbagai pihak yang berkaitan dalam bidang Medis dan *Science*.

Bandarlampung, 13 Maret 2025
Penulis,

Febrian Aditia Mulawarman

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK ..... **i**

ABSTRACT ..... **ii**

MENGESAHKAN ..... **iv**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI ..... **v**

RIWAYAT HIDUP ..... **vi**

MOTTO ..... **viii**

PERSEMBAHAN ..... **ix**

SANWACANA ..... **x**

DAFTAR ISI ..... **xiii**

DAFTAR TABEL ..... **xv**

DAFTAR GAMBAR ..... **xvi**

I. PENDAHULUAN **1**

1.1 Latar Belakang 1
1.2. Tujuan Penelitian 5
1.3. Kerangka Pemikiran 5
1.4. Hipotesis 7

II. TINJAUAN PUSTAKA **8**

2.1. Stres Oksidatif dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) 8
2.2. Diazinon 10
2.3. Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) 12
2.3.1.Klasifikasi 13
2.3.2.Anatomi dan Fisiologi 13
2.3.3.Sistem Reproduksi Mencit Jantan 15
2.3.4.Hormon Reproduksi Mencit Jantan 18
2.4. Tubulus Seminiferus 19
2.5. Steroidogenesis 24
2.6. Spermatogenesis 25
2.7. Tanaman Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) 27
2.7.1.Klasifikasi 28
2.7.2.Morfologi 28

2.7.3.Kandungan Senyawa Bioaktif 30
2.7.4.Manfaat 34

III. METODE PENELITIAN 35

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 35
3.2. Alat dan Bahan 35
3.2.1.Alat 35
3.2.2.Bahan 36
3.3. Prosedur Penelitian 37
3.3.1.Rancangan Penelitian 37
3.3.2.Persiapan Hewan Uji 39
3.3.3.Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi 39
3.3.4.Penginduksian Larutan Diazinon 40
3.3.5.Penginduksian Ekstrak Etanol Daun Kemangi 41
3.3.6.Pemberian Perlakuan 42
3.3.7.Pembedahan Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) 42
3.3.8.Teknik Pembuatan Slide Histologi 43
3.3.9.Parameter Penelitian 46
3.3.10.Pengamatan Preparat 46
3.4. Analisis Data 47
3.5. Diagram Alir Metode Penelitian 48

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 49

4.1. Hasil dan Analisis Data 49
4.1.1.Jumlah Sel Spermatosit Primer 49
4.1.2.Jumlah Sel Spermatid 50
4.1.3.Jumlah Sel Leydig 51
4.1.4.Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) 53
4.2. Pembahasan 55
4.2.1.Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi Terhadap Sel Spermatogenik 55
4.2.2.Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi Terhadap Sel Leydig 61
4.2.3.Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kemangi Terhadap Diameter Tubulus Seminiferus 67

V. KESIMPULAN DAN SARAN 69

5.1. Kesimpulan 69
5.2. Saran 70

DAFTAR PUSTAKA 71

LAMPIRAN 84

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

Tabel 1. Perlakuan dan Pemberian Dosis……...38

Tabel 2. Panduan Identifikasi dan Ciri-ciri Sel Spermatosit Primer, Sel Spermatid, Sel Leydig, dan Diameter Tubulus Seminiferus…….....43

Tabel 3. Hasil Uji Jumlah Sel Spermatosit Primer Mencit……....49

Tabel 4. Hasil Uji Jumlah Sel Spermatid Mencit……..…….50

Tabel 5. Hasil Uji Jumlah Sel Leydig Mencit……51

Tabel 6. Hasil Uji Diameter Tubulus Seminiferus Mencit…….53

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Struktur Kimia Diazinon (Boussabbeh *et al*., 2016) 10

2. Proses Pembentukan NO (Zhao *et al*., 2015) 12

3. Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) (Dokumentasi Pribadi) 14

4. Anatomi Testis Mencit Jantan (Lawson, 2007) 16

5. Struktur Anatomi Reproduksi Mencit Jantan (1) Testis 17

6. Histologi Tubulus Seminiferus (Tortora and Derrickson, 2014) 20

7. Histologi Testis Bagian-bagian Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) (Herlina dkk, 2021) 24

8. Alur Biosintesis Hormon Steroid Testis (Schiffer *et al*., 2019) 25

9. Proses Spermatogenesis (Susilawati, 2011) 27

10. (a) Daun Kemangi, (b) Bunga Kemangi (NC State, 2024) 29

11. Skema Rancangan Acak 37

12. Diagram Alir Penelitian 48

13. Histologi Sel Spermatogenik dan Sel Leydig Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)), dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) Perbesaran 400x 52

14. Pengukuran Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)), dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) Perbesaran 400x 54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan pestisida telah umum digunakan dalam sektor pertanian di seluruh negara, termasuk Indonesia. Sebagai negara agraris yang sebagian besar penduduknya bekerja sebagai petani, Indonesia menempati posisi ketiga sebagai pengguna pestisida terbesar di dunia (Eliyana dkk, 2024). Penggunaan pestisida dianggap oleh para petani sebagai cara terbaik untuk meningkatkan produksi hasil pertanian (Cahya dkk, 2022) karena dapat membunuh hama tanaman yang menyebabkan terjadinya gagal panen. Pestisida sering digunakan oleh para petani karena memiliki manfaat untuk meningkatkan produksi pertanian, terutama sebagai bahan preventif terhadap hama dan gulma (Kusriani, 2012). Namun, penggunaan pestisida yang terlalu sering akan menimbulkan efek buruk akibat residu yang terurai di lingkungan baik bagi konsumen maupun hewan secara inhalasi, oral maupun melalui kulit (Pratama dkk, 2019). Residu pestisida dapat menyebabkan kematian pada tingkat ekstrim, gejala keracunan akut pada manusia akibat residu pestisida dapat menyebabkan paraestesia, tremor, sakit kepala, keletihan, sakit perut, mual dan muntah (Shaleha dkk, 2023).

Berdasarkan *World Health Organization* (WHO) dan *United Nations Environment Programme* (UNEP) terdapat 1-5 juta kasus keracunan pestisida pada pekerja di bidang pertanian dan sebagian besar kasus keracunan pestisida tersebut terjadi di negara berkembang, serta sebanyak 20.000 kasus berakibat fatal bahkan menyebabkan kematian (Chairunnisa,

2023). Pada umumnya salah satu pestisida yang sering digunakan para petani yaitu insektisida. Insektisida terbagi dalam empat golongan yaitu *organoklorin*, *organofosfat*, *karbamat* dan *piretroid* (Nurhayati, 2022).

Insektisida yang sering digunakan para petani di Indonesia berasal dari golongan *organofosfat*. Salah satu jenis *organofosfat* yang banyak digunakan yaitu diazinon. Paparan diazinon dapat menyebabkan efek toksik yaitu menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan penghambatan enzim *asetilkolinesterase* (AChE) pada sistem saraf, yang menyebabkan terjadinya akumulasi *asetilkolin* (ACh) pada transmisi sinapsis serta terjadinya *neuromuscular junction* (Wisudanti, 2019). Akumulasi ACh dalam sistem saraf dapat mengganggu pengantaran impuls saraf ke sel-sel otot sehingga otot mengalami kontraksi, kejang, dan kelumpuhan (paralisis) serta dapat menyebabkan toksisitas akut dengan gejala sekresi kelenjar, kelelahan, pupil miosis dan fasikulasi otot (Herdiana, 2019).

Diazinon menghambat AChE dengan menghasilkan akumulasi neurotransmiter. Metabolisme diazinon terjadi oleh aktifitas enzim sitokrom P450 (CYP450) dan *paraoxonase* (PON) yang mengkatalisis diazinon menjadi *diazoxon* dan juga mendetoksifikasi diazinon dan *diazoxon* menjadi *2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine* (IMHP), *diethylthiophosphate* (DETP), dan *diethylphosphate* (DEP) di dalam hepar dan usus halus. Metabolisme diazinon dapat meluas melalui peredaran darah, diazinon atau *diazoxon* dapat diekskresi melalui urin. Metabolit diazinon seperti DETP, DEP, dan IMHP dapat dengan mudah dieksresikan dalam urin yang dapat berpotensi menjadi biomarker paparan diazinon (Herdiana, 2019).

Produksi ROS yang berlebihan akan menimbulkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif, akibat kadar ROS melebihi batas pertahanan antioksidan tubuh maka akan menyebabkan kerusakan sel, jaringan dan organ. Stres oksidatif

akan menyebabkan kerusakan pada jaringan testis terutama di tubulus seminiferus yang merupakan tempat berlangsungnya spermatogenesis, selain itu tingginya kadar ROS pada sel-sel spermatogenik dapat mengakibatkan seseorang mengalami infertilitas (Kardi dan Desimal, 2019). Radikal bebas dan stres oksidatif yang diakibatkan diazinon akan menimbulkan adanya efek neurotoksin pada sistem hipotalamus-hipofisis-gonad. Radikal bebas dan stres oksidatif akan menimbulkan kerusakan pada nukleus arkuata di hipotalamus yang menyebabkan terjadinya penurunan kerja hormon reproduksi yaitu *Gonadotropine Releasing Hormone* (GnRH), *Luteinizing Hormone* (LH), *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan testosteron, sehingga dapat mengganggu proses spermatogenesis dan mengakibatkan diameter tubulus seminiferus mengecil, serta jumlah lapisan sel-sel spermatogenik berkurang dan kepadatan sel interstisial menurun (Mahidin dkk, 2018).

Masalah kesuburan atau fertilitas merupakan hal yang sangat penting untuk menentukan kelangsungan hidup manusia beserta keragaman genetiknya. Kesuburan atau fertilitas pada pasangan dapat dinilai dari jumlah dan kualitas sel-sel reproduksi yaitu sel spermatogenik dan spermatozoa pada pria serta sel telur (ovum) pada wanita (Kardi dan Desimal, 2019). Pada pasangan yang mengalami infertilitas tentunya harus menjalani berbagai pengobatan untuk mempunyai keturunan. Salah satu alternatif untuk mengatasi permasalahan infertilitas diperlukan suatu tanaman obat yang memiliki kandungan antioksidan yang baik untuk menetralkan radikal bebas. Kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dicegah dan diperbaiki oleh senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, *zinc* dan arginin. Salah satu tanaman yang dipercayai mengandung senyawa flavonoid, *zinc* dan arginin dan mampu mengatasi permasalahan reproduksi yang diakibatkan oleh radikal bebas adalah tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) (Mahidin dkk, 2018).

Daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) sering dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia sebagai lalapan dan penguat aroma masakan. Selain itu, tanaman kemangi merupakan salah satu tanaman obat yang dipercaya memiliki berbagai khasiat, salah satunya untuk mengatasi masalah infertilitas (Valzon dan Marwan, 2018). Kandungan tanaman kemangi yang telah diteliti seperti flavonoid, *zinc* dan arginin ini diduga mampu memperbaiki masalah infertilitas. Salah satu kandungan aktif tanaman kemangi yang berpengaruh terhadap aktivitas reproduksi yaitu arginin. Arginin merupakan asam amino non-esensial dan bersifat polar yang sangat diperlukan dalam sintesis protein serta memiliki peran penting dalam sistem ketahanan tubuh dan imunitas seluler. Selain itu, asam amino arginin dapat meningkatkan hormon testosteron dan berperan aktif dalam proses spermatogenesis (Safwan dkk, 2016). Menurut Kurniawan (2013), daun kemangi juga digunakan sebagai afrodisiak karena memiliki kandungan arginin yang dapat memperkuat daya tahan spermatozoa dan mencegah kemandulan. Selain arginin, pada daun kemangi juga mengandung metabolit sekunder lain seperti flavonoid, *zinc*, minyak atsiri, fitosterol, alkaloid, senyawa fenolik, tanin, lignin, saponin, terpenoid dan antrakuinon (Safwan dkk, 2016). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun kemangi dapat meningkatkan fertilitas mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian diazinon terhadap jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid, sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)).
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) terhadap jumlah sel spermatosit primer mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) terhadap jumlah sel spermatid mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.
4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) terhadap jumlah sel Leydig mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.
5. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) terhadap diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.

1.3. Kerangka Pemikiran

Penggunaan pestisida sering digunakan dalam sektor pertanian di seluruh negara, termasuk Indonesia. Sebagai negara agraris yang sebagian besar penduduknya bekerja sebagai petani, Indonesia menempati posisi ketiga sebagai pengguna pestisida terbesar di dunia. Pestisida sering digunakan para petani karena memiliki manfaat untuk meningkatkan produksi hasil pertanian dan merupakan cara yang terbaik untuk membunuh hama tanaman yang menyebabkan gagal panen. Akan tetapi, penggunaan pestisida yang terlalu sering akan menimbulkan efek buruk akibat residu yang terurai di lingkungan. Salah satu pestisida yang sering digunakan oleh para petani di Indonesia adalah diazinon yang berasal dari golongan *organofosfat*. Paparan

diazinon ini dapat menyebabkan efek toksik yang menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), akibat kadar ROS yang tinggi sehingga akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Radikal bebas dan stres oksidatif yang diakibatkan oleh paparan diazinon akan menimbulkan efek neurotoksin pada sistem hipotalamus-hipofisis-gonad. Sehingga menimbulkan kerusakan di hipotalamus yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan kerja hormon reproduksi yang dapat mengganggu proses spermatogenesis. Apabila proses spermatogenesis terganggu maka seseorang akan mengalami infertilitas.

Pada pasangan yang mengalami infertilitas tentunya harus menjalani berbagai pengobatan untuk mempunyai keturunan. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah infertilitas diperlukan suatu tanaman obat yang memiliki kandungan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) adalah tanaman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat sebagai lalapan dan penguat aroma masakan, ternyata mengandung senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan dan agen fertilitas seperti flavonoid, *zinc* dan arginin. Senyawa flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dan menstabilkan ROS serta meningkatkan proses regenerasi membran sel yang rusak, pengaruh *zinc* memiliki efek untuk merangsang sel Leydig memproduksi hormon testosteron. Sedangkan arginin dapat meningkatkan hormon testosteron melalui pembentukan *nitric oxide* (NO) dan berperan aktif dalam proses spermatogenesis serta memperkuat daya tahan spermatozoa dan mencegah kemandulan.

1.4. Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Diazinon dapat menurunkan jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid, sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)).
2. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatosit primer mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.
3. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatid mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.
4. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan jumlah sel Leydig mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.
5. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) akibat induksi diazinon.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Stres Oksidatif dan *Reactive Oxygen Species* (ROS)

Stres oksidatif merupakan suatu kondisi terjadinya peningkatan kerusakan seluler yang disebabkan oleh oksigen yang berlebih, dikenal sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Kardi dan Desimal, 2019). Proses ini terjadi karena hasil dari ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan, peningkatan kadar ROS akan menghasilkan stres oksidatif. Kadar ROS yang melampui batas pertahanan antioksidan tubuh sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan sel, jaringan dan organ yang akan memicu terjadinya penurunan fungsi fisiologis (Fidianingsih and Ahsani, 2018). Pada reaksi ini akan menghasilkan radikal hidroksil (OH^-), radikal superoksida (O_2^-), radikal nitrit oksida (NO^-), dan radikal lipid peroksil (LOO^-) yang akan menyebabkan kerusakan sel dan dapat berpengaruh pada kualitas dan fungsi spermatozoa (Astuti, 2008).

Peningkatan ROS dapat merangsang terjadinya kerusakan suatu jaringan dengan mengaktifkan jalur persinyalan seluler. ROS sangat reaktif dan tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluar. Untuk menstabilkan ROS, ROS harus mendapatkan elektron dari asam nukleat, lipid, protein, karbohidrat atau molekul yang menginduksi reaksi berantai penyebab kerusakan sel dan penyakit (Van Langendonckt *et al*., 2002). Radikal bebas dan stres oksidatif akan menimbulkan adanya efek pada sumbu hipotalamus-hipofisis-testis yang berpotensi mengakibatkan adanya kerusakan dan penurunan jumlah sel spermatogenik dalam proses spermatogenesis (Nurcahyani dkk, 2018).

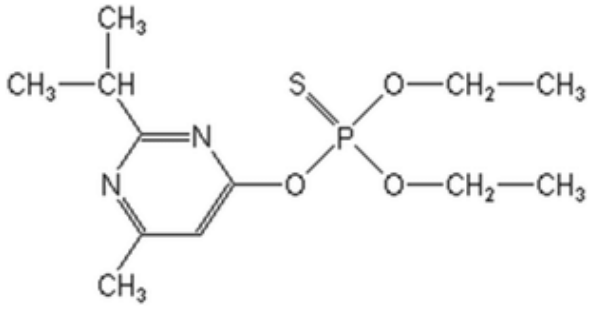
Pada sistem reproduksi mencit jantan, radikal bebas dan stres oksidatif menjadi faktor utama yang dapat mengakibatkan gangguan dalam proses spermatogenesis karena adanya peningkatan kerusakan pada sel-sel spermatogenik yang menyebabkan terjadinya apoptosis sel. Radikal bebas juga dapat menyebabkan terjadinya penurunan produksi hormon *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) yang berperan dalam merangsang terbentuknya hormon testosteron. Hal ini mengakibatkan jumlah hormon testosteron menurun dan proses spermatogenesis ikut terhambat (Irawati dkk, 2016). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh dengan jumlah yang banyak akan merusak sel target seperti lemak, protein, karbohidrat dan DNA (Anzila, 2017). Menurut Hadi (2011), kerusakan ini dapat menyebabkan terjadinya produksi spermatozoa di dalam testis menjadi berkurang.

Kondisi stres oksidatif dan radikal bebas yang terbentuk akan berikatan dengan *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) pada membran sel atau membran organel sel yang disebut dengan peroksidasi lipid. ROS dapat meningkatkan peroksidasi lipid sekaligus meningkatkan kadar MDA. *Malondialdehyde* (MDA) adalah molekul yang digunakan sebagai biomarker adanya stres oksidatif di dalam tubuh. MDA merupakan hasil dari reaksi peroksidasi lipid, peroksidasi lipid dapat diinisiasi oleh molekul yang mampu mengambil atom hidrogen dari ikatan *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) di membran sel. Radikal bebas cenderung berinteraksi dengan atom hidrogen pada PUFA untuk membentuk molekul yang stabil. Pada membran sel spermatogenik mengandung sejumlah besar asam lemak tak jenuh rantai panjang (PUFA) sehingga rentan terhadap peroksidasi lipid (Cahya dkk, 2022). Radikal bebas juga dapat menyebabkan kerusakan DNA spermatozoa khususnya pada integritas DNA pada inti yang dapat menimbulkan kematian sel (Kardi dan Desimal, 2019).

2.2. Diazinon

Diazinon merupakan insektisida yang umum digunakan dalam bidang pertanian, diazinon memiliki nama kimia (*O,O-diethyl-O-[2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimdinyl] phosphorothioate*) dari golongan *organofosfat* yang efektif digunakan untuk membunuh serangga (Shah dan Iqbal, 2010). Diazinon yang dikenal dengan nama dagang Diazinon 600 EC memiliki kemampuan dalam menghambat enzim *asetilkolinesterase* (AChE) yang dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas sehingga memicu terjadinya proses peroksidasi lipid dan akan menghasilkan produk akhir yaitu *Malondialdehyde* (MDA) yang sering dijadikan biomarker adanya stres oksidatif di dalam tubuh (Pratama dkk, 2019). Diazinon sering digunakan di bidang pertanian dan hortikultura dalam mengendalikan serangga hama pada tanaman hias, rumput, buah-buahan dan sayuran (Sargazi *et al*., 2016).

Diazinon memiliki rumus molekul $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ dan merupakan senyawa yang tidak berwarna serta bersifat tidak stabil. Senyawa dari golongan *organofosfat* ini lebih toksik terhadap serangga dan juga hewan-hewan bertulang belakang yang mempengaruhi sistem saraf dan menghambat fungsi enzim *asetilkolinesterase* (AChE) (Budiyono, 2012). Struktur kimia diazinon dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Diazinon (Boussabbeh *et al*., 2016)

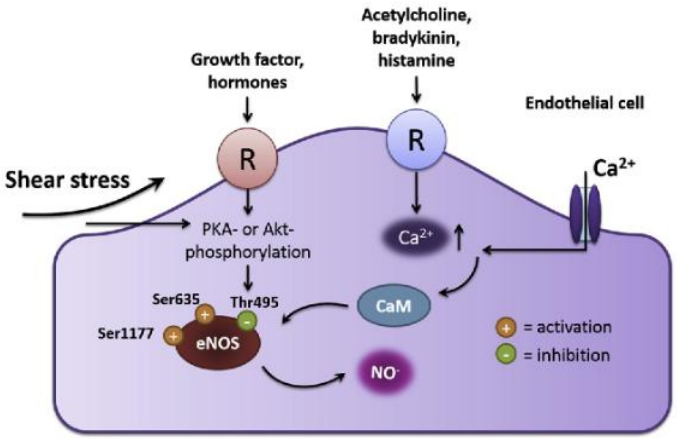
Diazinon dapat masuk ke dalam tubuh dengan mudah karena memiliki sifat lipofilik sehingga cepat diabsorpsi melewati saluran pencernaan, saluran

pernafasan dan kulit. Diazinon secara cepat diabsorpsi secara oral, absorpsi diazinon melalui pernafasan dan kulit sangat terbatas. Bioavailabilitas diazinon secara oral yang dilarutkan dalam *corn oil* memiliki rentang 70% sampai 80% (Herdiana, 2019). Hal ini disebabkan oleh metabolisme diazinon di usus halus yang merupakan tempat *first-pass detoxification* yang menurunkan bioavailabilitas oral diazinon. Absorpsi diazinon melalui kulit hanya sebesar 4%, maka efek toksik diazinon hanya terjadi pada dosis tinggi (Herdiana, 2019).

Toksisitas yang ditimbulkan oleh diazinon ialah menghambat AChE dengan membentuk kompleks fosforilasi yang stabil dan tidak dapat diubah kembali (bersifat *irreversible*), sehingga tidak dapat memecah *asetilkolin* (ACh) pada sinapsis dan ganglion sinapsis (Herdiana, 2019). Pemberian diazinon dapat menyebabkan kerusakan sel di dalam tubuh karena diazinon meningkatkan produksi derivat oksigen reaktif (ROS) seperti *superoxide* ion (O_2^-), *hydrogenperoxide* (H_2O_2), dan *peroxylradical* (OH^-) serta radikal bebas lain seperti *nitricoxide* (NO) (Ozbek, 2012). Radikal bebas ROS ini sangat reaktif dalam mengoksidasi makromolekul seperti DNA, lemak, asam nukleat dan protein yang dapat menimbulkan kelainan gen. Menurut penelitian Wulandari *et al*. (2007) pemberian diazinon dengan dosis 40, 50 dan 60 mg/kgBB pada 3 kelompok tikus selama 5 hari ini dapat menyebabkan tikus mengalami kongesti, piknosis dan nekrosis jaringan. Penelitian tersebut sejalan juga dengan penelitian Mahdi *et al*. (2019) pemberian diazinon dengan dosis 40mg/kgBB pada tikus selama 5 hari menunjukkan lambung tikus mengalami nekrosis dan kerusakan sel.

Diazinon setelah masuk ke dalam tubuh akan dimetabolisme oleh hati dan akan membentuk metabolit aktif berupa *diazoxon*. *Diazoxon* akan menghambat enzim AChE yang menyebabkan ACh tetap berikatan dengan reseptor yaitu *caveolin*. Ikatan antara ACh dan reseptornya akan meningkatkan influks ion kalsium (Ca^{2+}) yang selanjutnya akan berikatan dengan *calmodulin* (CaM). Ikatan tersebut mengaktifkan *calmodulin*-

binding domain dari *endothelial nitricoxide synthase* (eNOS) yang hasilnya berupa NO. Proses pembentukan NO dapat dilihat pada Gambar 2. Ketika produksi NO tinggi, *glutathione* (GSH) akan mengikat NO lalu ikatan ini akan mengurangi jumlah GSH. Apabila produksi NO lebih banyak dari GSH maka akan terjadi akumulasi ROS yang melebihi sistem pertahanan antioksidan, sehingga akan memicu terjadinya stres oksidatif (Zhao *et al*., 2015). GSH yang jumlahnya sedikit akan mengakibatkan terbentuknya radikal bebas seperti radikal hidroksil (OH), *superoxide anion radikal* (O^2), dan *peroxyl radikal* (ROO) tidak dapat dinetralkan. Radikal bebas ini dapat bereaksi dengan asam lemak tak jenuh (PUFA) yang banyak terdapat pada membran sel termasuk tubulus seminiferus dan spermatozoa sehingga terjadi peroksidasi lipid (Herdiana, 2019).



Gambar 2. Proses Pembentukan NO (Zhao *et al*., 2015)

2.3. Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758))

Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) adalah hewan mamalia pengerat yang memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuhnya yang kecil. Mencit sering dijadikan sebagai hewan percobaan dalam penelitian ilmiah. Mencit dapat hidup di berbagai kondisi yaitu mulai dari iklim dingin, sedang maupun panas dan dapat hidup di kandang ataupun bebas sebagai hewan liar. Mencit dapat beradaptasi dengan baik pada suhu lingkungan yang tinggi maupun

pada suhu yang rendah. Mencit tergolong hewan *nocturnal* yaitu lebih banyak melakukan aktivitasnya di malam hari (Prasetiyo, 2022).

2.3.1. Klasifikasi

Mencit merupakan hewan dari Family Muridae atau tikus- tikusan, akan tetapi mencit memiliki ukuran lebih kecil dari tikus lainnya. Menurut database *Integrated Taxonomic Information System* (2024), hewan mencit memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Mamalia
Order : Rodentia
Family : Muridae
Genus : *Mus*
Species : *Mus musculus* (Linnaeus, 1758)

2.3.2. Anatomi dan Fisiologi

Mencit tergolong hewan mamalia yang berkembang biak dengan cepat dan jumlah anak per kelahiran banyak, memiliki siklus hidup yang pendek, mudah dipelihara, memiliki karakteristik reproduksi, struktur anatomi, fisiologis serta genetik yang mirip dengan manusia. Oleh karena itu, mencit sering menjadi hewan model dalam praktikum maupun penelitian di Laboratorium (Mutiarahmi *et al*., 2021). Mencit termasuk hewan mamalia pengerat yang berukuran lebih kecil dari tikus, luas permukaan tubuh mencit sekitar 36 cm^2. Pada waktu lahir bobot mencit sekitar 0,5-1,5 gram yang dapat meningkat hingga 45 gram. Mencit betina dewasa memiliki berat badan sekitar 25-45 gram sedangkan mencit jantan dewasa memiliki

berat badan sekitar 20-40 gram (Nugroho, 2018). Mencit memiliki rambut halus berwarna putih di tubuhnya serta ekor berwarna merah muda dengan ukuran yang lebih panjang daripada badan dan kepalanya (Gambar 3). Secara umum mencit memiliki ciri-ciri yaitu tekstur rambut yang lembut dan halus, memiliki daun telinga (*pinna*), memiliki gigi tua dan muda yang hanya sepasang berbentuk seperti pahat, bentuk hidung seperti kerucut terpotong, eritrosit tidak bernukleus, otak dengan 4 *lobus opticus*, bentuk badan silindris sedikit membesar ke belakang, jumlah jari di setiap kaki tidak lebih dari 5, testis abdominal, mata berwarna merah serta ekor berwarna merah muda (Nugroho, 2018).

Gambar 3. Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) (Dokumentasi Pribadi)

Mencit biasanya dapat hidup hingga berumur 1-3 tahun dan mencit memiliki masa reproduksi yaitu 1,5 tahun (Nugroho, 2018). Mencit jika diperlakukan dengan baik maka akan mudah dalam penanganannya, sebaliknya jika mencit diperlakukan secara kasar maka akan menimbulkan sifat yang agresif dan dapat menggigit pada kondisi tertentu. Tempat yang baik untuk memelihara mencit harus dijaga kebersihannya dan terhindar dari kebisingan. Umumnya mencit dapat hidup pada suhu ruang sekitar 18-19 derajat celcius, dan juga kelembaban udara antara 30-70%. Mencit yang akan digunakan untuk bahan percobaan harus diberikan makanan yang memiliki unsur-unsur penunjang atau tambahan, contoh unsur

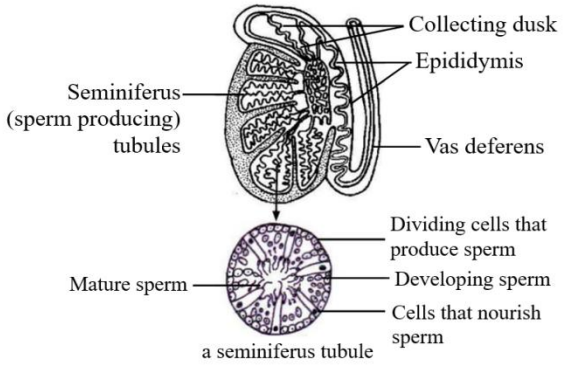
utamanya seperti karbohidrat, lemak dan protein. Sedangkan untuk unsur tambahannya seperti vitamin, mineral dan air. Mencit membutuhkan makanan untuk setiap harinya sekitar 3-5 gram, kualitas pakan merupakan faktor yang harus diperhatikan karena kualitas makanan mencit sangat berpengaruh terhadap kondisi mencit seperti pertumbuhan, berkembang biak serta perlakuan terhadap pengobatan (Noradiana dan Herlina, 2021).

2.3.3. Sistem Reproduksi Mencit Jantan

Mencit jantan mempunyai organ reproduksi yaitu testis, kantong skrotum, epididimis, vas deferens, kelenjar aksesori, uretra dan penis. Pada mencit jantan maupun betina organ reproduksinya akan mencapai kematangan seksual pada umur 10-12 minggu (Nugroho, 2018). Testis merupakan organ reproduksi pada mencit jantan berbentuk oval dan berjumlah dua buah berukuran sama besar yang fungsinya untuk menghasilkan spermatozoa di dalam tubulus seminiferus dan mensekresikan hormon kelamin jantan yaitu testosteron (Basiru *et al*., 2022).

Testis ditutupi oleh tunica vasculosa, tunica albuginea dan tunica vaginalis. Tunica vasculosa adalah lapisan pembuluh darah tipis, lapisan ini berperan sebagai lapisan pelindung di bagian dalam testis. Selanjutnya, lapisan tunica albuginea merupakan lapisan pelindung yang tebal terdiri dari serat padat dan lapisan jaringan terluar yaitu tunica vaginalis. Tunica vaginalis terdiri atas tiga lapisan yaitu lapisan yang pertama adalah lapisan visceral untuk menutupi tunica albuginea dan juga melindungi tubulus seminiferus, lalu lapisan kedua yaitu lapisan cavum vagina yang merupakan ruang kosong antara lapisan visceral dengan lapisan terluar tunika vaginalis, selanjutnya lapisan ketiga yaitu lapisan pariental yaitu lapisan

pelindung terluar yang hampir seluruhnya mengelilingi struktur testis (Matsumoto and Bremner, 2016). Anatomi testis mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Anatomi Testis Mencit Jantan (Lawson, 2007)

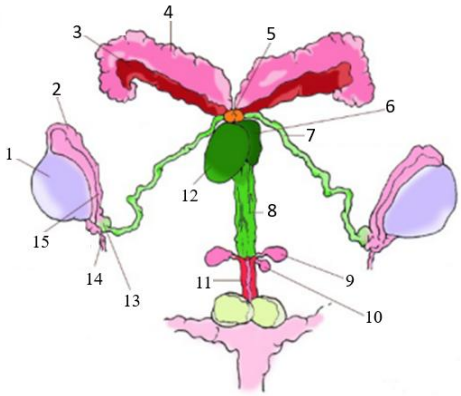
Epididimis terdiri dari bagian caput, corpus dan cauda. Epididimis berfungsi sebagai tempat pematangan spermatozoa dan tempat untuk penyimpanan sementara spermatozoa yang belum matang. Pematangan spermatozoa ditandai dengan hilangnya protoplasmik droplet pada bagian kepala spermatozoa. Epididimis pada bagian caput berfungsi untuk penyerapan cairan yang dikeluarkan oleh testis. Fungsi lain dari epididimis adalah memberikan sekresi cairan yang diproduksi oleh sel-sel epitelnya untuk membantu perubahan morfologi akrosom yaitu melalui kondensasi inti, pelepasan sitoplasma, peningkatan muatan negatif dan penambahan lapisan glikoprotein. Spermatozoa yang berasal dari epididimis akan diteruskan menuju vas deferens (Nugroho, 2018).

Vas deferens merupakan saluran berkelok-kelok dengan lumen yang dibatasi oleh kelompok sel epitel bersilia (Nugroho, 2018). Vas deferens berfungsi mengangkut sperma dari *cauda* epididimis ke uretra. Vas deferens mempunyai dinding yang tersusun dari otot-otot licin yang berperan penting dalam mekanisme pengangkutan semen pada saat ejakulasi. Pada bagian ujung vas deferens ini dikelilingi oleh kelenjar-kelenjar yang disebut ampula. Sebelum masuk uretra,

vas deferens bergabung terlebih dahulu dengan saluran pengeluaran vasikula seminalis dan membentuk duktus ejakulatorius. Dari duktus ejakulatorius kemudian berlanjut ke uretra yang merupakan saluran pengangkut sperma dari vas deferens ke penis (Nugroho, 2018).

Duktus ejakulatorius memiliki otot-otot yang kuat dan berfungsi selama ejakulasi. Saluran ini akan bermuara pada uretra. Uretra tersusun dari sekelompok sel epitel transisional, jaringan ikat longgar, serta banyak pembuluh darah dan dibungkus lapisan otot lurik yang tebal (Nugroho, 2018).

Penis atau organ kopulasi mencit berfungsi sebagai alat pengeluaran urin dan penyaluran cairan semen ke dalam organ saluran reproduksi mencit betina. Penis mencit terdiri dari beberapa bagian-bagian yaitu korpus kavernosum, korpus kavernosum uretra dan preputialis. Korpus kavernosum penis diselubungi oleh *tunica albuginea*, yaitu suatu selaput fibrosa tebal berwarna putih dan membentuk badan penis. Kepala penis merupakan bagian ujung penis yang ditutupi oleh preputium (Nugroho, 2018). Struktur anatomi reproduksi mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Anatomi Reproduksi Mencit Jantan (1) Testis kanan, (2) Kepala epididimis, (3) Kelenjar koagulasi, (4) Vesikula seminalis, (5) Ampula, (6) Prostat ventral, (7) Vas deferens, (8) Uretra, (9) Kelenjar bulbouretra, (10) Divertikulum uretra, (11) Penis, (12) Kandung kemih, (13) Ekor epididimis, (14) Gubernakulum, (15) Badan epididimis (Nugroho, 2018)

2.3.4. Hormon Reproduksi Mencit Jantan

Mencit jantan memiliki hormon reproduksi yaitu hormon testosteron yang berperan dalam berlangsungnya proses spermatogenesis. Hormon-hormon yang juga berperan penting pada proses spermatogenesis untuk mengatur fungsi seksual adalah *Luteinizing Hormone* (LH), dan *Folikel Stimulating Hormone* (FSH) (Nurjanah, 2017). Hormon pada mencit jantan juga memiliki kesamaan pada hormon manusia yaitu *Gonadotropic Releasing Hormone* (GnRH), pusat pengendalian hormonal dari sistem reproduksi yaitu pada sumbu hipotalamus-hipofisis. Hipotalamus memproduksi GnRH yang fungsinya untuk menstimulasi kelenjar hipofisis anterior untuk mensekresi *gonadotropin* berupa FSH dan LH yang berperan penting dalam proses reproduksi (Priyandari, 2015).

Testosteron dan FSH berperan penting dalam proses spermatogenesis. FSH adalah hormon yang diproduksi oleh kelenjar pituitary anterior berfungsi untuk merangsang sperma. FSH menstimulus sel Sertoli untuk mensintesis ABP yang fungsinya untuk mengikat hormon testosteron yang disekresikan oleh sel Leydig untuk dibawa ke lumen tubulus seminiferus yang digunakan dalam proses spermatogenesis (Sari dkk, 2018). LH adalah hormon yang disekresi oleh kelenjar *pituitary anterior* berfungsi untuk menstimulasi sel Leydig dalam mengekresi hormon testosteron. Sekresi LH yang meningkat akan memicu pertumbuhan dan jumlah sel Leydig yang dapat mensekresi hormon testosteron meningkat. Hal ini dikarenakan sel Leydig merupakan tempat terjadinya proses steroidogenesis yang menghasilkan hormon testosteron (Nurjanah, 2017).

Hormon utama yang berperan penting dalam sistem reproduksi jantan adalah hormon testosteron. Testosteron merupakan hormon

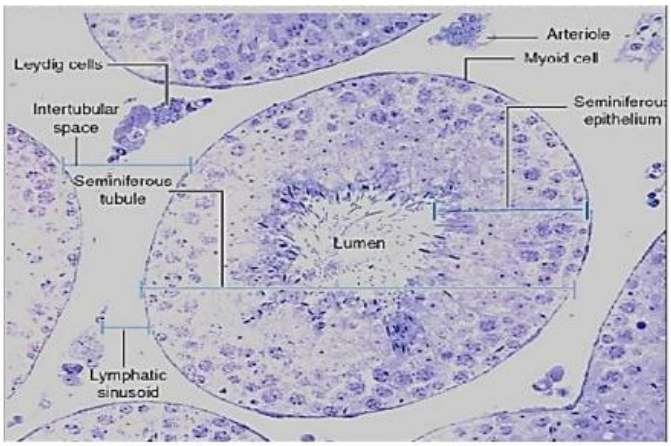
seks yang berfungsi untuk membantu mempertahankan masa tulang dan otot, distribusi lemak, meningkatkan libido serta memproduksi sperma. Hormon ini berfungsi penting dalam tahap pembelahan sel germinal untuk merangsang pertumbuhan sel-sel spermatogenik seperti spermatogonium, perkembangan spermatosit primer dan sekunder serta proses diferensiasi spermatid menjadi spermatozoa (Sari dkk, 2018).

2.4. Tubulus Seminiferus

Tunika albuginea merupakan lapisan tipis yang menutupi testis berbentuk jaringan ikat berserat. Lapisan ini membagi bagian dalam testis menjadi sekitar 200-300 lobus yang lebih kecil, pada setiap lobus mengandung satu hingga tiga saluran berpilin yang disebut tubulus seminiferus. Proses pembentukan sperma terjadi di dalam tubulus seminiferus melalui spermatogenesis (Rizzo, 2010). Tubulus seminiferus adalah bagian dalam testis yang berfungsi untuk memproduksi spermatozoa. Tubulus seminiferus memiliki ukuran panjang sekitar 30-70 cm dengan diameter sebesar 150-250 μm dan memiliki saluran yang berkelok-kelok yang dilapisi oleh epitel berlapis majemuk terdapat dalam lobulus testis.

Tubulus seminiferus mempunyai lumen tunggal yang berada di tengah dan tersusun atas lapisan epitel seminiferus (Gambar 6). Epitel seminiferus terdiri atas dua sel yaitu sel spermatogenik yang terdiri dari spermatogonia, spermatosit primer dan sekunder serta spermatid dan sel Sertoli yang terletak di membran basal. Tubulus seminiferus terdiri atas sel-sel spermatogenik dan sel Sertoli yang berperan dalam pemberian nutrisi untuk spermatozoa berkembang (Herlina dkk, 2021). Sel-sel spermatogenik tersebut tersebar di empat sampai delapan lapisan yang menempati ruangan diantara lamina basalis dan lumen tubulus seminiferus. Tubulus seminiferus mengandung dua jenis sel yang fungsinya sangat penting dalam proses

pembentukan spermatogenesis, yaitu sel Germinativum dan sel Sertoli (Sherwood *et al*., 2011). Tubulus seminiferus berisi sel-sel berlapis yang kompleks tersusun dari unsur-unsur yaitu tunika fibrosa yang mencakup beberapa lapisan fibrosa, lamina basalis yang berperan sebagai *immature* sel spermatogonium dan epitel germinativum yang terdiri dari sel spermatogenik dan sel penyokong (sel Sertoli).



Gambar 6. Histologi Tubulus Seminiferus (Tortora and Derrickson, 2014)

Tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat longgar interstisial dan sel Leydig, di dalam tubulus seminiferus sendiri dilapisi dengan epitel seminiferus yang terdiri atas sel Sertoli atau sel penyokong dan sel-sel spermatogenik. Sel punca spermatogenik biasa disebut dengan spermatogonia, ini terletak di sepanjang lamina basalis, di tepi tubulus dan diantara sel Sertoli (Mescher, 2014). Sel spermatogonia merupakan sel yang berada dekat dengan membran basal, bentuknya bulat dengan nukleus bulat dan kromatin nukleusnya halus. Sel spermatosit primer bentuknya bulat besar dan terletak mengarah ke lumen tubulus seminiferus, nukleusnya berbentuk bulat dengan kromatin yang kasar padat. Pada sel spermatosit sekunder jarang terlihat karena umurnya pendek. Sedangkan spermatid merupakan sel yang berukuran kecil, bulat dan letaknya lebih mengarah ke lumen tubulus seminiferus dengan inti sel hampir menutupi seluruh sitoplasmanya. Spermatozoa biasanya terletak berkelompok dan memenuhi bagian tengah lumen tubulus seminiferus serta memiliki flagel sebagai ekor.

Secara umum bagian-bagian tubulus seminiferus terbagi atas sel spermatogenik, sel Sertoli dan juga sel Leydig yang dapat dilihat pada Gambar 7:

1) Sel spermatogenik

   Sel spermatogenik berasal dari sel germinal primordial yaitu sel yang berada pada tubulus seminiferus yang dapat bereplikasi dan mengalami maturasi. Hasil akhir dari proses tersebut akan menghasilkan sperma yang matur. Sel germinal yang imatur memiliki karakteristik seperti dibawah ini:

   a. Spermatogonium

      Spermatogonium adalah sel spermatif yang letaknya di samping lamina basalis (Gambar 7). Sel spermatogonium berbentuk oval kecil, bergaris tengah sekitar 12 μm dan intinya mengandung kromatin yang pucat (Herlina dkk, 2021). Spermatogonium memiliki tiga jenis tipe yaitu spermatogonium tipe A terang, spermatogonium tipe A gelap dan spermatogonium tipe B. Spermatogonium tipe A adalah sel induk untuk garis keturunan spermatogenik, sedangkan spermatogonium tipe B adalah sel progenitor yang akan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Spermatogonium tipe A baik yang terang maupun gelap memiliki kesamaan yaitu bentuknya oval dan mempunyai inti yang berbentuk bulat atau lonjong yang melekat pada membran inti serta memiliki kromatin yang bergranula halus (Gartner and Hiatt, 2012). Dalam membedakan sel spermatogonium tipe A terang dan tipe A gelap yaitu pada kromatin spermatogonium tipe A terang terlihat lebih jelas daripada spermatogonium tipe A gelap. Sedangkan spermatogonium tipe B mempunyai bentuk nukleus yang bulat (Gartner and Hiatt, 2012) dengan nukleolus yang terdapat di tengah, dan mempunyai massa kromatin padat yang berada pada membran inti (Ross and Pawlina, 2011).

b. Spermatosit Primer

Spermatosit primer adalah sel terbesar dalam turunan spermatogenik dan ditandai dengan adanya kromosom dalam tahap proses penggelungan yang berbeda di dalam intinya serta memiliki 46 (44+XY) kromosom dan 4N DNA (Herlina dkk, 2021). Spermatosit primer letaknya mengarah ke permukaan epitel (Gambar 7), bentuknya bulat dengan inti eukromatik (Mescher, 2012) yang lebih terang daripada spermatogonium (Ross and Pawlina, 2011).

c. Spermatosit Sekunder

Spermatosit sekunder adalah sel yang memiliki ukuran lebih kecil dari spermatosit primer dan kromatin intinya kurang padat (Ross and Pawlina, 2011). Spermatosit sekunder jarang diamati dan sulit untuk diamati karena umurnya pendek yang berada dalam fase *interfase* yang sangat singkat dan cepat memasuki pembelahan kedua. Spermatosit sekunder memiliki 23 kromosom (22+X atau 22+Y) dengan pengurangan DNA setiap sel dari 4N menjadi 2N. Pembelahan spermatosit sekunder akan menghasilkan spermatid (Herlina dkk, 2021).

d. Spermatid

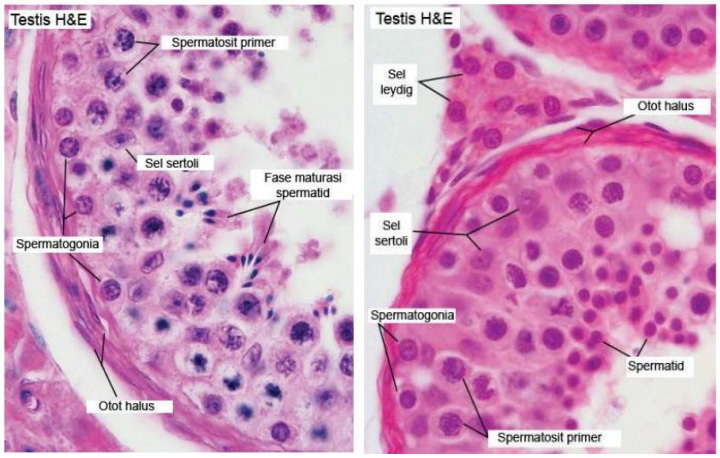
Spermatid memiliki ukuran yang lebih kecil daripada spermatosit primer dan sekunder, garis tengahnya berukuran 7-8 μm (Gambar 7.), inti dengan daerah-daerah kromatin padat. Bentuk sel maupun intinya bulat dengan inti menutupi seluruh permukaan sel (Ross and Pawlina, 2011). Spermatid mengandung 23 kromosom karena tidak ada fase S (sintesis DNA) yang terjadi karena pada pembelahan meiosis pertama dan kedua terjadi di spermatosit, maka jumlah DNA per sel dikurangi setengahnya selama pembelahan kedua ini menghasilkan sel-sel yang *haploid* 1N (Herlina dkk, 2021).

2) Sel Sertoli

Sel Sertoli adalah sel piramid memanjang berbentuk kolumnar yang terletak di epitel tubulus seminiferus. Sel Sertoli melekat pada lamina basalis dan ujung apeksnya sering meluas ke dalam lumen tubulus seminiferus. Sel Sertoli ini berperan dalam menyokong, melindungi dan mengatur nutrisi spermatozoa (Herlina dkk, 2021). Sel ini mempunyai inti yang lonjong atau memanjang yang sering berbentuk segitiga dengan kromatin yang jarang dan halus. Sitoplasmanya berwarna jernih dan memiliki *nucleolus* yang mencolok (Ross and Pawlina, 2011).

3) Sel Leydig

Sel Leydig merupakan sel yang letaknya di jaringan interstisial testis dekat pembuluh darah kapiler dan di antara tubulus seminiferus. Sel Leydig berbentuk ovoid memiliki diameter berukuran 20 μm dan memiliki sitoplasma eusinofilik serta mengandung cairan lipid. Sel Leydig letaknya 17 berkelompok memadat pada daerah segitiga yang terbentuk oleh susunan tubulus seminiferus (Gambar 7) (Junqueira *et al*., 2007). Sel Leydig berfungsi sebagai sumber utama dari hormon androgenik untuk menghasilkan hormon testosteron oleh rangsangan *gonadotropin pituitary* dengan stimulasi *Luteinizing Hormone* (LH) (Varghese *et al*., 2014), yang penting untuk diferensiasi seksual jantan, pematangan gamet dan fungsi reproduksi. Sel Leydig akan aktif menjadi sel yang mensekresi androgen saat mendapat stimulasi dari *Luteinizing Hormone* (LH) pada masa pubertas dan akan tetap aktif sepanjang kehidupan (Plant, 2015).



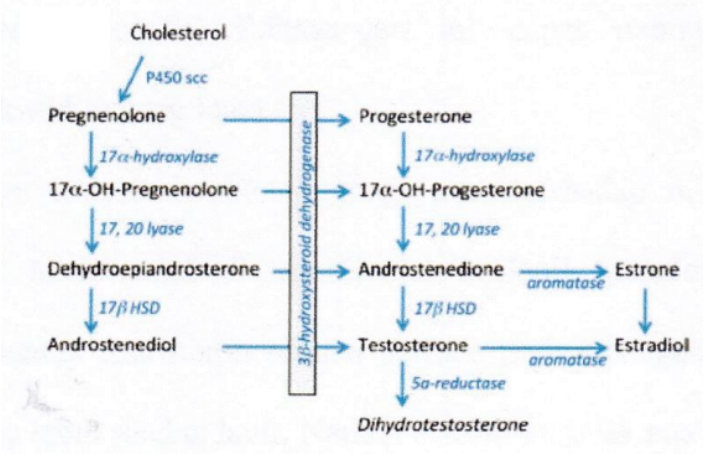
Gambar 7. Histologi Testis Bagian-bagian Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) (Herlina dkk, 2021)

2.5. Steroidogenesis

Steroidogenesis merupakan tahapan reaksi enzimatik untuk memproduksi hormon steroid pada pria. Kolesterol merupakan bahan pembentuk hormon steroid. Pada kelenjar adrenal kolesterol akan mengalami esterifikasi dan disimpan dalam butiran lemak di sitoplasma. Rangsangan dari adrenokortikotropin hormon (ACTH) yang di sekresi oleh hipofisis anterior ke kelejar adrenal menyebabkan hidrolisis kolesterol ester menjadi kolesterol bebas dan menyebabkan perpindahan kolesterol menuju mitokondria. Kolesterol akan berubah menjadi pregnolon akibat adanya enzim pemutus rantai samping sitokrom P450 scc. Pregnolon merupakan prekursor kolesterol yang mensintesis hormon testosteron. KolestroI diubah menjadi pregnolon lalu menjadi DHEA. DHEA diubah lagi menjadi androstenedion dan akhirnya menjadi testosteron. Aromatase akan mengubah testosteron menjadi estrogen (Schiffer *et al*., 2019).

Aromatase adalah enzim yang berperan sebagai katalis dalam proses steroidogenesis untuk mengkonversi testosteron (androgen) menjadi estradiol (estrogen) (Permatasari dan Widhiantara, 2017). Testosteron membantu mengaktifkan enzim-enzim steroidogenesis seperti p450c17 dan

17ß *hidroksisteroid dehidrogenase* (17ß-HSD) yang dapat menunjang aktivitas diferensiasi sel Leydig sehingga dapat meningkatkan jumlah sel Leydig (Paramita dkk, 2023). Alur biosintesis hormon steroid testis dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Alur Biosintesis Hormon Steroid Testis (Schiffer *et al*., 2019)

2.6. Spermatogenesis

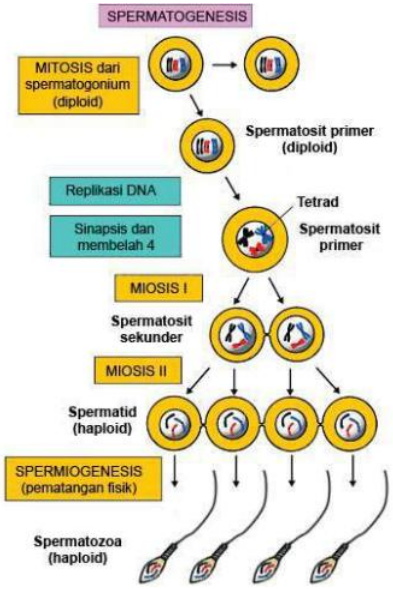
Spermatogenesis merupakan proses pembentukan sel spermatozoa yang berlangsung di testis, tepatnya di tubulus seminiferus yang akan berkelanjutan sepanjang masa reproduksi (Soeradi dan Nugroho, 2002). Spermatogenesis ini dapat terjadi karena adanya rangsangan hormonal terhadap hormon *gonadotropin* yang dihasilkan oleh hipotalamus lalu selanjutnya hipofisis anterior merangsang dan mengeluarkan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) yang bekerja dalam proses spermatogenesis (Priyandari, 2015). Apabila terjadi penurunan hormon LH dan FSH maka akan menyebabkan penurunan sekresi hormon testosteron yang dapat menyebabkan proses spermatogenesis terganggu.

Spermatozoa pertama kali terbentuk mulai dari sel spermatogonia yang merupakan *stem cell*. Sel spermatogonia yang terdiri dari komponen diploid

akan berdiferensiasi menjadi spermatozoa yang motil. Dalam proses proliferasi ini, sel spermatogonia akan berdiferensiasi menjadi sel yang lebih besar yaitu menjadi sel spermatosit primer yang juga diploid. Sel spermatosit primer yang terbentuk memiliki 46 kromosom (diploid), selanjutnya sel spermatosit primer akan mengalami pembelahan meiosis sekitar 22 hari. Tahapan meiosis ini akan terjadi selama dua fase, fase pertama (meiosis I) sperma akan mengalami replikasi DNA dan akan menghasilkan dua sel spermatosit sekunder yang haploid yang masing-masing memiliki 23 kromosom. Setiap sel spermatosit sekunder ini memiliki dua kromatid, yang kemudian akan mengalami pemisahan menghasilkan empat sel spermatid pada pembelahan (meiosis II) yang memiliki jumlah 23 kromosom tunggal. Struktur sel spermatid masih seperti sel epitel, tahap selanjutnya yaitu tahap akhir pada spermatogenesis yaitu spermiogenesis. Pada tahap ini, sel spermatid yang masih berbentuk sel epitel akan mengalami pemanjangan dan berdiferensiasi menjadi sel spermatozoa (Sherwood, 2016). Selanjutnya, sel spermatozoa akan memasuki lumen tubulus seminiferus dengan bantuan cairan yang dihasilkan oleh sel Sertoli. Selama fase spermiogenesis, sel spermatid akan mengalami diferensiasi menjadi sel spermatozoa yang meliputi pembentukan kepala, akrosom, ekor, kondensasi dan pemanjangan inti, serta sebagian sitoplasma hilang (Guyton and Hall, 2014). Tahapan spermatogenesis dapat dilihat pada Gambar 8.

Busman (2020) juga menyatakan bahwa sel spermatozoa terdiri dari tiga bagian utama, yaitu kepala, akrosom, dan ekor. Kepala spermatozoa yang 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 berfungsi untuk pergerakan spermatozoa. Bentuk spermatozoa yang sempurna adalah sel yang memanjang, terdiri dari bagian kepala yang di dalamnya terdapat nukleus, dan ekor yang mengandung

aksonema untuk pergerakan sel. Pada bagian kepala terdapat akrosom yang memiliki struktur dinding yang rangkap terletak diantara membran plasma bagian anterior nukleus, leher sebagai penghubung kepala dan ekor. Pada bagian ekor dibagi lagi menjadi beberapa bagian yaitu bagian tengah, pokok dan akhir yang mempunyai struktur berbeda-beda (Susilawati, 2011).



Gambar 9. Proses Spermatogenesis (Susilawati, 2011)

2.7. Tanaman Kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.)

Tanaman kemangi merupakan tanaman herbal yang biasa dikonsumsi masyarakat Indonesia sebagai makanan pelengkap. Tanaman ini memiliki aroma dan rasa yang khas dan secara tradisional tanaman kemangi sering digunakan masyarakat sebagai obat tradisional (Klau dkk, 2021), seperti mengobati sakit perut, penghilang bau mulut, dan obat demam. Tanaman ini berasal dari India, kemudian tersebar luas di Asia, Afrika, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Kemangi banyak dibudidayakan secara komersial di Eropa bagian selatan, Maroko, Mesir, California, dan Indonesia. Kemangi di Indonesia memiliki banyak nama lokal, misalnya di Pulau Jawa kemangi

dikenal dengan nama lempes/sarawung/uku-uku, dan dikenal dengan lufe-lufe di Ternate (Maghfoer, 2019).

2.7.1. Klasifikasi

Tanaman kemangi dalam ilmu taksonomi dikenal sebagai *Ocimum basilicum* Linn. dan tergolong dalam keluarga Lamiaceace atau tumbuhan berbunga. Menurut database *Integrated Taxonomic Information System* (2024), klasifikasi tanaman kemangi adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Lamiales
Family : Lamiaceace
Genus : *Ocimum*
Species : *Ocimum basilicum* Linn.

2.7.2. Morfologi

Tanaman kemangi banyak tumbuh di daerah tropis dan merupakan tanaman herba yang tergolong tanaman semak perdu dengan tinggi 30 cm – 60 cm, apabila tumbuh di lahan yang subur, ketinggian tanaman dapat mencapai 150 cm. Kemangi memiliki batang pokok berwarna hijau keunguan, berbentuk tajuk membulat, dan memiliki bulu-bulu berwarna hijau. Panjang daun tanaman kemangi mencapai 2,5-5 cm atau lebih dengan tangkai daun mencapai panjang 1,3-2,5 cm. Daun berwarna hijau serta memiliki bau yang khas, terkadang langu, harum, atau manis. Sistem perakarannya tunggang berwarna putih dengan ujung akar berwarna coklat (Larasati, 2020).

Daun kemangi merupakan daun tunggal dengan bentuk bulat telur, runcing pada bagian ujung daun dan tumpul pada bagian pangkalnya, serta sistem pertulangannya menyirip (Gambar 9). Tulang daun kemangi menyirip, namun bergerigi dangkal serta bergelombang, daging daun tipis, permukaannya berambut halus, memiliki panjang daun sepanjang 2,5 – 7,5 cm dengan lebar sebesar 1 – 2,5 cm, tangkai daun berpenampang membundar sepanjang 1- 2 cm, berambut halus berwarna hijau muda hingga hijau keunguan. Epidermis atas dapat dilihat pada potongan melintang daun melalui tulang daun, di dalamnya terdapat lapisan sel-sel kecil, berbentuk segi empat, warna bening, dindingnya tipis, kutikula tipis serta licin. Pada lapisan bawah epidermis terdapat sel-sel kecil yang berbentuk segi empat, berwarna bening, berdinding tipis, dan kutikula tipis serta halus. Jaringan palisade mengandung satu lapis sel yang berbentuk silinder panjang dan mengandung banyak klorofil (Rona, 2020).

(a) (b)

Gambar 10. (a) Daun Kemangi, (b) Bunga Kemangi (NC State, 2024)

Kemangi termasuk kedalam Famili Lamiaceace, yaitu tumbuhan berbunga. Bunga kemangi tumbuh dari bagian ujung batang, cabang, dan ranting (Rukmana, 2016). Bunga kemangi tersusun dalam karangan bunga (*inflorescentia*). Setiap karangan tersusun atas 1-6 cabang. Bunga kemangi terdiri atas dua bagian, yaitu:

a. Bunga tunggal

   Berbentuk bulat telur, mahkota bunga berwarna putih hingga keunguan, bagian bunganya tertutup rambut-rambut halus yang pendek dan berwarna kehijauan seperti dapat dilihat pada Gambar 9 (b).

b. Bunga majemuk

   Bunga majemuk berwarna putih keunguan, kelopak bunga berurat dan berwarna hijau serta ditutupi oleh rambut-rambut halus (Anggraini dkk, 2017). Kemangi termasuk *indeterminate* atau bunga majemuk tidak terbatas pertumbuhan monopodial. Pucuk tangkai bunga terus tumbuh, dan bunga-bunga mekar dari bawah ke atas. Bunga majemuk kemangi termasuk kedalam jenis bunga tandan (*receme, recemus, botrys*), yaitu bunga-bunga individual bertangkai yang tertancap di sepanjang ibu tangkai bunga yang tak bercabang (Tjitrosoepomo, 2009).

Buah kemangi berbentuk kotak, berwarna coklat tua dan tegak dengan ujung membentuk kait melingkar. Panjang kelopak buah 6-9 mm. Setiap buah kemangi terdiri atas empat biji (Rukmana, 2016). Kemangi memiliki biji berukuran kecil, bertekstur keras, dan berbentuk bulat telur atau bulat lonjong dengan diameter ±1 mm. biji muda berwarna putih, kemudian setelah menua akan berubah warna menjadi coklat atau kehitaman. Saat dipetik biji akan membengkak dan jika dimasukkan ke dalam air akan semakin mengembang (Kusuma, 2010).

2.7.3. Kandungan Senyawa Bioaktif

Tanaman kemangi merupakan tanaman yang biasa dikonsumsi masyarakat Indonesia sebagai makanan pelengkap, khususnya pada bagian daunnya yang memiliki aroma dan rasa yang khas. Selain

karena rasanya yang digemari, daun kemangi juga mengandung beberapa senyawa yang bermanfaat bagi tubuh, seperti flavonoid, *zinc*, arginin, protein, dan lemak yang diduga kaya akan antioksidan dan dapat meningkatkan proses spermatogenesis (Anzila dkk, 2017). Pada daun kemangi juga terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder lainnya seperti minyak atsiri, fitosterol, alkaloid, senyawa fenolik, tanin, lignin, saponin, terpenoid dan antrakuinon (Sarma *et al*., 2011). Antioksidan dapat membantu menjaga radikal bebas pada tingkat homeostasis untuk menjaga fungsi fisiologis dan mencegah efek patologis akibat dari perkembangan ROS.

Radikal bebas dan stres oksidatif yang terjadi pada testis akan mengakibatkan kerusakan dan penurunan jumlah sel spermatogenik yang dapat menggangu proses spermatogenesis sehingga mengakibatkan produksi sel spermatozoa di dalam testis berkurang (Hadi, 2011). Kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dicegah dan diperbaiki oleh senyawa metabolit flavonoid. Ekstrak daun kemangi memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Menurut Murod (2014) kandungan flavonoid pada daun kemangi sebesar 10%, yang dapat berperan sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid pada daun kemangi yaitu apigenin yang merupakan golongan *flavone* ini dapat digunakan sebagai antiradikal bebas (Hariana, 2008). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan senyawa *phenolik* dengan struktur kimia C_6-C_3-C_6. Kandungan flavonoid dalam daun kemangi memiliki subgrup seperti *flavone*, *flavonol*, dan *flavonone* (Kumar and Pandey, 2013). Senyawa flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil, mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah dapat mentransfer atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif (ROS) serta memiliki gugus keton hidroksil yang dapat bertindak sebagai

pengkelat logam yang menjadi katalis pada peroksidasi lipid yang radikal sehingga menjadi lipid peroksida yang kurang efektif (Valzon dan Marwan, 2018). Pengaruh senyawa flavonoid juga dapat meningkatkan proses regenerasi dari sel. Flavonoid meningkatkan proses regenerasi dengan cara mendestruksi radikal bebas, menyediakan substrat kompetitif untuk lipid tak jenuh dalam membran dan mempercepat mekanisme perbaikan membran sel yang rusak (Mahidin dkk, 2018).

Selain flavonoid kandungan senyawa aktif pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum basilicum* (Linn.)) adalah *zinc* dan boron (Kurniawan, 2013). Unsur *zinc* merupakan semacam mikro mineral yang sangat diperlukan dalam tubuh untuk menjaga dan memperbaiki metabolisme dalam tubuh. Fungsi dan peranan *zinc* di dalam tubuh antara lain membantu pembuatan materi genetik sel-sel, pembentukan sel darah merah dan membantu fungsi pankreas dalam proses pencernaan serta *zinc* memiliki peran dalam sistem reproduksi (Payaran dkk, 2014). *Zinc* merupakan konstituen dari *superoksida dismutase*, enzim yang berfungsi melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas.

Zinc memiliki efek dalam merangsang sel Leydig pada testis untuk memproduksi hormon testosteron (Anzila dkk, 2017). Selain itu, boron dapat meningkatkan plasma seminal yang dapat mempengaruhi kualitas sel sperma (Elgahid *et al*., 2015). Menurut Cheah and Wanxi (2011), menyatakan bahwa *zinc* berfungsi dalam meningkatkan aktivitas *ribonuklease* yang aktif selama proses mitosis spermatogonia dan meiosis spermatosit.

Senyawa kimia aktif lain yang terkandung dalam daun kemangi selain flavonoid dan *zinc* adalah arginin. Arginin merupakan asam amino non-esensial dan sifatnya polar yang sangat berperan penting

dalam sistem ketahanan tubuh dan imunitas seluler. Selain itu juga senyawa arginin berperan penting dalam proses pembentukan sel spermatozoa (Safwan dkk, 2016). Kurniawan (2013) juga menambahkan bahwa pada daun kemangi terdapat kandungan arginin yang diduga dapat memperkuat daya tahan sperma dan mencegah terjadinya kemandulan. Senyawa arginin diperlukan oleh spermatozoa untuk menjaga kualitas spermatozoa dengan meningkatkan produksi Nitrogen Oksida (NO) yang dapat melindungi sel sperma dari kerusakan membran plasma spermatozoa yang diakibatkan oleh peroksidasi lipid. Arginin berfungsi sebagai prekursor molekul NO, pada akrosom sel spermatozoa terdapat enzim *Nitrogen Oksida Sintase* (NOS) yang mengkatalisis konversi senyawa arginin menjadi NO menggunakan oksigen dan *Nicotinamide Adenine Dinucleo Phosphate* (NADPH) sehingga NO dapat dengan mudah berdifusi bebas melintasi membran sel untuk mengikat radikal bebas (Valzon dan Marwan, 2018).

Senyawa arginin dapat meningkatkan hormon testosteron yang berperan dalam proses spermatogenesis dan juga berfungsi sebagai pembentuk GnRH. GnRH yang dirangsang oleh hipotalamus akan menstimulasi FSH dan LH (Permatasari dan Widhiantara, 2017). Proses spermatogenesis bergantung pada jumlah hormon gonadotropin yaitu FSH, LH, dan testosteron. Hormon gonadotropin ini berfungsi dalam mengatur proses seluler pada sistem reproduksi seperti mengatur aliran ion-ion, aktivitas enzim, sintesis protein, sintesis dan sekresi hormon testosteron, proliferasi dan diferensiasi sel germinal, maturasi sel spermatozoa, serta aktivitas antar sel (Sutyarso dan Busman, 2003).

2.7.4. Manfaat

Kemangi dikenal sebagai tanaman herba dan telah banyak digunakan oleh orang-orang di berbagai belahan dunia, secara tradisional kemangi dapat digunakan sebagai obat herbal untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti demam, mengurangi rasa mual, sakit kepala, sembelit, diare, batuk, penyakit kulit, gagal ginjal, penyakit cacing dan sering digunakan sebagai penambah aroma masakan (Nurcahyanti dkk, 2011). Tanaman kemangi dalam dunia kesehatan dapat berfungsi sebagai antipiretik, antifungi, analgesik, antiseptik, antibakteri, hepatoprotektor, imunomodulator, *antireppelent* dan antiekspektoran (Kumalasari dan Andiarna, 2020). Tanaman kemangi juga mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid dan eugenol, arginin, anetol, boron serta minyak atsiri. Senyawa flavonoid dan eugenol dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat berperan dalam menetralkan radikal bebas (Kurniawan, 2013).

Pada penelitian Angelina dkk. (2015) menyatakan bahwa daun kemangi mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, karena memiliki kandungan senyawa flavonoid juga mengandung antosianin yang berperan sebagai antimikroba dan antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Mahidin dkk. (2015) juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat mempengaruhi jumlah sel spermatogenik tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diinduksi MSG, namun belum diketahui apakah berpengaruh juga terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan akibat induksi Diazinon.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan bulan November 2024. Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak etanol daun kemangi di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Kemudian dilanjutkan dengan melakukan aklimatisasi pada hewan uji coba di Unit Pemeliharaan Hewan Uji Coba, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Pembedahan hewan uji dan pengamatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi, Balai Veteriner Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang mencit sebanyak 25 unit dengan penutup berbahan dasar kawat, botol air minum mencit, wadah pakan mencit, sonde lambung yang dihubungkan dengan *disposable* suntik digunakan untuk pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* (Linn.)) dan larutan diazinon, seperangkat alat bedah seperti papan bedah, pinset, scalpel, pisau bedah, jarum pentul, evaporator yang digunakan untuk mengekstraksi daun kemangi, gelas ukur yang digunakan untuk

mengukur banyaknya etanol yang dibutuhkan, *hot plate*, tabung reaksi yang digunakan untuk menampung filtrat hasil reaksi, kertas label untuk memberi label pada objek penelitian, tisu yang digunakan untuk membersihkan sisa zat pada objek gelas, aluminium foil untuk menutup wadah yang berisi larutan, mikrotom untuk proses pemotongan paraffin, *object glass* dan *cover glass* untuk pembuatan preparat, mikroskop binokuler dan trinokuler yang digunakan untuk pengamatan preparat histologi, kamera *handphone* yang digunakan untuk mendokumentasi penelitian, alat tulis untuk mencatat data hasil penelitian dan laptop yang digunakan untuk mengolah data penelitian.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hewan uji coba mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 30-35 gram yang diperoleh dari "*Mini mouse* Lampung", 5 kilogram daun kemangi yang diperoleh dari Petani Kemangi di Jl. Hadi Subroto, Sumber Jaya, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan, etanol (*Prime Grade Ethyl Alcohol*), sekam padi yang diperoleh dari toko Tanaman Hias, Kayu Manis, Bandarlampung digunakan untuk alas *litter* kandang mencit, pakan mencit (BRAVO 512) untuk pakan mencit, air mineral (Tripanca) untuk minum mencit, NaCl 0,9% yang diproduksi oleh (PT. Otsuka Indonesia) yang digunakan untuk sterilisasi, kloroform (MSURE) sebagai obat bius mencit, pestisida (Diazinon 600 EC) yang digunakan sebagai pemicu terbentuknya ROS, *aquabidest* (*Onemed*) sebagai pelarut ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* (Linn.)) dan Diazinon, pewarna *hematoxylin* eosin yang digunakan untuk pewarna preparat, dan paraffin.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang bersifat homogen. Pelaksanaan perlakuan hewan uji dilakukan secara acak dengan 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari 5 ulangan, berdasarkan rumus Federer (1991), yaitu (t-1) (n-1) ≥ 15.

Perlakuan (t-1) (n-1) ≥ 15

(5-1) (n-1) ≥ 15

4 (n-1) ≥ 15

4n – 4 ≥ 15

4n ≥ 15 + 4

$n = \frac{19}{4} = 4{,}75 = 5$

Satuan percobaan: 5×5 = 25 mencit jantan yang homogen, untuk mengantisipasi kematian hewan uji, maka masing-masing perlakuan ditambahkan 1 ekor mencit cadangan. Maka jumlah hewan uji yang digunakan adalah 30 ekor mencit jantan.

Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut:

P1U3	**K0U4**	**P3U2**	**K-U1**	**P2U4**
P3U1	**P2U2**	**K-U4**	**P2U3**	**K0U5**
K-U3	**P1U5**	**K0U1**	**P3U5**	**K-U2**
K0U2	**P3U3**	**P2U5**	**P1U4**	**P1U1**
P2U1	**K-U5**	**P1U2**	**P3U4**	**K0U3**

Gambar 11. Skema Rancangan Acak

Keterangan

K_0	: Kontrol	U1	: Ulangan 1
K-	: Kontrol Negatif	U2	: Ulangan 2
P1	: Perlakuan 1	U3	: Ulangan 3
P2	: Perlakuan 2	U4	: Ulangan 4
P3	: Perlakuan 3	U5	: Ulangan 5

Kelompok perlakuan dan pemberian dosis pada masing-masing kelompok perlakuan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan dan Pemberian Dosis

No	Perlakuan (P)	Pemberian Dosis	Keterangan
1	K_0	Mencit diberi larutan *aquabidest* 0,3 ml	Kontrol
2	K-	Mencit diinduksi 0,3 ml larutan diazinon dengan dosis 1,2 mg/30grBB selama 5 hari	Kontrol Negatif
3	P1	Mencit diinduksi 0,3 ml larutan diazinon dengan dosis 1,2 mg/30grBB selama 5 hari, kemudian diberi ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 3 mg/30grBB selama 30 hari	Perlakuan 1
4	P2	Mencit diinduksi 0,3 ml larutan diazinon dengan dosis 1,2 mg/30grBB selama 5 hari, kemudian diberi ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 6 mg/30grBB selama 30 hari	Perlakuan 2
5	P3	Mencit diinduksi 0,3 ml larutan diazinon dengan dosis 1,2 mg/30grBB selama 5 hari, kemudian diberi ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 9 mg/30grBB selama 30 hari	Perlakuan 3

3.3.2. Persiapan Hewan Uji

Pada penelitian ini menggunakan hewan uji mencit jantan sebanyak 30 ekor, mencit yang digunakan memiliki berat badan sekitar 30-35 gram berumur 2-3 bulan. Digunakan 30 kandang mencit yang telah dibersihkan dan diberi alas sekam padi beserta penutup kandang. Mencit diaklimatisasi terlebih dahulu di kandang selama 7 hari dengan pemberian pakan berupa pelet Bravo 512 dan air minum berupa air mineral untuk setiap harinya. Tujuan dilakukannya aklimatisasi agar mencit dapat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan sekitarnya sebelum dilakukan perlakuan.

3.3.3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak etanol daun kemangi. Mekanisme kerja maserasi ialah ekstraksi senyawa aktif yang dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut dalam beberapa hari (Ansel, 1989). Daun kemangi yang digunakan yaitu daun yang dipetik dari tangkai daun ketiga dan kelima mulai dari bagian pucuk, diambil daun yang berwarna hijau segar (Evita dkk, 2022). Hal tersebut bertujuan agar mendapatkan kandungan senyawa metabolit sekunder dengan kadar yang paling baik, karena pada daun muda bagian ujung pucuk dan daun yang sudah layu serta menguning diduga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang rendah. Daun kemangi diperoleh dari Petani Kemangi di Jl. Hadi Subroto, Sumber Jaya, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung, Indonesia.

Daun kemangi segar sebanyak 5 kilogram dicuci bersih menggunakan air PDAM mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa

debu dan mencegah terjadinya kontaminasi, selanjutnya daun kemangi dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari pada pukul 09.00 WIB sampai 17.00 WIB dan ditutupi oleh kain hitam agar mencegah adanya kotoran yang menempel dan dapat menyerap panas dengan maksimal. Daun kemangi yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender* untuk dijadikan serbuk simplisia. Selanjutnya dilakukan proses maserasi dengan merendam serbuk simplisia daun kemangi dalam etanol 96% selama tiga hari dan diaduk merata. Campuran daun kemangi dan etanol 96% disaring menggunakan kertas saring sehingga akan mendapatkan maserat 1. Ampas maserat 1 direndamkan kembali dengan etanol 96% selama dua hari, lalu disaring dan didapatkan maserat 2. Hasil maserat 1 dan 2 diinapkan semalam lalu dipisahkan dari residunya menggunakan alat evaporator pada suhu 50^{o}C, kemudian ekstrak dipekatkan menggunakan *hot plate* sampai diperoleh ekstrak etanol daun kemangi yang kental.

3.3.4. Penginduksian Larutan Diazinon

Penginduksian diazinon diberikan secara oral dengan dosis 40 mg/kgBB yang dilarutkan dalam *aquabidest*. Menurut Wulandari *et al*. (2007) pemberian dosis diazinon 40 mg/kgBB pada tikus selama 5 hari ini sudah menunjukkan dapat menyebabkan terjadinya kongesti, piknosis dan nekrosis jaringan. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan dengan berat badan 30 gram sehingga dosis diazinon perlu dikonversi terlebih dahulu. Persentase pelarut yang digunakan berdasarkan rute per oral adalah 1% dari berat badan hewan uji (Yoriyuliandra, 2012), sehingga dosis diazinon yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1,2 mg/30grBB dilakukan menggunakan sonde lambung selama 5 hari.

3.3.5. Penginduksian Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Pada penelitian ini penginduksian ekstrak etanol daun kemangi diberikan secara oral, berdasarkan penelitian Sholihin dan Ducha (2024) tentang pengaruh daun kemangi terhadap spermatozoa mencit yang dipapar asap rokok digunakan pemberian dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 300mg/kgBB. Pada penelitian ini menggunakan mencit jantan dengan berat badan 30 gram sehingga dosis tersebut perlu dikonversi terlebih dahulu untuk mendapatkan dosis yang diinginkan. Persentase pelarut *aquabidest* digunakan 1% dari berat badan hewan uji berdasarkan rute per oral (Yoriyuliandra, 2012). Sehingga dosis ekstrak etanol daun kemangi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3mg/30grBB, 6mg/30grBB dan 9mg/30grBB. Penginduksian terapi ekstrak daun kemangi menggunakan sonde lambung selama 30 hari dilakukan setelah penginduksian larutan diazinon. Pemberian ekstrak daun kemangi dimaksud karena daun kemangi memiliki kandungan senyawa bioaktif yang diduga berguna sebagai antioksidan dan dapat meningkatkan proses spermatogenesis (Anzila dkk, 2017) akibat kerusakan sel dari efek radikal bebas yang ditimbulkan dari induksi larutan diazinon.

Pembuatan larutan stok setiap dosis yang akan diberikan pada mencit dibuat untuk stok selama 7 hari perlakuan, adapun perhitungan pembuatan larutan stok ekstrak daun kemangi dan pelarutnya sebagai berikut:

a. Larutan stok ekstrak daun kemangi:
   Dosis Perlakuan 1: 3mg × 6 jumlah mencit × 7 hari = 126mg.
   Dosis Perlakuan 2: 6mg × 6 jumlah mencit × 7 hari = 252mg.
   Dosis Perlakuan 3: 9mg × 6 jumlah mencit × 7 hari = 378mg.
b. Larutan stok pelarut (*aquabidest*) untuk setiap dosis:
   Volume pelarut: 0,3ml × 6 jumlah mencit × 7 hari = 12,6ml.

3.3.6. Pemberian Perlakuan

Sebelum dilakukan perlakuan, mencit ditimbang terlebih dahulu untuk menyesuaikan berat badannya, perlakuan dilakukan pada pagi hari pukul 08.00 WIB. Kemudian diberikan larutan diazinon dengan cara oral sebanyak 1 kali dalam sehari selama 5 hari berturut-turut, Pada kelompok normal diberikan *aquabidest* untuk memastikan bahwa efek toksik pada kelompok perlakuan disebabkan oleh diazinon bukan akibat dari pelarut diazinon (Firdaus dkk, 2023), setelah itu pada hari ke-6 diberikan terapi ekstrak etanol daun kemangi sebanyak 1 kali dalam sehari selama 30 hari. Pada penelitian ini perlakuan dilakukan selama 35 hari karena berdasarkan siklus spermatogenik mencit yang berlangsung selama 35 hari (Busman dkk, 2018). Mencit jantan dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

3.3.7. Pembedahan Mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758))

Setelah mencit diberi perlakuan selama 35 hari, kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-36 di bagian organ reproduksi mencit. Mencit yang dibedah pertama-tama dibius dahulu menggunakan kloroform, kemudian spesimen dibuka di bagian perutnya hingga bagian reproduksinya untuk diambil organ testisnya. Testis yang telah dikeluarkan dibersihkan terlebih dahulu menggunakan NaCl 0,9%. Selanjutnya testis yang telah dipotong difiksasi menggunakan buffer formalin 10% di dalam botol, kemudian testis dibawa ke Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung untuk dibuat preparat histologi dengan metode paraffin untuk pengamatan tubulus seminiferus. Pembuatan preparat tubulus seminiferus menggunakan organ testis yang disayat dengan irisan melintang.

3.3.8. Teknik Pembuatan Slide Histologi

Proses pengambilan data dilakukan dengan pembuatan preparat histologi testis mencit yang terdiri dari beberapa tahapan seperti tahap fiksasi, *trimming*, dehidrasi, *embedding*, pemotongan (*cutting*), pewarnaan (*staining*) dan perekatan (*mounting*). Adapun bentuk dan ciri dari parameter yang akan diamati pada preparat histologi tubulus seminiferus mencit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Panduan Identifikasi dan Ciri-ciri Sel Spermatosit Primer, Sel Spermatid, Sel Leydig, dan Diameter Tubulus Seminiferus

Parameter	Ciri-ciri
Sel Spermatosit Primer (Leptoten, Zigoten, dan Pakiten)	Sel spermatosit primer memiliki ukuran terbesar dalam turunan spermatogenik, bentuknya bulat dan letaknya mengarah ke permukaan epitel (Gambar 7) serta memiliki inti eukromatik yang lebih terang daripada spermatogonium (Mescher, 2012). Fase spermatosit (meiosis) terdiri atas: Leptoten, benang-benang kromatin memendek dan menebal membentuk kromosom homolog. Zigoten, kromosom homolog saling berdekatan dan berpasangan (sinapsis), kromosom berpasangan dua-dua disebut bivalen. Pakiten, setiap kromosom menjadi dua kromatid dan memiliki satu sentromer (Sukadiono dkk, 2023).
Sel Spermatid	Sel spermatid memiliki ukuran yang lebih kecil daripada spermatosit primer dan sekunder (Gambar 7). Bentuk sel dan inti selnya bulat, inti selnya menutupi seluruh permukaan sel (Ross and Pawlina, 2011)
Sel Leydig	Sel Leydig terletak di jaringan interstisial di antara tubulus seminiferus, berbentuk ovoid (Junqueira *et al*., 2007). Sel Leydig letaknya 17 berkelompok memadat di daerah segitiga yang terbentuk oleh susunan tubulus seminiferus (Gambar 7).
Diameter Tubulus Seminiferus	Diameter tubulus seminiferus memiliki bentuk penampang seperti lingkaran atau oval, di dalam tubulus seminiferus mempunyai lumen tunggal yang letaknya di tengah dan tersusun atas lapisan epitel seminiferus (Gambar 6). Diameter tubulus dipilih yang memiliki bentuk penampang bulat (Khakpour *et al*., 2012)

a. Tahap Fiksasi

Fiksasi adalah tahapan awal ketika akan melakukan pembuatan preparat histologi. Tahapan fiksasi ini bertujuan untuk mengeraskan dan mematikan jaringan secara cepat, sehingga organ atau jaringan tidak mengalami pembusukan (*autolisis*). Organ testis yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam larutan fiksatif formalin 10% yang dilakukan selama minimal 24 jam. Setelah difiksasi organ testis dicuci menggunakan air mengalir (Mujimin dan Suratmi, 2013).

b. Tahap *Trimming*

Trimming merupakan penentuan posisi memotong organ atau jaringan setebal sekitar 4 mm, dengan arah mengikuti organ yang akan dipotong yaitu organ testis. Proses ini dilakukan setelah sampel yang sebelumnya berupa organ testis sudah difiksasi dalam formalin 10%. Setelah organ dipotong, sepotongan jaringan testis tersebut dimasukkan ke dalam *embedding casette*.

c. Tahap Dehidrasi dan *Clearing*

Proses dehidrasi dilakukan setelah *trimming*, kemudian dilakukan perendaman menggunakan alkohol bertingkat dengan konsentrasi 80% dan 95% berturut-turut selama sekitar 2 jam. Selanjutnya dilakukan perendaman alkohol absolut I dan II selama 2 jam. Tahap berikutnya yaitu *clearing* untuk membersihkan sisa-sisa alkohol dengan merendam *embedding cassette* dalam larutan *xylol* I dan II masing-masing selama 3 jam. Setelah itu dilakukan proses impregnasi dengan larutan paraffin bertingkat I dan II maisng-masing selama 2 jam.

d. Tahap *Embedding*

Proses *embedding* dilakukan dengan cara jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam base mold lalu tuangkan paraffin ke dalam base mold dan tutup dengan *cassette embedding* kemudian dinginkan pada alat *processor embedding* bagian pendingin.

e. Tahap Pemotongan (*Cutting*)

Proses *cutting* dilakukan menggunakan alat mikrotom yang diawali dengan pemotongan kasar yang selanjutnya dilakukan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 3-5 mikron. Setelah pemotongan selesai dipilih lembaran potongan yang paling baik, kemudian diapungkan di atas air sampai mengembang sempurna. Selanjutnya ditempatkan jaringan diatas permukaan *slide* bersih lalu *slide* ditempatkan pada *slide dryer* pada suhu 37^{o}C selama 24 jam atau sampai jaringan melekat sempurna (Damayanti, 2023).

f. Tahap Pewarnaan (*Staining*)

Ketika jaringan sudah melekat sempurna pada *slide*, dilakukan pewarnaan slide dengan teknik pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Pewarnaan dimulai dengan perendaman dalam larutan *xylol* I, II, III, masing-masing selama 5 menit dilanjutkan dengan perendaman dalam alkohol absolut I, II, III masing-masing selama 5 menit. Perendaman selanjutnya yaitu menggunakan aquades selama 1 menit. Hasil potongan organ kemudian 26 dimasukkan ke dalam larutan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) selama 20 menit. Slide jaringan dimasukkan ke dalam aquades selama 1 menit dengan sedikit menggoyang-goyangkan organ agar merata. Slide jaringan dicelupkan dalam asam alkohol sebanyak 2 – 3 celupan, lalu dibersihkan dalam aquades bertingkat masing-masing 15 menit, dimasukkan dalam *eosin* selama 2 menit dan berturut-turut dimasukkan dalam alkohol 95% selama 2 menit, alkohol 95%, alkohol absolut III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir, slide jaringan dimasukkan ke dalam *xylol* IV dan V masing-masing selama 5 menit (Mitasari, 2022).

g. Tahap Perekatan (*Mounting*)

Mounting dilakukan dengan menetesi canada balsam pada slide preparat, kemudian ditutup dengan *coverglass* dan dihilangkan gelembung udara supaya mempermudah dalam pengamatan.

3.3.9. Parameter Penelitian

Parameter yang diamati yaitu preparat histologi tubulus seminiferus mencit. Pengamatan meliputi sel-sel spermatogenik yaitu sel spermatosit primer dan sel spermatid serta jumlah sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler, pengamatan histologi tubulus seminiferus mencit pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah populasi sel spermatogenik yaitu sel spermatosit primer dan sel spermatid serta jumlah sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus.

3.3.10. Pengamatan Preparat

a. Pengamatan Sel Spermatosit Primer, Spermatid dan Sel Leydig

Pengamatan sel spermatosit primer dan sel spermatid dilakukan secara random diamati dengan dihitung dari pengamatan lima lapang pandang pada potongan melintang tubulus seminiferus. Perhitungan sel spermatogenik (spermatosit primer dan spermatid) dilakukan dengan menghitung satu per satu sel spermatogenik sampai mengitari tubulus seminiferus (Kusumaningrum, 2008). Pengamatan sel spermatogenik menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x dan perhitungan jumlah sel menggunakan *cell counter*. Perhitungan jumlah sel Leydig di jaringan intertisial tubulus seminiferus

sebanyak lima lapang pandang dengan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler. Lapang pandang diambil dari preparat testis kanan, bagian kanan atas, kanan bawah, kiri atas, kiri bawah, dan tengah (Paramita dkk, 2023).

b. Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus

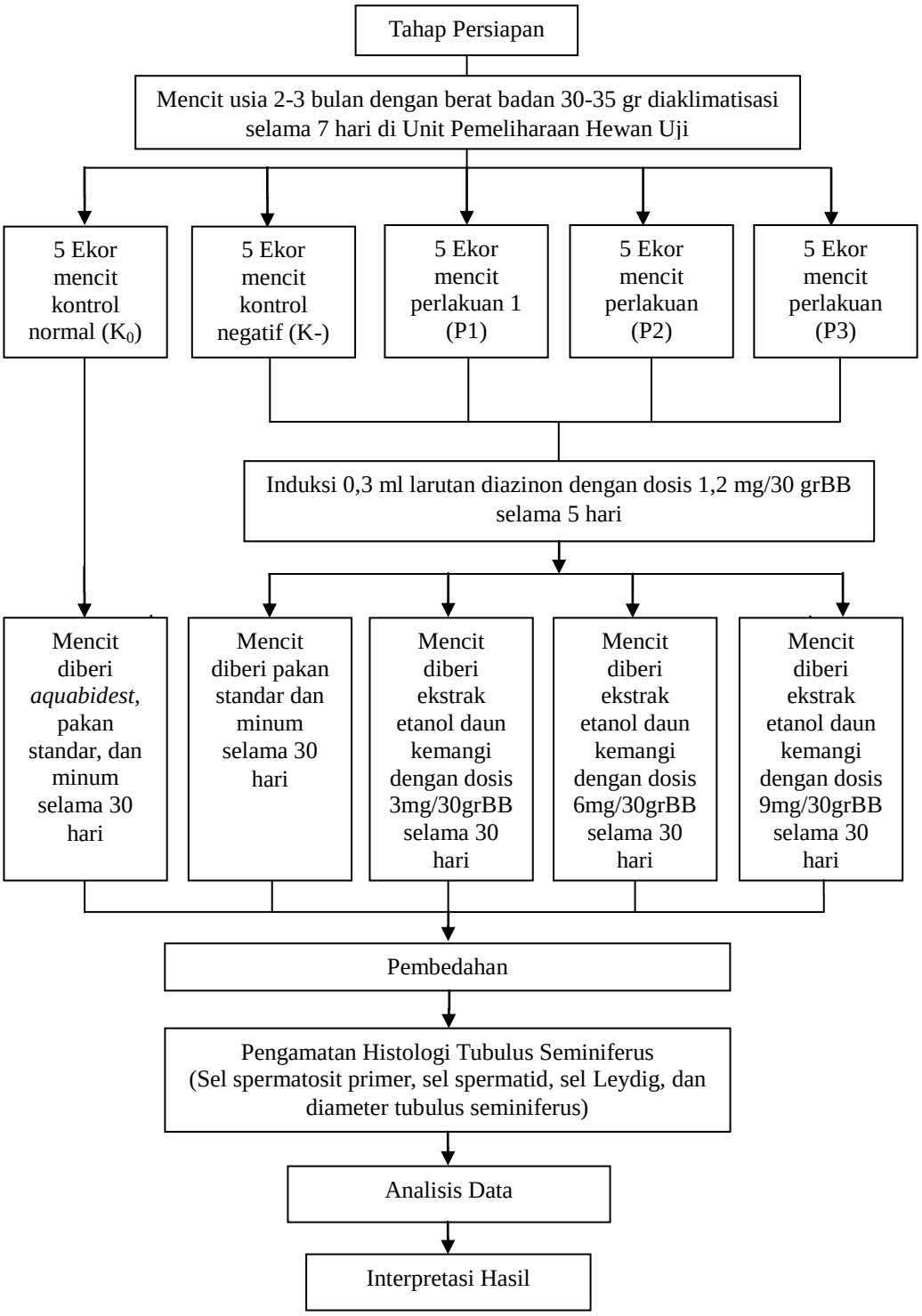
Pengukuran diameter tubulus seminiferus menggunakan mikroskop binokuler dengan lensa mikrometer (µm) perbesaran 400x dengan mengukur antara dua titik yang berseberangan pada garis tengahnya, titik tersebut berada pada membran basalis tubulus seminiferus. Perhitungan diameter tubulus dilakukan sebanyak lima lapang pandang. Diameter tubulus yang dipilih adalah yang memiliki penampang bulat dengan ukuran yang kurang lebih hampir sama. Hasil dari diameter tubulus seminiferus dinyatakan dalam satuan mikrometer (µm) (Khakpour *et al*., 2012).

3.4. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data yang diperoleh bersifat kuantitatif dan dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS versi 26. Pertama, data yang diperoleh diolah menggunakan uji *shapiro wilk* untuk melihat normalitas sebaran data, bila $p>0,05$ maka sebaran dianggap normal, jika data sudah normal kemudian dilanjutkan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Jika didapat data tidak normal, maka dilakukan analisis uji non-parametrik *krustal-walls,* kemudian dilakukan uji parametrik *one-way Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui perlakuan yang diberikan signifikan atau tidak. Jika $p<0,05$ dilanjutkan dengan uji *posthoc* (Duncan) untuk mengetahui dosis mana yang paling efektif untuk meningkatkan jumlah sel-sel spermatogenik serta sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus.

3.5. Diagram Alir Metode Penelitian

Adapun diagram alir yang digunakan dalam penelitiain ini dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 12. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian larutan diazinon dapat menurunkan jumlah sel spermatosit primer, sel spermatid, sel Leydig dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)).
2. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatosit primer mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) yang diinduksi diazinon.
3. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan jumlah sel spermatid mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) yang diinduksi diazinon.
4. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan jumlah sel Leydig mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) yang diinduksi diazinon.
5. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* Linn.) dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)) yang diinduksi diazinon.

5.2. Saran

Adapun saran yang dapat dikemukakan berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam pemberian ekstrak daun kemangi terhadap jumlah, motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa mencit.
2. Disarankan untuk penelitian selanjutnya agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian ekstrak daun kemangi terhadap perbaikan kualitas folikel pada hewan mencit betina.

DAFTAR PUSTAKA

Akmal, M., Adam, M., Toras, M., Rusli, Rinidar, dan Lubis, T.M. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Konsentrasi Testosteron Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 9(1): 40-43.

Aluko, B.T., O.I. Oleyede, O.I., and Afolayan, A.J. 2012. Full Length Research Paper Phytochemical and nutrient compositions of the leaves of *Ocimum canum* Sims. *African Journal of Biotechnology*. 11(63): 12697-12701.

Angelina, M., Turnip, M., dan Khotimah, S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Protobiont*. 4(1):184-189.

Anggraini, Ema, Primiani, C.N., dan Widiyanto, J. 2017. Famili Lamiacea. *Prosiding Seminar Nasional Simbiosis II*.

Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sedimen Farmasi*. Edisi ke-4. Universitas Indonesia. Jakarta.

Anzila, I., Agung, P.W.M., Aris, S., dan Sri, R. 2017. Pengaruh Ekstrak Ethanol Kemangi (*Ocimum canum* Sims.) terhadap Struktur Histologi Testis Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Biotropika*. 5(1): 22-26.

Apriliani, M., Nurcahyani, N., dan Busman, H. 2013. Efek Pemaparan Kebisingan Terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatogenik Dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) *Seminar Nasional Sains dan Teknologi V*. 299-306.

Arief, Y.S. 2011. Stres Dapat Mengganggu Proses Spermatogenesis Pada Mencit. *Jurnal Ners*. 6(2): 169-174.

Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2): 126-136.

Basiru, A., Abdullahi, I. O., Adakole, A. S., Jimoh, A. G., Abdulfatai, A., and Mistura, A. O. 2022. Correlation Between Testicular Biometrics and Serum Level of Reproductive Hormones of Crossed Arewa Breed of Stallions in Ilorin, Nigeria. *Media Kedokteran Hewan*. 33(2): 53–62.

Bjorklund, G., Chirumbolo, S., Dadar, M., Pivina, L., Lindh, U., Butnariu, M., and Aaseth, J. 2019. Mercury Exposure and Its Effects on Fertility and Pregnancy Outcome. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 125(4): 317-327.

Boussabbeh, M., Salem, B. I., Hamdi, M., Fradj, B.S., Abid, E.S., and Bacha, H. 2016. Diazinon an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine. *Environ Sci Pollut Res*. 23: 2882-2889.

Budiyono. 2012. Kajian Sistematis Dampak Pestisida Diazinon Terhadap Manusia, Mamalia Lainnya Dan Lingkungan. *Skripsi*. 1-180.

Busman, H. 2020. *Spermatozoa dan Spermatogenesis*. Pustaka Ali Imron. Lampung.

Busman, H., Nurcahyani, N., Sutyarso, Dewi, E.R.S, and Kanedi, M. 2018. Sperm Quality of Mice Decreased by Seed Extract of Papaya (*Carica papaya*). *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 5(8): 95-98.

Busman, H., Sutyarso, Kanedi, M., Farisi, S., and Mumtazah, D.F. 2020. Sperms Quality of Mice Effectively Decreased by Essential Oil Extracted from Plant Tuber of Nutgrass (*Cyperus rotundus*). *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*. 10(4): 1-5.

Cahya, N., Rosita, D., Muhammad, H., dan Dina, H. 2022. Ekstrak Ethanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Memperbaiki Kerusakan Hati Tikus Wistar Yang Diinduksi Diazinon. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 9(3): 263-270.

Chairunnisa, Masyura, E.E., Aidila, D., Siagian, M. R.M., Nanda, dan Rahmadani, S. 2023. Faktor Penyebab dan Dampak Paparan Pestisida Terhadap Kesehatan Petani. *Journal of Nursing and Public Health*. 11(2): 331-337.

Cheah, Y., and Wanxi. Y. 2011. Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Bioscience and Biotechnology*. 2: 182 -197.

Damayanti, A.F. 2023. Gambaran Histologi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* Linn.) Yang Dinduksi D-Galaktosa Akibat Pemberian Tinta Cumi Cumi (*Loligo* sp.) Sebagai Faktor Anti Aging. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Elgahid, O.A., Elhadi, A.M., and Elkomy, A.E. 2015. Dietary Boron Supplementation and its Impact on Semen Characteristics and Physiological Status of Adult Male rabbits. *Asian Journal of Poultry Science*. 9(2): 85-96.

Eliyana, Nafilah, Safira, P.D., Febiani, C., Lutfa, I., dan Rokatun. 2024. Peningkatan Literasi Tentang Alat Pelindung Diri Pada Petani Pengguna Pestisida (*Lindung Penida*). *Lentera Jurnal*. 4 (1): 104-110.

Evita, D., Nofita, dan Ulfa, A.M. 2022. Efektivitas Ekstrak Etil Asetat Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 5(1): 10-21.

Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd Edition. Marcel Dekker. New York.

Felicia, M., dan Suhartono, R. 2021. 46,XY Disorder of Sex Development (DSD): Diagnosis dan Tatalaksananya. *Jurnal Majalah Kedokteran*. 37(1): 26-35.

Fidianingsih, I., and Ahsani, D.N. 2018. Age-related changes of malondialdehyde, body weight and organ weight in male mice. *Universa Medicina*. 37(2): 115-126.

Firdaus, J., Putri, R.M., Efendi, E., Hermansyah, Y., dan Sakinah, E.N. 2023. Efek Pemberian Gum Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Kadar MDA

Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Diazinon. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 9 (1): 31-35.

Gartner, L. P., dan Hiatt, J. L. 2012. *Atlas Berwarna Histologi Edisi ke-5*. Binarupa Aksara. Tangerang Selatan.

Guyton, A.C., dan Hall, J.E. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed 12*. Elsavier. Jakarta.

Hadi, R.S. 2011. Apoptosis pada Sperma Sebagai Pertanda Adanya Gangguan Kesuburan Pria. *Majalah Kesehatan Pharma Medika*. 3(2).

Hariana, A., 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Herdiana, F. 2019. Potensi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) Sebagai Nefroprotektor Terhadap Kadar Bun Dan Kreatinin Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Diazinon. *Skripsi*. 1-92.

Herlina, M., Manurung, S.S., dan Noradina. 2021. *Histologis Testis Dan Jumlah Sel Sperma Mencit*. ADAB. Jawa Barat.

Integrated Taxonomic Information System. 2024. *Ocimum basilicum* L. Taxonomic Serial No: 32627. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=32627#null. Diakses pada 08 Juni 2024, pukul 10.44 WIB.

Integrated Taxonomic Information System. 2024. *Mus musculus*. Taxonomic Serial No: 180366. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180366#null. Diakses pada 17 Agustus 2024, pukul 20.10 WIB.

Irawati, N.B.U., Sutriningsih, dan Anggraini, W.S. 2019. Efek Pemberian Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* roxb. Var. Rubrum) terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Mencit (*Mus muscullus* L.) Jantan yang Diinduksi Cyproterone Acetate. *Wellness and Healthy Magazine*. 1(2): 295-304.

Irawati, N.B.U., Sutyarso, dan Hendri, B. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb var Rubrum) Terhadap

Jumlah Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Siproteron Asetat. *Jurnal Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. 3(2): 19-24.

Johnsons, M. and B. Everitt. 2018. *Essential Reproduction, 8th edition*. Blackwell Sci.Pub.Oxford. London, Edinburg.

Junqueira, L. C., Carneiro, J and Kelly, R. O. 1995. *Basic Histology. 8 th edition*. Stamford Connecticut. Appleton and Lange.

Kardi dan Desimal, I. 2019. Pengaruh Pemberian Astaxanthin Terhadap Morfologi Dan Motilitas Spermatozoa Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus*) Yang Diberikan Pelatihan Fisik Berlebih. *Jurnal Sangkareang Mataram.* 5(4): 62-66.

Kaspul. 2013. Aktivitas Spermatogenesis Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Setelah Perlakuan Dengan Boraks. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 7(1): 72-78.

Khakpour, S., Minaee, M., Fazelipour, S., and Zarrabian, S. 2012. Effects of Citrus Aurantium Extract on Spermatogenic Cell Density , Antioxidant Activity and Testosterone Level in Male Mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 6(7): 480 – 486.

Klau, M.L.C., Indriarini, D., dan Nurina, L. 2021. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherchia coli* Secara *In Vitro*. *Cendana Medical Journal.* 21(1): 102-112.

Kumalasari, M.L.F., dan Andiarna, F. 2020. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesian Journal For Health Sciences*. 4(1): 39-44.

Kumar, S., and Pandey, A.K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoid: an overview. *The Scientific World Journal*. 1-16.

Kurniawan, S. 2013. *Daun Kemangi, Bawang Merah, Bawang Putih & Bengkuang, Terapi Herbal Kesehatan & Kecantikan*. Diva Press. Yogyakarta.

Kusriani, 2012. Uji Pengaruh Sublethal Pestisida Diazionon 60 EC terhadap Rasio Konversi Pakan (FCR) dan Pertumbuhan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Penelitian Perikanan*. 1(1): 36-42.

Kusuma, W. 2010. *Efek Ektrak Daun Kemanngi (Ocimum sanctum L.) Terhadap Kerusakan Hepatosit Mencit Akibat Minyak Sawit Dengan Pemanasan Berulang.* (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Kusumaningrum, E. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Spermatogenesis Mencit. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya. Surabaya.

Larasati, R,P. 2020. *Formulasi Gel Antiseptik Minyak Atsiri Kemangi (Ocimum basilicum) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus*. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.

Lawson, R. 2007. *Anatomy And Physiology of Animals The Testis And A Magnified Seminiferus Tubule*. Otago Polytechnic.

Maghfoer, M.D. 2019. *Sayuran Lokal Indonesia.* UB Press. Malang.

Mahdi, C., Hendrawan, V.F., and Viestaria, K. 2019. The Effect of Red Pitaya Peel (*Hylocereus polyrhizus* Extract) on Malondialdehida Levels and Histopathology Profile in Diazinon Induced Rat (*Rattus norvegicus*). *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. 10 (2): 88-93.

Mahidin, Muli, A., dan Susiyadi. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan Yang Diinduksi Monosodium Glutamat. *Herb-Medicine Journal*. 1(1): 19-29.

Maidah, N., dan Hariani, D. 2022. Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidosculus aconitifolius*) Memperbaiki Kadar Kolestrol, Morfometri dan Histologi Testis Mencit Hiperkolesterolemia. *Jurnal Lentera Bio*. 11(1): 52-62.

Matsumoto, A.M., and Bremner, W.J. 2016. *Chapter 19-Testicular Disorders Williams Textbook of Endocrinology (Thirteenth Edition)*. Elsevier.

Mescher, A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks dan Atlas 12th ed*. EGC. Jakarta.

Mitasari, Y. 2022. Pengaruh Ekstrak Daun Songgolangit (*Tridax procumbens* L.) Terhadap Jumlah Sel – Sel Spermatogenik, Ketebalan Sel sel Spermatogenik, dan Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus* L.) Hiperglikemia yang Dinduksi Aloksan. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Moshiri, M., Vahabzadeh, M., Etemad L., and Hosseinzadeh, H. 2013. Failure of intravenous lipid emulsion to reduce diazinon-induced acute toxicity: a pilot study in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(4): 897-902.

Mujimin dan Suratmi, S. 2013. Teknik Mencampur Larutan Fiksasi Untuk Histologi. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 11 (2): 137-140.

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. Program Studi Farmasi FakultasKedokteran dan Kesehatan. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., and Lesmana, R. 2021. Use of Mice As Experimental Animals in Laboratories That Refer To the Principles of Animal Welfare: a Literature. *Indonesia Medicus Veterinus*. 10(1): 134–145.

Noer, S.F., Hasan, T., dan Fitriani. 2020. Uji Efek Afrodisiaka Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiberofficinale* Rosc. *var. rubrum*) Asal Kabupaten Maros Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Farbal*. 8(1): 6-12.

North Carolina Extension Gardener. 2024. *Plant detail: Ocimum basilicum*. https://plants.ces.ncsu.edu/plants/ocimum-basilicum/ diakses pada 08 Juni 2024, pukul 18.48 WIB.

Noradiana, dan Herlina, M. 2021. *Vitamin E Dan Paparan Tuak Terhadap Fragilitas Osmotik Eritrosit Pada Mencit*. Adab. Jawa Barat.

Nugroho, R.A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press. Samarinda.

Nurcahyani, N., Hendri, B., Sutyarso, Pratami, D.R., dan Mohammad, K. 2018. Efek Antispermatogenik Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Mencit. *Jurnal Farmasi dan Kimia*. 5(4): 18-22.

Nurcahyanti, dan Agustina, D.R. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Polar dan Non Polar Biji Selasih (*Ocimum sanctum* L.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 22(1).

Nurhayati, Mukarrama, T.M.H.A., Defsuar, E., Handayani, L., dan Muhazzir, S. 2022. Pemberian Pakan Bersuplemen Arang Aktif Dari Tulang Ikan Terhadap Reduksi Insektisida Diazinon Dalam Tubuh Ikan Nila: Studi Kasus Histologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Tilapia*. 3(2): 29-34.

Nurjanah, F., Salni, dan Legiran. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Metanol Air Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) Terhadap Berat, Histologi Epididimis, dan Morfologi Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus norvergicus*). *Biomedical Journal of Indonesia*. 3(2): 78-86.

Ozbek. E. 2012. Induction of oxidative stress in kidney. *International Journal of Nephrology*. 12(1): 1-9.

Paramita C.A., Plumeriastuti, H., Madyawati, S.P., Arimbi, Mulyati, S., dan Kurnijasanti, R. 2023. Efek Protektif Ekstrak Etanol Daun Kesum (*Polygonum minus*) Terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit yang Dipapar Kadmium Klorida. *Jurnal Medik Veteriner*. 6(1): 43-50.

Payaran, K.O., Wantouw, B., dan Tendean, L. 2014. Pengaruh Pemberian Zink Terhadap Kualitas Spermatozoa Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik (Ebm)*. 2(2): 496–500.

Permatasari, A. A. P., dan Widhiantara, I. G. 2017. Terapi Testosteron Meningkatkan Jumlah sel Leydig dan Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*) yang Mengalami Hiperlipidemia. *Jurnal Media Sains*. 1 (2): 77-83.

Plant, T. M. 2015. 60 Years of Neuroendocrinology: The Hypothalamo-Pituitary–Gonadal Axis. *Journal of Endocrinology*. 226(2): 141–154.

Pramesti, C.A., Arimbi, dan Srianto, P. 2016. Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E dan Vitamin C Sebagai Tindakan Preventif Terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit (*Mus musculus*) Yang Dipapar Boraks. *Jurnal Veterina Medika*. 9(3): 7-13.

Pratama, D.A.O.A., Aulia, Z., Aulanni'am, A., dan Permata, F.S. 2019. Studi Toksisitas Organofosfat (Diazinon) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) dalam Serum Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Vet Bio Clin.* 1(2) :15-23.

Pranadya, N. M. E., Setyawati, I., dan 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.

Prasetiyo, D. 2022. Pengaruh Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiac*a L.) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Jantan Yang Dipapar Asap Rokok. *Skripsi*. 1-50.

Priyandari, Y. 2015. Ekstrak Daun Jambu Biji Merah Terhadap Hormon Reproduksi dan Sel Leydig Tikus Jantan. *Journals of Ners Community*. 6(1):14-27.

Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2023. Statistik Ketenagakerjaan Sektor Pertanian Agustus 2023. *Pusat Data Dan Sistem Informasi Pertanian*. 68(1): 122.

Rahmawati, I. 2013. Pengaruh Nikotin Selama 1-2 Minggu Terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatosit Primer, Spermatid Pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Keperawatan Soedirman*. 8(3): 176-183.

Rizzo, D. 2010. *Fundamentals of Anatomy & Physiology (3rd ed)*. Thomson Learning International Division.

Ross, M.H., and Pawlina, W. 2011. *Histology: Atext and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology 6th Ed*. Lippincott Williams and Wilkins. China.

Rukmana, R. 2016. *Untung Berlipat Budidaya Kemangi dan Selasih: Tanaman Multimanfaat*. Liliy Publisher. Yogyakarta.

Safwan, S., Sugara, T., dan Rohmi, M.K. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Motilitas dan Konsentrasi Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS; Ilmu Farmasi dan Kesehatan*. 1(2): 173–181.

Sargazi, Z., M. R. Nikravesh, M. Jalali, H. R. Sadeghnia, and F. R. Anbarkeh. 2016. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide diazinon on rat ovary and protective effect of vitamin E. *Iranian Journal of Toxicology*. 10(2): 37-44.

Sari, R. M., Rita, R.S., dan Anas, E. 2018. Pengaruh Pemberian Isolat Katekin Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Terhadap Kadar Hormon Testosteron Dan Jumlah Spermatozoa Tikus (*Rattus norvergicus*) Jantan Hiperglikemia. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7: 6-9.

Sarma, D., Sai, K., Babu, A., and Venka Suresh. 2011. Pharmacognostic and Phytochemical Studies of *Ocimum mericanum*. J*urnal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 3(3): 337-347.

Schiffer, L., Barnard, L., Baranowski, E., Gilligan, L., Taylor, A., Arlt, W., Shackleton, C., and Storbeck, K. H. 2019. Human Steroid Biosynthesis, Metabolism and Excretion are Differentially Reflected by Serum and Urine Steroid Metabolomes: A Comprehensive Review. *Journal Steroid Biochem Mol Biol*. 194.

Setijono, M.M. 1985. *Mencit (Mus musculus) Sebagai Hewan Percobaan*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Shah, M.D., and M., Iqbal. 2010. Diazinon-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48(12): 3345-3353.

Shaleha, B.A., Afifah, F., Salamah, N.P., Nursehha, S., Rozni, Z..H.N., dan Sulistyorini, D. 2023. Potensi Dampak Kandungan Residu Pestisida Pada Sayur Dan Buah: Studi Literatur. *Indonesian Journal of Biomedical and Health*. 3 (1): 1-10.

Sherwood, L. 2016. *Human Physiology: From Cells to Systems, 9th Edition*. Cengage Learning. USA. Hlm. 726. Diakses 18 Juni 2024.

Sherwood, L., Kidanorf, Hillar, Yance, and H., Paul. 2005. *Animal Physiology Form Gees to Organism*. Thomson Books cole. United States.

Sholihin, A.M.N., dan Ducha, N. 2024. Pengaruh Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Yang Diberikan Paparan Asap Rokok. *Jurnal LenteraBio*. 13 (2): 289-299.

Soeradi, O. dan Y. A. Nugroho. 2002. Toksisitas Akut dan Efek Pemberian Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap Struktur Anatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 1(1): 35-37.

Sukadiono, Kunsah, B., Rohmayani, V., dan Arimurti, A.R.R. 2023. *Buku Ajar Biologi Sel*. Universitas Muhammadiyah Surabaya. Surabaya.

Susanti, N.F., Itishom, R., dan Khaerunnisa, S. 2020. Ekstrak *Solanum betaceum* Mampu Meningkatkan Tebal Epitel Dan Diameter Tubulus Seminiferus Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Terpapar Timbal Asetat. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 11: 105-109.

Susilawati, T. 2011. *Spermatologi*. Universitas Brawijaya (UB Press). Malang.

Sutyarso, Busman. H., Kanedi. M., and Muhartono. 2016. Rhizome Extract of White Ginger (*Zingiber officinale* Roxb) Maintains Testicular Function of

Aging Mice. *International Journal of Nutrition and Food Science*. 5(3): 175-178.

Sutyarso dan Busman, H. 2003. Hubungan Keadaan Hormon Testosteron Terikat Dengan Jumlah Dan Kualitas Spermatozoa Pria Infertil Idiopatik. *Jurnal Sains Teknologi*. 9(3): 29-34.

Tjitrosoepomo, G. 2009. *Morfologi Tumbuhan*. UGM *Press*. Yogyakarta.

Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.

Tortora, G. J., and Derrickson, B. 2014. *Principles of Anatomy and Physiology', in Principles of Anatomy and Physiology (14th ed.).* United States of America: John Wiley & Sons.

Utama, D.J.S., Susilowati, S., Nurhajati, T., Hernawati, T., Safitri, E., dan Mulyati, S. 2019. Efek Pemberian L-Arginin Terhadap Gambaran Histologi Jumlah Spermatosit Primer Pada Mencit (Mus musculus) Setelah Terpapar Suhu Panas. *Jurnal Ovozoa*. 8(1): 22-25.

Valzon, M., dan Marwan, D.W. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol 96% Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) Terhadap Berat Testis Dan Konsentrasi Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Collaborative Medical Journal (CMJ)*. 1(3): 47-54.

Varghese, A., Angali, C., Ang, W.J., Furquan, P., and Ashok, A. 2014. Anatomy and physiology of male gametogenesis. *Male reproductive system anatomy and physiology*. 4–8.

Van Langendonckt, A., Casanas Roux, F., and Donnez, J. 2002. Oxidative Stress and Peritoneal Endometriosis. *Fertility and Sterility*. (77): 70-861.

Wester, R.C., H.I. Maibach, D.A. Bucks, and R.H. Guy. 1983. Malathion percutaneous absorption after repeated administration to man. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 68(1): 116-119.

Widhiantara, I.G., Rosiana, I.W., Sandhika, I.G.M.S., dan Wiradana, P.A. 2023. Diet Tinggi Kolestrol Menurunkan Sekresi Hormon Testosteron: Studi Literatur. *Jurnal Kesehatan Terpadu*. 7(1): 25-30.

Wisudanti, D.D., Herdiana, F., and Qodar, T.S. 2019. Diazinon Toxicity to Kidney and Liver of Wistar Male Rats in terms of Biochemical and Histopathological Parameters. *J Agromedicine Med Sci*. 5(2): 51.

Wulandari, T. R. I., M. Harini, and S. Listyawati. 2007. Pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap struktur mikroanatomi hepar dan kadar glutamat piruvat transaminase serum mencit (*Mus musculus*) yang terpapar diazinon. *Bioteknologi*. 4(2): 53–58.

Yoriyuliandra. 2012. Perhitungan Dosis untuk Hewan Percobaan. https://dokumen.tips/download/link/perhitungan-dosis-untuk-hewan-percobaan-think-like-a-learner. Diakses pada tanggal 22 Juni 2024.

Zhao, Y., P. M. Vanhoutte, and S. W. S. Leung. 2015. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences*. 129(2): 83-94.