



EKSTRAK DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera*) MEMPERBAIKI HISTOLOGI TESTIS TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI PAKAN TINGGI LEMAK

Sembung (*Blumea balsamifera*) Leaf Extract Improves Testis Histology of High-Fat Diet-Induced Rats

I Gede Widhiantara^{1,*}, A.A. Ayu Putri Permatasari¹, Ferbian Milas Siswanto¹, Ni Putu Eny Sulistya Dewi²

¹Program Studi Biologi, ²Program Studi Ilmu Gizi

Fakultas Ilmu Kesehatan, Sains dan Teknologi, Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali, 80361

*Email: widhiantara@undhirabali.ac.id

ABSTRACT

*High fat and high cholesterol diet cause hyperlipidemia, leading to various health problems including reproductive health. The purpose of this study was to examine the effect of sembung (*Blumea balsamifera*) leaf extract on testicular histology profile of high-fat-diet-induced wistar. This research used 16 adult male rats (*Rattus norvegicus*), aged 3-4 month, weighing 150-200 g, and randomly divided into two groups. Eight rats were treated with distilled water and eight rats were treated with 2 mg/mL *B. balsamifera* extract. High-fat diet was a 30 days of porcine fat feed. The results showed that the diameter of seminiferous tubules, the number of spermatogenic cells of spermatogonium A, spermatocytes Pakiten and spermatid 16 were increased by giving sembung leaf extract for 50 days ($p < 0.05$). These results suggested that the sembung leaf extract improves testis histology of high-fat diet-induced rats.*

Keywords: high-fat diet, rat, sembung leaf, seminiferous tubules, spermatogenic cells

ABSTRAK

Makanan tinggi lemak dan tinggi kolestrol menyebabkan hiperlipidemia yang menimbulkan masalah pada sistem reproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat pemberian ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifera*) terhadap profil tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik pada tikus wistar yang diinduksi pakan tinggi lemak. Sebanyak 16 ekor tikus wistar jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) umur 3-4 bulan, berat 150-200 g, secara random dibagi dua kelompok, yaitu 8 ekor tikus kelompok kontrol (aquades steril) dan 8 ekor tikus kelompok perlakuan (ekstrak daun sembung dosis 2 mg/mL). Tikus diinduksi pakan tinggi lemak berupa lemak babi selama 30 hari. Pada *pretest* dilakukan pemeriksaan diameter tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata diameter tubulus seminiferus tikus meningkat signifikan setelah pemberian ekstrak daun sembung. Peningkatan secara signifikan juga diikuti oleh spermatogonium A, spermatosit Pakiten dan spermatid 16 ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sembung memperbaiki histologi testis tikus wistar yang diinduksi pakan tinggi lemak.

Kata Kunci: daun sembung, pakan tinggi lemak, sel spermatogenik, tikus, tubulus seminiferus

PENDAHULUAN

Pola makan dengan lebih cenderung mengkonsumsi makanan berlemak dan berkolesterol tinggi berisiko menyebabkan peningkatan kadar lipid dalam darah yang dikenal dengan istilah hiperlipidemia. Gambaran klinis yang paling sering didapatkan berupa peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida dan *low density lipoprotein* (LDL) serta penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL) (Shattat 2014). Pakan tinggi lemak dan tinggi kolesterol berkorelasi positif dengan timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit jantung koroner (PJK), diabetes melitus, kanker, obesitas, dislipidemia, stroke, hingga menurunkan fungsi reproduksi pria. Sebelumnya, kami membuktikan bahwa pakan tinggi lemak selama 30 hari menginduksi hiperlipidemia dan menyebabkan kerusakan sistem reproduksi pria antara lain; atrofi tubulus, penurunan motilitas spermatozoa, abnormalitas morfologi spermatozoa, hambatan sekresi hormone testosterone serta *Luteinizing Hormone* (LH), degenerasi sel Leydig dan gangguan spermatogenesis (Permatasari dan Widhiantara 2017).

Kondisi hiperlipidemia berperan signifikan dalam peningkatan produksi radikal bebas dan ketidaksesuaian perkembangan lipid peroksida pada tingkat jaringan. Sehingga keadaan tersebut memicu stress oksidatif yang merupakan suatu patofisiologi infertilitas pada pria (Bisht et al. 2017). Pada tikus hiperlipidemia, terjadi penurunan yang signifikan dari kadar testosterone plasma. Penurunan ini terjadi akibat dari terganggunya poros hipotalamus-hipofise-testis, degenerasi sel Leydig, berkurangnya diameter nukleus sel Leydig, atau karena penurunan aktivitas testikular dari 17β -hidroksisteroid dehidrogenase dan kadar LH (Bashandy 2007).

Beberapa peneliti telah menunjukkan peranan antioksidan dalam menangkal pengaruh radikal bebas (Yulyani et al. 2017; Siswanto et al. 2017; Tarnajaya et al. 2018). Antioksidan dapat berupa enzimatis atau antioksidan primer, dan non-enzimatis atau antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder dapat diperoleh secara melimpah di alam, misalnya vitamin A, C, E, β -karoten dan senyawa flavonoid (Pham-Huy et al. 2008;

Widhiantara et al. 2018). Salah satu tumbuhan dengan kandungan antioksidan yang tinggi adalah sembung (*Blumea balsamifera*). Sembung dikenal sebagai tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat (Suweta 2013). Tumbuhan ini termasuk jenis tanaman liar dan mudah dibudidayakan. Masyarakat Bali umumnya menggunakan bagian daun dari tumbuhan sembung untuk digunakan sebagai *lolah* atau minuman hasil rebusan daun. Selain itu secara umum masyarakat di Indonesia memanfaatkan tanaman sembung untuk mengobati asma, influenza, rematik, nyeri haid, haid tidak teratur, demam, diabetes, diare, perut kembung, batuk, dan bronkhitis (Setyowati 2010).

Tanaman sembung mengandung lebih dari 100 senyawa fitokimia yang tergolong ke dalam senyawa volatil maupun non volatil antara lain minyak atsiri, asam miristat, asam palmitat, tannin dan flavonoid (Pang et al. 2014). Senyawa turunan flavonoid yang terkandung antara lain blumeatin (5,3',5'-trihydroxy-7-methoxy-dihydro-flavone), velutin, tamarixetin, dihidrokuersetin-7,4'-dimetil eter, ombuine, rhamnnetin, luteolin-7-metil eter, luteolin, kuersetin, 5,7,3',5'-tetrahidroksiflavanon dan dihidrokuersetin-4'-metil eter (Nessa et al. 2005). Penelitian membuktikan bahwa tanaman sembung memiliki aktifitas sebagai antitumor, antioksidan, hepatoprotektor, antibakteri, antiinflamasi, antiplasmodial, antitirozin, dan antiplatelet (Pang et al. 2014). Melihat berbagai kandungan senyawa antioksidan khususnya golongan flavonoid pada tanaman sembung, maka tanaman ini sangat berpotensi untuk memperbaiki fungsi reproduksi yang menurun akibat pakan tinggi lemak. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui manfaat pemberian ekstrak daun sembung secara oral terhadap profil tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik pada tikus wistar yang diinduksi pakan tinggi lemak.

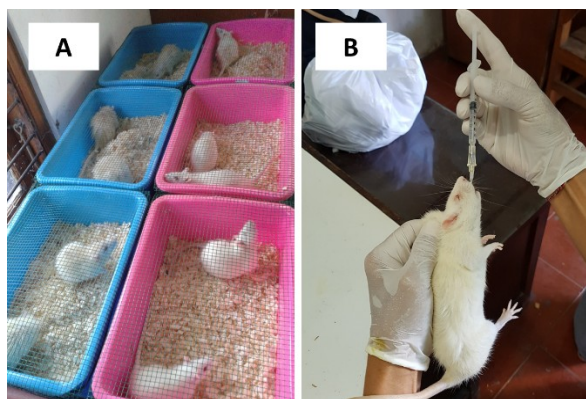
BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian ini adalah *randomized pretest - posttest control group design*. Sampel dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) umur 3-4 bulan dengan kisaran berat badan 150 - 200 gram (Gambar 1A).

Sampel tikus yang dipilih dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol hiperlipidemia yang diberikan aquades steril dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun sembung secara oral. Jumlah sampel yang dipakai berjumlah 8 ekor pada masing-masing kelompok dengan menambahkan 1 ekor cadangan pada kedua kelompok. Pemberian diet tinggi lemak pada kelompok kontrol dan perlakuan (*pretest*) selama 30 hari setelah tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Kemudian pada kelompok kontrol diberikan aquades steril (*posttest*) sedangkan pada kelompok perlakuan diberikan ekstrak daun sembung secara oral sebanyak 2 mg/mL selama 50 hari (*posttest*) (Gambar 1B). Selama penelitian tikus diberikan pakan standar secara *ad libitum*.

Pakan standar yang diberikan adalah Pakan Ayam CP594 dari PT. Pokphand yang mengandung kadar air 13%, protein 17,5-19,5%, lemak 3%, serat 8%, abu 7%, kalsium 0,9%, dan fosfor 0,9%. Pakan tinggi lemak mengandung kolesterol 1%, kuning telur 5%, lemak babi 30%, minyak goreng 5%, makanan standard sampai 100%.

Ekstraksi daun sembung dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Universitas Dhyana Pura (Gambar 2). Sampel daun sembung yang dipilih berukuran sedang dan berwarna hijau yang diambil di daerah Tista, Kerambitan, Tabanan kemudian dibersihkan dari bahan organik asing dan kotoran. Selanjutnya ditimbang sejumlah tertentu, dimasukkan ke dalam *juicer* dan dihancurkan, ditambahkan etanol sebagai senyawa pengekstrak. Lalu dimaserasi selama 24 jam. Selanjutnya disaring beberapa kali untuk kemudian diambil

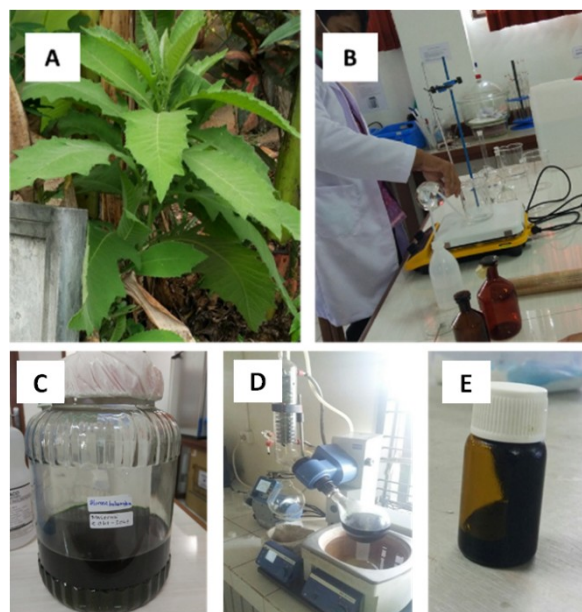


Gambar 1. Hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dalam penelitian ini. (A) tikus dalam kandang. (B) Perlakuan ekstrak daun sembung oral

residunya. Residu dijadikan satu untuk selanjutnya didestilasi untuk memisahkan alkohol dengan ekstrak daun sembung. Setelah terpisah ekstrak diuapkan hingga terbentuk serbuk kering yang kemudian disimpan (Gambar 2). Kadar daun sembung dihitung dengan cara membandingkan bobot daun dengan volume akhir yang diperoleh, hingga diperoleh kadar dengan satuan mg/mL.

Selanjutnya sampel dieutisasi (dimatikan) untuk dibuat preparat histopatologi testis. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penyakit Veteriner, Denpasar. Organ testis yang telah dipisahkan, kemudian difiksasi pada larutan buffer formalin 10% selama 3 jam, lalu dilakukan dehidrasi. Mula-mula pada alkohol 70% selama ½ jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 95% selama ½ jam, kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 100% pertama (I) selama ½ jam, kedua (II) selama 1 jam, ketiga (III) selama 1 jam dan keempat (IV) selama 1 jam.

Kemudian proses *clearing* dimasukkan ke dalam xylol pertama (I) selama 1 jam dan xylol kedua (II) selama 2 jam, kemudian *impregnasi embedding* dengan dimasukkan ke dalam parafin pertama (I) selama 2½ jam dan parafin



Gambar 2. Ekstraksi daun sembung (*B. balsamifera*). (A) Daun sembung yang digunakan. (B) Penambahan etanol pada daun yang sudah dihancurkan. (C) Hasil maserasi. (D) Proses evaporasi. (E) Ekstrak kasar daun sembung

Tabel 1. Profil histologi testis tikus wistar kelompok kontrol yang diinduksi pakan tinggi lemak dan diberikan aquades steril

Variabel	Pemeriksaan	
	Pretest	Posttest
Diameter tubulus (μm)	265,63 \pm 19,25	253,43 \pm 41,43 ^{NS}
Spermatogonium A	35,25 \pm 2,77	37,48 \pm 2,45 ^{NS}
Spermatisit Pakiten	39,05 \pm 2,55	40,03 \pm 1,84 ^{NS}
Spermatid 7	43,35 \pm 2,23	41,03 \pm 2,53 ^{NS}
Spermatid 16	48,9 \pm 3,57	49,03 \pm 2,28 ^{NS}

Keterangan: * $p < 0,05$; NS= tidak signifikan dibandingkan dengan pretest menggunakan *paired t-test*

kedua (II) selama 4 jam. Kemudian dibuat blok parafin dan disimpan dalam almari es. Selanjutnya blok parafin dipotong dengan mikrotom setebal 5 mikron dan dilakukan pewarnaan (*staining*). Pewarnaan sediaan testis dengan Hematoxylin-Eosin (HE), dengan cara pertama deparafinisasi dengan xylol, hidrasi dengan serial alkohol 100% (2 \times 2 menit), 95% (2 menit), 90% (2 menit), 80% (2 menit), 70% (2 menit) kemudian diwarnai dengan hematoxylin selama 1 menit, lalu cuci dengan air keran beberapa menit sampai air bersih, lalu diwarnai dengan eosin biarkan selama 5 menit, lalu cuci 2 kali dengan alkohol 75%, kemudian dilakukan dehidrasi dengan alkohol 95%, bersihkan dengan xylene, selanjutnya dilakukan *mounting* menggunakan entelan.

Pemeriksaan histopatologi testis menggunakan mikroskop elektrik dengan pembesaran 100 kali (10 \times 10) dan 400 kali (10 \times 40). Pengukuran diameter tubulus seminiferus dengan cara mengukur diameter tubulus yang bulat atau dianggap bulat menggunakan *software* ImageJ. Jumlah tubulus yang diukur adalah sebanyak 30 tubulus per sampel. Penghitungan sel-sel spermatogenik dilakukan dengan menghitung spermatogonium A, spermatisit, spermatid 7 dan spermatid 16 sebanyak 5 lapang pandang kemudian dirata-ratakan. Foto histologi diambil menggunakan kamera digital Optilab.

Data rerata diameter tubulus dan jumlah sel-sel spermatogenik dianalisis dengan program SPSS. Uji normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov dan homogenitas data dengan Leven Test. Uji

Tabel 2. Profil histologi testis tikus wistar kelompok perlakuan yang diinduksi pakan tinggi lemak dan diberikan ekstrak daun sembung secara oral sebanyak 2 mg/mL selama 50 hari

Variabel	Pemeriksaan	
	Pretest	Posttest
Diameter tubulus (μm)	265,63 \pm 7,25	339,97 \pm 9,35*
Spermatogonium A	35,85 \pm 1,94	55,1 \pm 3,52*
Spermatisit Pakiten	35,53 \pm 2,79	48,3 \pm 1,96*
Spermatid 7	38,28 \pm 1,98	44,15 \pm 2,53 ^{NS}
Spermatid 16	47,3 \pm 3,57	61,43 \pm 2,32*

Keterangan: * $p < 0,05$; NS= tidak signifikan dibandingkan dengan pretest menggunakan *paired t-test*

beda rerata menggunakan uji *paired t-test* serta *independent t-test* untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun sembung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus yang diberikan aquades steril (kontrol) tidak mengalami perubahan diameter tubulus seminiferus serta jumlah sel-sel spermatogenik (spermatogonium A, spermatisit primer, dan spermatid 16) (Tabel 1). Namun pada kelompok yang diberikan ekstrak daun sembung selama 50 hari, ketebalan tubulus seminiferus serta sel-sel spermatogenik mengalami peningkatan secara signifikan (Tabel 2). Jumlah sel spermatid 7 meningkat tapi tidak signifikan pada kelompok ini ($p > 0,05$).

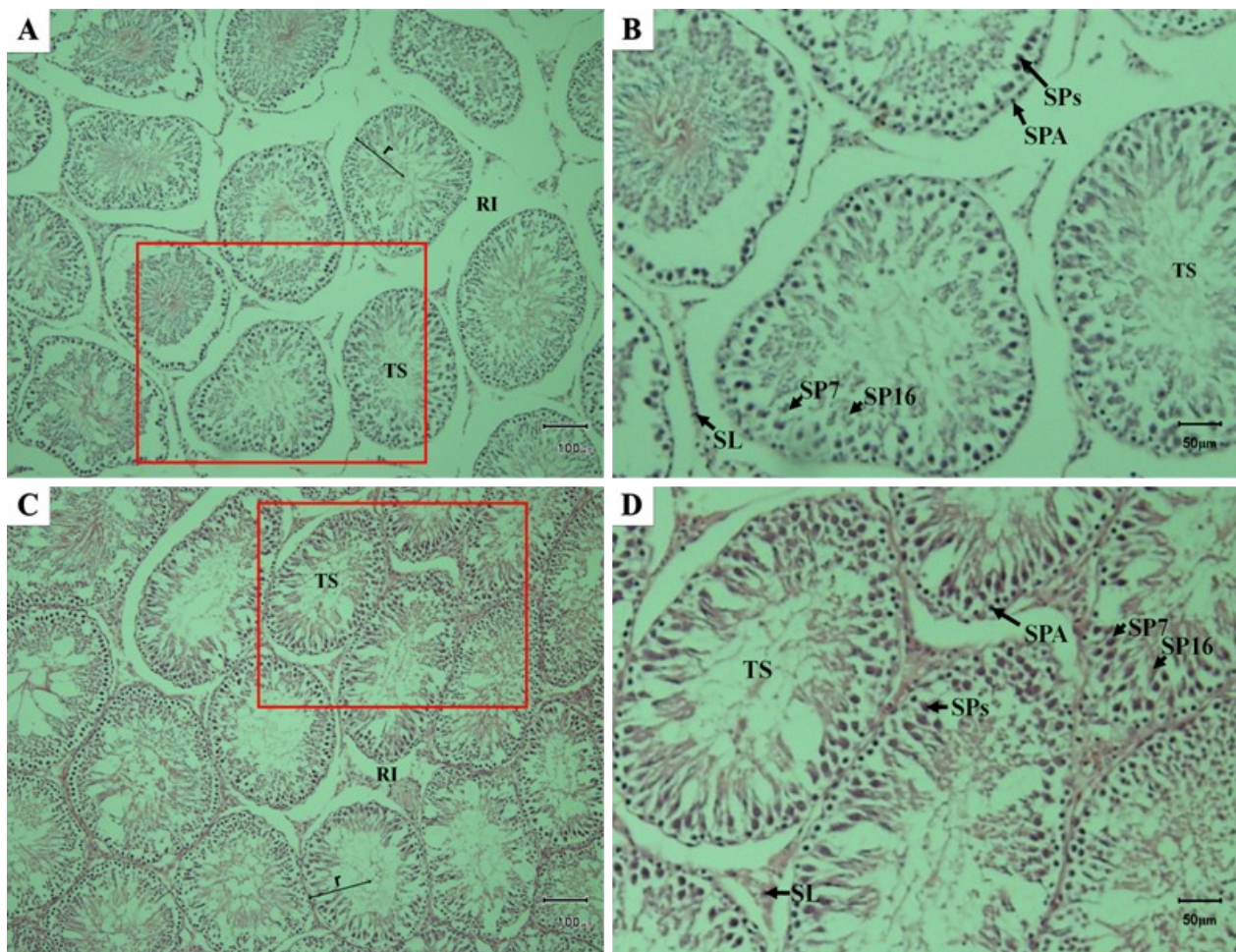
Hasil penelitian menunjukkan pemberian pakan tinggi lemak menyebabkan atrofi tubulus seminiferus pada testis yang ditandai dengan struktur tubulus yang abnormal serta diameter tubulus yang rendah sebelum diberikan perlakuan (*pretest*) yaitu 265,63 \pm 19,25 μm pada kelompok kontrol dan pada kelompok perlakuan 265,63 \pm 7,25 μm . Setelah diberikan perlakuan selama 50 hari, kelompok kontrol menunjukkan tidak adanya perbaikan karakteristik histologi, namun kelompok yang diberikan ekstrak daun sembung menunjukkan perbaikan struktur tubulus dan proses spermatogenesis (Gambar 3, Tabel 3). Kejadian hiperlipidemia akibat pakan tinggi lemak erat kaitannya dengan peningkatan radikal bebas (*Reactive Oxygen Species/ROS*) pada sel dan jaringan

normal. ROS berpotensi toksik hingga mengakibatkan hambatan proliferasi sel, degenerasi bahkan kematian sel (Siswanto et al. 2015; Kartiko dan Siswanto 2018). Pada hasil penelitian ini telah terjadi kerusakan pada struktur membran tubulus berupa fragmentasi tubulus, penurunan diameter, pada membran basal tubulus terlihat tidak ditempati oleh kumpulan spermatogonium.

Hasil pengamatan serupa juga terjadi pada sel-sel spermatogenik tikus yang mengalami hiperlipidemia. Pada lumen tubulus nampak spermatogonium (sel spermatogenik yang paling besar) tidak rapat. Ini terjadi akibat fungsi dan struktur abnormal dari tubulus yang tidak mendukung berlangsungnya proses spermatogenesis.

Spermatogenesis sangat dipengaruhi oleh sekresi hormon testosteron yang dihasilkan oleh sel Leydig pada testis. Tikus yang mengalami hiperlipidemia mengalami penurunan jumlah sel Leydig sehingga menghambat sekresi testosteron (Permatasari dan Widhiantara 2017). Hiperlipidemia juga mengakibatkan terganggunya poros hipotalamus-hipofise-testis sehingga sekresi LH (*Luteinizing hormone*) mengalami gangguan yang menyebabkan stimulasi pada sel Leydig untuk menghasilkan testosteron juga terganggu (Bashandy 2007).

Pada penelitian ini terjadi peningkatan diameter serta jumlah sel-sel spermatogenik setelah pemberian ekstrak daun sembung sebanyak 2 mg/mL per hari secara oral.



Gambar 3. Atrofi tubulus seminiferus terjadi pada tubulus seminiferus testis tikus, pembesaran gambar 100 kali (A) dengan gejala penurunan jumlah SPA dan SPs, diameter TS dan RI yang kosong, pembesaran gambar 400 kali (B). Tubulus seminiferous testis tikus setelah pemberian ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifera*) dosis 2 mg/mL, pembesaran gambar 100 kali (C) merangsang peningkatan SPA dan SPs, diameter TS dan struktur sel-sel pada RI yang lebih rapat, pembesaran gambar 400 kali (D). Keterangan: TS = Tubulus Semineferus; r = radius; RI = Ruang Interstisial; SL = Sel Leydig; SPA = Sel spermatogonium A; SPs = Sel spermatosit; SP7 = Spermatid 7; SP16 = Spermatid 16

Tabel 3. Komparasi rerata tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik tikus wistar antar kelompok sesudah perlakuan (*posttest*)

Variabel	Kelompok	
	Kontrol	Perlakuan
Diameter tubulus (μm)	253,43 \pm 41,43	339,97 \pm 9,35*
Spermatogonium A	37,48 \pm 2,45	55,1 \pm 3,52*
Spermatisit Pakiten	40,03 \pm 1,84	48,3 \pm 1,96*
Spermatid 7	41,03 \pm 2,53	44,15 \pm 2,53 ^{NS}
Spermatid 16	49,03 \pm 2,28	61,43 \pm 2,32*

Keterangan: * $p < 0,05$; NS= tidak signifikan dibandingkan dengan kontrol menggunakan *independent t-test*

Peningkatan terjadi pada jumlah spermatogonium A, spermatisit pakiten dan spermatid 16 secara signifikan ($P < 0,05$) (Tabel 2) dibandingkan dengan *pretest*. Sel spermatid 7 meningkat tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$). Pada gambar histopatologi tampak sel-sel spermatogenik secara kompak memenuhi tubulus seminiferus (Gambar 3C). Rata-rata diameter tubulus pada kelompok kontrol tidak mengalami peningkatan ($p > 0,05$) jika dibandingkan antara sebelum dan setelah pemberian aquades, begitu pula dengan sel-sel spermatogenik ($p > 0,05$).

Sembung memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar lipid darah. Daun sembung mengandung beberapa senyawa aktif yang berpotensi tinggi sebagai antioksidan seperti tannin, saponin, flavonoid dan minyak atsiri. Sebelumnya telah dilaporkan bahwa daun sembung memiliki kandungan total fenolik sebesar 13,15 \pm 0,11 mg GAE/g sampel, kadar tannin sebesar 1,65 \pm 0,01 mg TAE/g sampel, dan kapasitas antioksidan 5,55 \pm 0,01 mg GAE/g sampel (Kusumawati dan Yogeswara 2016).

Beberapa penelitian terkait efek senyawa aktif menunjukkan bahwa flavonoid (Liu et al. 2017), fenol (Shao et al. 2017), tannin (Velayutham et al. 2012) dapat memperbaiki profil lipid. Sebaliknya, penelitian melaporkan bahwa tannin pada daun kaliandra menghambat spermatogenesis dan sekresi hormon testosteron pada tikus (Setyawati et al. 2017), namun pada penelitian ini ekstrak daun sembung memiliki efek positif terhadap testis tikus. Hal ini disebabkan oleh kandungan tannin pada daun kaliandra

cukup tinggi mencapai 25% dibandingkan dengan jenis tanaman hijau golongan legum lainnya. Saponin merupakan senyawa bioaktif yang dapat menghambat biosintesis kolesterol secara eksogen (Kusuma et al. 2011). Senyawa saponin mengikat kolesterol dengan asam empedu sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol pada tikus jantan galur wistar hiperlipidemia (Afrose et al. 2009). Aktifitas senyawa golongan flavonoid pada daun sembung berfungsi sebagai imunomodulator dan antioksidan sehingga mampu menjaga metabolisme sel, meningkatkan regenerasi dan menghambat kerja radikal bebas (Kusuma et al. 2011; Procházková et al. 2011).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun sembung (*B. balsamifera*) memperbaiki profil histologi testis tikus dilihat dari peningkatan diameter tubulus seminiferus dan jumlah sel-sel spermatogenik tikus wistar yang diinduksi pakan tinggi lemak secara signifikan. Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah penelitian lanjutan untuk mengetahui efek ekstrak daun sembung terhadap jumlah sel spermatogenik khususnya sel spermatid pada beberapa konsentrasi berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Universitas Dhyana Pura (Undhira) atas pembiayaan penelitian melalui LP2M Undhira pada skema Hibah Unggulan Undhira. Serta semua pihak yang mendukung sehingga penelitian berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrose S, Hossain MS, Maki T, Tsujii H (2009) Karaya root saponin exerts a hypocholesterolemic response in rats fed a high-cholesterol diet. *Nutr Res* 29:350-354. doi: 10.1016/j.nutres.2009.05.008
- Bashandy AES (2007) Effect of fixed oil of *Nigella sativa* on male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *Int J Pharmacol* 3:27-33. doi: 10.3923/ijp.2007.27.33

- Bisht S, Faiq M, Tolahunase M, Dada R (2017) Oxidative stress and male infertility. *Nat Rev Urol* 14:470-485. doi: 10.1038/nrurol.2017.69
- Kartiko BH, Siswanto FM (2018) Overtraining elevates serum protease level, increases renal p16INK4 α gene expression and induces apoptosis in rat kidney. *Sport Sci Health* 14:331-337. doi: 10.1007/s11332-018-0433-6
- Kusuma IW, Kuspradini H, Arung ET, Aryani F, Min Y-H, Kim J-S, Kim Y-U (2011) Biological activity and phytochemical analysis of three Indonesian medicinal plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea*. *J Acupunct Meridian Stud* 4:75-79. doi: 10.1016/S2005-2901(11)60010-1
- Kusumawati IGA, Yogeswara IBA (2016) Antioxidant and antibacterial capacity of lolo sembung (*Blumea balsamifera*) based on extraction method. *Trad Med J* 21:143-148
- Liu C, Ma J, Sun J, Cheng C, Feng Z, Jiang H, Yang W (2017) Flavonoid-rich extract of *Paulownia fortunei* flowers attenuates diet-induced hyperlipidemia, hepatic steatosis and insulin resistance in obesity mice by AMPK Pathway. *Nutrients* 9:959. doi: 10.3390/nu9090959
- Nessa F, Ismail Z, Karupiah S, Mohamed N (2005) RP-HPLC method for the quantitative analysis of naturally occurring flavonoids in leaves of *Blumea balsamifera* DC. *J Chromatogr Sci* 43:416-420. doi: 10.1093/chromsci/43.8.416
- Pang Y, Wang D, Fan Z, Chen X, Yu F, Hu X, Wang K, Yuan L (2014) *Blumea balsamifera* - A phytochemical and pharmacological review. *Molecules* 19:9453-9477. doi: 10.3390/molecules19079453
- Permatasari AAP, Widhiantara IG (2017) Terapi testosteron meningkatkan jumlah sel Leydig dan spermatogenesis mencit (*Mus musculus*) yang mengalami hiperlipidemia. *J Media Sains* 1:77-83
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008) Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 4:89-96. doi: 23675073
- Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N (2011) Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 82:513-523. doi: 10.1016/j.fitote.2011.01.018
- Setyawati I, Putra I, Roni N (2017) Histologi tubulus seminiferus dan kadar testosteron tikus yang diberi pakan imbuhan tepung daun kaliandra dan kulit nanas. *J Vet* 18:369-377. doi: 10.19087/jveteriner.2017.18.3.369
- Setyowati FM (2010) Etnofarmakologi dan pemakaian tanaman obat suku Dayak Tunjung di Kalimantan Timur. *Media Litbang Kesehat* 20:104-112
- Shao F, Gu L, Chen H, Liu R, Huang H, Chen L, Yang M (2017) Evaluation of hypolipidemic and antioxidant effects in phenolrich fraction of *Crataegus pinnatifida* fruit in hyperlipidemia rats and identification of chemical composition by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadropole time-of-flight mass spectrometry. *Pharmacogn Mag* 13:725-731. doi: 10.4103/pm.pm_402_16
- Shattat GF (2014) A review article on hyperlipidemia: types, treatments and new drug targets. *Biomed Pharmacol J* 7:399-409. doi: 10.13005/bpj/504
- Siswanto FM, Oguro A, Imaoka S (2017) Chlorogenic acid modulates hypoxia response of Hep3B cells. *Pers Med Universe* 6:12-16. doi: 10.1016/j.pmu.2017.03.001
- Siswanto FM, Yenniastuti BP, Putra TA, Kardena IM (2015) Aktivitas fisik maksimal akut (*acute overtraining*) menyebabkan kerusakan sel β pankreas mencit. *J Biomedik* 7:125-130
- Suweta IM (2013) Ecolinguistics approach in preservation rare plants growing in Bali. *Int J Linguist* 5:283-295. doi: 10.5296/ijl.v5i1.3311
- Tarnajaya K, Pangkahila A, Pangkahila W, Siswanto FM (2018) Pemberian ekstrak daun cincau (*Mesona palustris* BL) meningkatkan kadar Superoksida Dismutase (SOD) tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi latihan fisik berlebih. *J Biomedik* 10:9-15
- Velayutham R, Sankaradoss N, Ahamed KFHN (2012) Protective effect of tannins from *Ficus racemosa* in hypercholesterolemia and diabetes

induced vascular tissue damage in rats. Asian Pac J Trop Med 5:367-373. doi: 10.1016/S1995-7645(12)60061-3
Widhiantara IG, Arunngam P, Siswanto FM (2018) Ethanolic extract of *Caesalpinia bonducella* f. Seed ameliorates diabetes phenotype of streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes

rat. Biomed Pharmacol J 11:1127-1133. doi: 10.13005/bpj/1473
Yulyani, Aman IGM, Pangkahila W, Siswanto FM (2017) Pemberian resveratrol oral mencegah peningkatan F2-Isoprostan urin tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar tartrazine. J Biomedik 9:24-29