

ARTIKEL

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) DAN DAUN MINT (*Mentha arvensis*) TERHADAP JUMLAH SEL TESTIS PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)

[*The Effect of Combined Extracts of Gotu Kola (Centella asiatica) and Mint Leaves (Mentha arvensis) on Testicular Cell Count in Male Mice (Mus musculus)*]

A.A. Istri Mas Padmiswari^{1*}, Nadya Treesna Wulansari², Kadek Buja Harditya¹

¹Program Studi Sarjana Terapan Akupuntur dan Pengobatan Herbal, Fakultas Kesehatan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Jalan Tukad Balian No.180 Renon, Denpasar, Bali, Indonesia

²Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Jalan Tukad Balian No.180 Renon, Denpasar, Bali, Indonesia

ABSTRAK

Stres oksidatif merupakan salah satu faktor yang dapat menurunkan fungsi sistem reproduksi jantan, terutama melalui kerusakan pada sel-sel germinal di testis. Upaya preventif yang dapat dilakukan untuk mengatasi kondisi ini adalah dengan pemberian senyawa alami yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin yang banyak terkandung dalam tanaman herbal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kombinasi daun pegagan (*Centella asiatica*) dan daun mint (*(Mentha arvensis)* terhadap jumlah sel testis dan berat testis mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar stres. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima kelompok perlakuan: kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan tiga kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak kombinasi 100 mg/kgBB (P1), 200 mg/kgBB (P2), dan 300 mg/kgBB (P3). Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint diuji menggunakan metode DPPH dengan hasil nilai IC₅₀ tergolong kuat. Parameter yang diamati meliputi berat testis serta jumlah sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kombinasi secara signifikan meningkatkan ($p < 0,05$) berat testis dan jumlah sel testis pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok yang hanya dipapar stres (K+). Kelompok P3 memberikan hasil paling optimal dalam menjaga struktur dan fungsi yang dapat dilihat dari histologi testis. Analisis data dilakukan dengan SPSS versi 22.0 menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk normalitas, uji Levene untuk homogenitas, dilanjutkan dengan ANOVA satu arah dan uji lanjutan Duncan (DMRT). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kombinasi daun pegagan dan mint berpotensi sebagai agen fitoterapi dalam mengurangi dampak stres oksidatif terhadap sistem reproduksi jantan.

Kata kunci: *Centella asiatica*, *Mentha sp.*, antioksidan, stres oksidatif, testis, mencit Jantan

ABSTRACT

Oxidative stress is one of the key factors that can impair male reproductive function, primarily through damage to germ cells in the testes. A preventive approach to counteract this condition is the administration of natural compounds with strong antioxidant activity, such as flavonoids, alkaloids, and tannins, which are abundantly found in medicinal plants. This study aimed to evaluate the effect of combined extracts of gotu kola (*Centella asiatica*) and mint (*Mentha arvensis*) leaves on testicular cell counts and testis weight in male mice (*Mus musculus*) exposed to stress. The research employed a completely randomized design with five treatment groups: negative control (K-), positive control (K+), and three treatment groups receiving combined extracts at doses of 100 mg/kg BW (P1), 200 mg/kg BW (P2), and 300 mg/kg BW (P3). Phytochemical screening confirmed that the combined extracts contained flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, and triterpenoids. Antioxidant activity was assessed using the DPPH method, which showed a strong IC₅₀ value, indicating potent antioxidant capacity. The observed parameters included testis weight as well as the number of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids. The results demonstrated that administration of the combined extracts significantly increased ($p < 0.05$) testis weight and testicular cell counts in the treatment groups compared to the stress-only group (K+). Group P3 showed the most optimal outcome in maintaining testicular structure and function, as evidenced by histological observations. Data analysis was conducted using SPSS version 22.0, with the Kolmogorov-Smirnov test for normality, Levene's test for homogeneity, followed by one-way ANOVA and Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Based on these findings, it can be concluded that the combined extract of gotu kola and mint has potential as a phytotherapeutic agent in reducing the adverse effects of oxidative stress on the male reproductive system.

Keywords: *Centella asiatica*, *Mentha sp.*, antioxidant, oxidative stress, testes, male mice

PENDAHULUAN

Sistem reproduksi pria memainkan peran penting dalam keberlangsungan spesies melalui proses fertilisasi. Salah satu indikator utama dari fungsi reproduksi pria adalah jumlah dan kualitas sel germinal di testis, termasuk spermatogonia, spermatosit, dan spermatid (Vinnata, 2018). Gangguan dalam pembentukan sel-sel ini dapat menyebabkan penurunan kesuburan. Berbagai faktor dapat mempengaruhi kesehatan testis, seperti stres oksidatif, paparan radikal bebas, pola makan yang buruk, serta gaya hidup yang tidak sehat (Rahmadiani, 2021). Stres oksidatif, yang terjadi akibat akumulasi radikal bebas, dapat merusak sel-sel germinal dan jaringan testis, mengganggu proses spermatogenesis, dan memicu apoptosis pada sel-sel testis (Padmiswari *et al.*, 2017). Faktor internal seperti ketidakseimbangan hormon dan kelainan genetik, serta faktor eksternal seperti paparan bahan kimia berbahaya dan infeksi, juga dapat merusak struktur dan fungsi testis (Persada *et al.*, 2023). Dampak dari gangguan-gangguan ini adalah penurunan jumlah sperma, motilitas, dan kualitas morfologi sperma, yang akhirnya berpengaruh pada fertilitas pria (Rahmah, 2020).

Antioksidan memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan sistem reproduksi, terutama melalui mekanisme perlindungan terhadap kerusakan oksidatif (Padmiswari *et al.*, 2023). Dalam kondisi normal, tubuh menghasilkan radikal bebas sebagai hasil samping metabolisme, namun dalam jumlah berlebih, radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif yang merusak sel-sel tubuh, termasuk sel-sel germinal pada testis. Kerusakan ini dapat mengganggu proses spermatogenesis dan menurunkan kualitas sperma, seperti motilitas, viabilitas, dan morfologi (Ronasky *et al.*, 2019). Antioksidan bekerja dengan menetralkan radikal bebas, sehingga mampu mencegah atau memperbaiki kerusakan oksidatif yang terjadi (Widiastini *et al.*, 2021). Berbagai senyawa alami yang bersifat antioksidan, seperti flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan polifenol, diketahui dapat meningkatkan kualitas sperma dan memperbaiki fungsi reproduksi pria (Maidah & Hariani, 2022).

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dikenal sebagai tanaman herbal yang memiliki berbagai manfaat farmakologis, salah satunya adalah sebagai antioksidan alami (Pratiwi *et al.*, 2022). Kandungan senyawa aktif seperti triterpenoid, flavonoid, dan saponin dalam pegagan berperan penting dalam menangkal radikal bebas serta mengurangi stres oksidatif dalam tubuh (Wulansari *et al.*, 2024). Dalam konteks kesehatan reproduksi, stres oksidatif merupakan salah satu faktor utama yang dapat merusak jaringan testis dan mengganggu proses spermatogenesis (Yulianti *et al.*, 2020). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan dapat meningkatkan kualitas sperma, termasuk jumlah, motilitas, dan morfologi, serta melindungi struktur testis dari

kerusakan oksidatif (Wahyuni & Ardiana, 2019). Selain itu, senyawa aktif dalam pegagan juga diyakini dapat membantu menstabilkan kadar hormon reproduksi dan memperbaiki fungsi sel Leydig dan Sertoli yang berperan dalam produksi sperma (Yuliani *et al.*, 2020).

Daun mint (*Mentha* sp.) merupakan tanaman aromatik yang dikenal memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk potensi dalam mendukung fungsi sistem reproduksi (Ismail *et al.*, 2020). Kandungan senyawa aktif seperti mentol, flavonoid, dan fenol dalam daun mint berperan sebagai antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas serta mengurangi stres oksidatif (Sucianti *et al.*, 2021). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun mint memiliki kemampuan untuk memperbaiki kualitas sperma dengan meningkatkan motilitas dan viabilitas sperma serta menjaga integritas membran sel sperma (Farouk *et al.*, 2018). Selain itu, efek antiinflamasi dan antimikroba dari senyawa dalam mint juga dapat melindungi organ reproduksi dari infeksi dan peradangan yang dapat menurunkan fertilitas (Nugroho & Nurdiana, 2020).

Kombinasi antara daun pegagan dan daun mint memiliki potensi terapeutik yang menjanjikan, mengingat keduanya kaya akan senyawa antioksidan yang mampu melawan stres oksidatif. Aktivitas antioksidan dari kedua tanaman ini diyakini dapat memberikan efek protektif terhadap jaringan testis, terutama dalam menjaga integritas histologis sel-sel germinal dari kerusakan akibat radikal bebas. Meskipun masing-masing ekstrak telah banyak diteliti secara terpisah, studi mengenai efek kombinasi keduanya terhadap sistem reproduksi, khususnya jumlah sel testis seperti spermatogonia, spermatosit, dan spermatid, masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint terhadap jumlah sel testis pada mencit Jantan.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan mencit jantan (*Mus musculus*) berusia 8–10 minggu dengan berat 25–30 gram, yang diperoleh dari laboratorium biomedik Universitas Udayana. Hewan ditempatkan dalam kondisi lingkungan terkontrol, dengan siklus terang-gelap 12:12 jam, suhu 22–25°C, serta diberikan pakan dan air secara bebas. Bahan utama berupa ekstrak etanol dari daun pegagan (*Centella asiatica*) dan daun mint (*Mentha arvensis*). Daun pegagan dan daun mint diperoleh dari daerah Bedugul, Kabupaten Tabanan, Bali. Identifikasi jenis tanaman dilakukan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Udayana. Simplisia dikeringkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak disimpan pada suhu rendah hingga digunakan. Bahan tambahan meliputi akuades sebagai pelarut, larutan NaCl fisiologis 0,9%, serta bahan dan alat untuk pembuatan preparat histologi jaringan testis, seperti formalin 10%, alkohol bertingkat, xylol, parafin, mikrotom, kaca objek, kaca penutup, dan pewarna hematoksilin-eosin (HE).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) untuk mengevaluasi efek kombinasi ekstrak daun pegagan dan daun mint terhadap jumlah sel testis mencit jantan dengan nomor surat ijin etik: 04.0261.KEPITEKES-BALI/VII/2024. Penelitian ini melibatkan lima kelompok perlakuan, dengan masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor mencit yang dipilih secara acak. Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok pertama adalah kontrol negatif (K-) yang tidak diberi perlakuan stres maupun ekstrak, sedangkan kelompok kedua adalah kontrol positif (K+) yang diberi perlakuan stres tanpa pemberian ekstrak dan diberikan obat standar Dexamethasone sebanyak 0,2 mg/kg BB. Tiga kelompok lainnya mendapatkan induksi stres serta ekstrak kombinasi daun pegagan dan mint dengan dosis 100 mg/kg bb (P1), 200 mg/kg bb (P2), dan 300 mg/kg bb (P3). Sediaan ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint dibuat dalam bentuk suspensi homogen menggunakan akuades sebagai pelarut. Kedua ekstrak kering ditimbang sesuai dengan dosis 1:1, kemudian dilarutkan dan disuspensikan dalam akuades hingga mencapai volume yang sesuai untuk pemberian oral menggunakan sonde lambung. Induksi stres dilakukan menggunakan metode stressor

imobilisasi, yaitu dengan menempatkan mencit dalam tabung sempit selama 2 jam setiap hari selama 14 hari (Kim & Han, 2023). Setelah periode stres, mencit pada kelompok perlakuan hanya diberikan ekstrak kombinasi daun pegagan dan mint secara oral menggunakan sonde lambung dengan dosis yang telah ditentukan selama 35 hari.

Tahapan Penelitian

Proses Pembuatan Ekstrak

Ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint dibuat melalui metode maserasi. Daun segar dicuci bersih, dikeringangkan di tempat teduh, kemudian digiling menjadi serbuk halus. Campuran serbuk daun pegagan dan mint dengan perbandingan 1:1 ditimbang sebanyak 100gram dan direndam dalam 500 mL etanol 70% selama 3×24 jam pada suhu ruang dengan pengadukan berkala. Filtrat disaring dan proses maserasi diulang dua kali menggunakan pelarut baru, kemudian seluruh filtrat digabungkan. Selanjutnya, pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40–50°C hingga diperoleh ekstrak kental, yang kemudian dikeringkan lebih lanjut dalam oven pengering membran udara panas merek Memmert Universal Oven UN30 pada suhu 40°C. Ekstrak kering disimpan dalam botol gelap tertutup rapat pada suhu 4°C hingga digunakan.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa metabolit sekunder, termasuk flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid menggunakan metode kualitatif standar. Reagen yang digunakan untuk menguji flavonoid adalah HCL pekat, uji alkaloid menggunakan *Dragendorff's reagent*, *Mayer's reagent* dan *Wagner's reagent*, uji saponin menggunakan uji busa (*Foam Test*), uji tanin menggunakan Larutan FeCl₃ 1% dan uji triterpenoid menggunakan reagen *Liebermann–Burchard* (Putri et al., 2023).

Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Ekstrak diuji menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi yang diperlukan untuk mereduksi 50% radikal DPPH.

Uji In Vivo

Penelitian ini menggunakan pendekatan uji in vivo, yaitu pengujian langsung pada organisme hidup (mencit jantan) untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint terhadap sistem reproduksi. Parameter yang diamati meliputi berat testis serta jumlah sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatid, yang diamati melalui preparat histologi testis setelah perlakuan.

Analisis Berat Testis

Berat testis diukur menggunakan timbangan analitik dengan ketelitian 0,001 gram.

Isolasi Jaringan Testis

Pada hari ke-36, mencit dikorbankan dengan metode dislokasi leher. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk mengambil testis. Testis yang telah diambil kemudian dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis untuk menghilangkan sisa darah dan kotoran, setelah itu ditimbang menggunakan timbangan analitik digital merek Ohaus tipe PA214 (Pioneer Analytical Balance) dengan ketelitian 0,001 g kemudian direndam dalam larutan Bouin dan fiksatif NaCl. Selanjutnya, jaringan testis diproses menjadi blok parafin dan dipotong menggunakan mikrotom merek Rotary Microtome tipe Leica RM2235 dengan ketebalan 3–5 μm untuk mendapatkan bagian sel spermatogonia, spermatosit, dan spermatid. Potongan jaringan ini kemudian digunakan untuk analisis histopatologi dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E).

Prosedur Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin

Proses pewarnaan dimulai dengan menghilangkan parafin dari preparat dengan merendamnya dalam larutan silol dua kali selama 30 menit. Kemudian, dilakukan rehidrasi dengan merendam preparat dalam alkohol absolut selama 2 menit, diikuti dengan perendaman dalam alkohol 95% dan 70% masing-masing selama 1 menit. Setelah itu, preparat dibilas dengan air mengalir. Pewarnaan dilakukan dengan hematoksilin selama 8 menit, diikuti dengan pembilasan selama 2 menit. Selanjutnya, preparat diwarnai dengan eosin selama 2 menit dan dibilas kembali dengan air mengalir. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam preparat dalam alkohol 95% dan alkohol absolut, masing-masing dua kali selama 2 menit. Langkah terakhir adalah merendam preparat dalam silol dua kali selama 2 menit, kemudian preparat ditutup dengan kaca penutup menggunakan lem permanen (Permount) dan diberi label.

Analisis Jumlah Sel Testis

Sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatid dihitung pada beberapa lapang pandang acak di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Penghitungan ini bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak sel germinal yang terbentuk dalam kondisi normal dan setelah perlakuan ekstrak.

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak SPSS versi 22.0 untuk Windows. Untuk menguji normalitas distribusi data, digunakan Uji Kolmogorov-Smirnov. Apabila data tidak terdistribusi normal, maka analisis selanjutnya dilakukan dengan menggunakan Uji Kruskal-Wallis. Levene's Test digunakan untuk menguji homogenitas varians antar kelompok. Untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan, dilakukan uji statistik One Way ANOVA. Jika hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, uji dilanjutkan dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT) dengan tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$).

HASIL

Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kombinasi daun pegagan dan daun mint. Hasil uji menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak tersebut mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Data hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kombinasi Daun Pegagan dan Daun Mint (*Phytochemical Test Results of Combination Extract of Gotu Kola and Mint Leaves*)

Senyawa Fitokimia <i>Phytochemical Compounds</i>	Hasil Uji <i>Test Results</i>
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Alkaloid	+
Terpenoid	+

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Note: (+) detected, (-) not detected

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi diuji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yang tergolong kuat.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Ekstrak Kombinasi Pegagan dan Mint (*IC₅₀ Value of Pegagan and Mint Combination Extract*).

Sampel <i>Sample</i>	IC ₅₀ (μg/mL) IC ₅₀ (μg/mL)	Kategori Aktivitas <i>Activity Category</i>
Ekstrak kombinasi Pegagan dan Mint	72,45 ± 3,12	Kuat

Hasil Analisis Berat Testis

Berat testis mencerminkan kesehatan dan aktivitas reproduksi mencit jantan. Hasil pengukuran berat testis pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Berat Testis Mencit Jantan (*Average Weight of Male Mice Testes*).

Kelompok <i>Group</i>	Berat Testis (rata-rata±SD) Testicular Weight (mean±SD)
K-	0,125 ± 0,009
K+	0,093 ± 0,007
P1 (100 mg/kg BB)	0,112 ± 0,008
P2 (200 mg/kg BB)	0,121 ± 0,010
P3 (300 mg/kg BB)	0,128 ± 0,011

Hasil Analisis Jumlah Sel Testis

Jumlah sel testis dihitung melalui pengamatan histologi terhadap preparat testis yang diwarnai menggunakan hematoksilin-eosin. Sel yang diamati meliputi sel spermatogonium, spermatosit, dan spermatid.

Tabel 4. Jumlah Sel Testis per Lapang Pandang (*Number of Testicular Cells per Field of View*)

Kelompok <i>Group</i>	Spermatogonium <i>Spermatogonium</i>	Spermatosit <i>Spermatocyte</i>	Spermatid <i>Spermatid</i>
K-	45,2 ± 3,1	39,8 ± 2,9	58,7 ± 4,2
K+	28,5 ± 2,7	21,3 ± 2,1	35,4 ± 3,5
P1 (100 mg/kg BB)	36,7 ± 3,4	30,5 ± 2,8	46,2 ± 3,9
P2 (200 mg/kg BB)	41,8 ± 3,0	35,9 ± 3,2	53,1 ± 4,1
P3 (300 mg/kg BB)	47,1 ± 3,3	40,7 ± 2,7	60,5 ± 4,4

Hasil menunjukkan bahwa kelompok P3 memiliki jumlah sel testis tertinggi, dengan perbedaan yang signifikan secara statistik dibandingkan kelompok K+ ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi efektif dalam mencegah kerusakan sel testis akibat stres oksidatif.

PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Dari hasil uji fitokimia, terlihat bahwa kombinasi ekstrak daun pegagan dan daun mint mengandung sejumlah senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Kehadiran senyawa-senyawa ini penting karena berperan sebagai antioksidan alami yang dapat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas.

Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yuniarti *et al.* (2018), di mana daun pegagan diketahui mengandung flavonoid dan triterpenoid, dua komponen utama yang punya peran kuat sebagai antioksidan. Sementara itu, penelitian dari Abdullah *et al.* (2020) juga mendukung hasil ini, karena daun mint terbukti mengandung senyawa menthol dan flavonoid yang bersifat antiinflamasi dan antioksidan. Jadi, kombinasi kedua tanaman ini sangat potensial untuk memberikan efek perlindungan, khususnya pada jaringan testis yang rentan terhadap stres oksidatif.

Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Saat diuji menggunakan metode DPPH, ekstrak kombinasi pegagan dan mint menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup kuat, dengan nilai IC_{50} sebesar $72,45 \mu\text{g/mL}$. Ini berarti ekstrak mampu menangkal radikal bebas secara efektif. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin kuat kemampuan antioksidannya dan angka ini sudah masuk dalam kategori kuat menurut standar (Widyaswari *et al.*, 2024).

Temuan ini diperkuat oleh penelitian Rafieian-Kopaei dkk (2014) yang menyatakan bahwa pegagan punya potensi antioksidan tinggi karena kandungan flavonoid dan triterpenoidnya. Daun mint juga mengandung komponen aktif yang mampu menangkap radikal bebas dengan baik (Dorman *et al.*, 2003). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Padmiswari *et al.* (2023) antioksidan kombinasi ekstrak daun pegagan dan daun mint memiliki rata-rata IC_{50} dibandingkan dengan masing-masing ekstrak daun pegagan dan daun mint. Dengan demikian kombinasi kedua ekstrak tersebut menghasilkan sinergi yang baik dalam melindungi sel-sel tubuh, termasuk sel-sel testis.

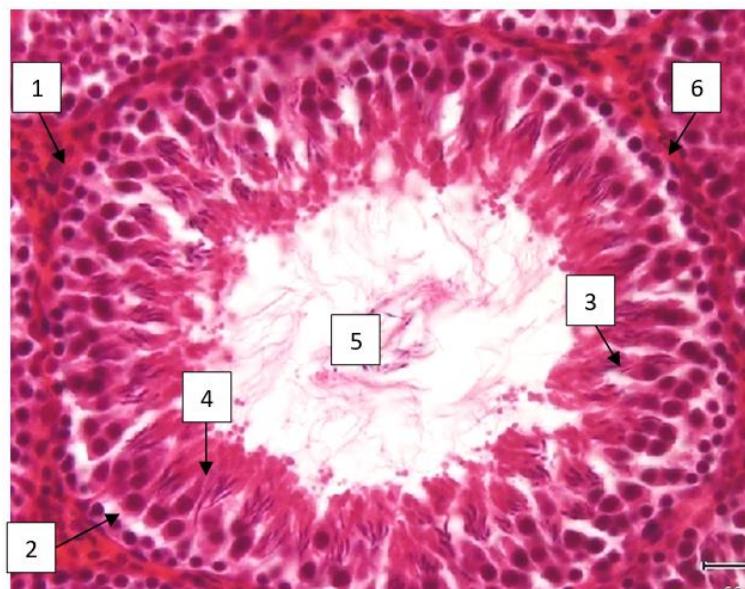
Analisis Berat Testis

Salah satu indikator penting dalam menilai kesehatan reproduksi adalah berat testis. Dalam penelitian ini, mencit yang mengalami stres tanpa perlakuan (K+) menunjukkan penurunan berat testis yang cukup nyata. Hal ini diduga karena stres yang berkepanjangan bisa mengganggu keseimbangan hormon reproduksi dan menyebabkan kerusakan pada jaringan testis.

Sebaliknya, kelompok yang diberi ekstrak kombinasi (terutama P3 dengan dosis tertinggi) menunjukkan peningkatan berat testis, bahkan melebihi kelompok kontrol normal (K-). Hasil ini sejalan dengan temuan dari Nurjanah *et al.* (2019) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak pegagan pada hewan stres bisa membantu memulihkan berat testis. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan aktif dalam kombinasi pegagan dan mint mampu memberikan efek perlindungan serta membantu proses pemulihan jaringan testis yang rusak.

Analisis Jumlah Sel Testis

Melalui pengamatan histologi, terlihat bahwa jumlah sel-sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit, dan spermatid) meningkat secara signifikan pada kelompok yang diberi ekstrak, khususnya kelompok P3. Sebaliknya, kelompok yang hanya mengalami stres tanpa perlakuan (K+) menunjukkan penurunan tajam jumlah sel, yang menunjukkan bahwa stres menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis.



Gambar 1. Histologi Sel Spermatogenik (400x). Ket.:1 = Spermatogonium, 2 = Spermatosit, 3 = Spermatid, 4 = Spermatozoa, 5 = Lumen, 6 = Membran basalis (*Histological Overview of Spermatogenic Cells (400x)*)
Description: 1 = Spermatogonium, 2 = Spermatocytes, 3 = Spermatid 4 = Spermatozoa, 5 = Lumen, 6 = Basal membrane).

Penurunan ini bisa dijelaskan dengan teori dari Siu *et al.* (2009) yang menyebutkan bahwa stres meningkatkan produksi radikal bebas (ROS), yang dapat merusak DNA dan menyebabkan kematian sel. Namun, pada kelompok yang diberi ekstrak, peningkatan jumlah sel menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam pegagan dan mint seperti flavonoid dan saponin mampu menekan efek buruk tersebut dan bahkan mendukung regenerasi sel.

Hal ini sejalan dengan penelitian dari Sharma *et al.* (2011), yang menyatakan bahwa flavonoid dapat meningkatkan pembentukan sel sperma serta mengurangi apoptosis (kematian sel) dalam testis. Dengan demikian, kombinasi ekstrak ini tampaknya bukan hanya melindungi, tapi juga mendorong perbaikan fungsi testis secara keseluruhan.

KESIMPULAN

Ekstrak kombinasi daun pegagan (*Centella asiatica*) dan daun mint (*Mentha sp.*) menunjukkan kandungan senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan yang tinggi, mampu meningkatkan berat testis serta jumlah sel spermatogenik pada mencit jantan yang mengalami stres, sehingga berpotensi mendukung pemulihan dan perlindungan fungsi reproduksi pria dari dampak stres oksidatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Institut Teknologi dan Kesehatan Bali atas dana penelitian yang diberikan, serta semua pihak yang telah mendukung penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

AAIMP: mengumpulkan data penelitian, membuat hasil penelitian, merevisi naskah akhir; NTW: mengolah data penelitian; KBH: membuat draf artikel, merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Abdullah, N. H., Jamal, P., & Alam, M. Z. 2020. Antioxidant and antimicrobial activities of *Mentha sp.* leaf extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(3), pp.87–91.
- Dorman, H. J. D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), pp.715–721.

- Farouk, A., Osman, M., & El-Sayed, A. 2018. Antioxidant and reproductive protective effects of *Mentha piperita* in male albino rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(7), pp.103–108.
- Ismail, A. A., Abdel-Khalek, A. K. E., Khalil, W. A., Yousif, A. I., Saadeldin, I. M., Abomughaid, M. M., & El-Harairy, M. A. 2020. Effects of mint, thyme, and curcumin extract nanoformulations on the sperm quality, apoptosis, chromatin decondensation, enzyme activity, and oxidative status of cryopreserved goat semen. *Cryobiology*, 97, pp.144–152.
- Kim, J. J., & Han, J. S. 2023. Long-term effects of chronic stress models in adult mice. *Brain Research*, 1800, pp.147–157.
- Maidah, N., & Hariani, D. 2022. Ekstrak Daun Pepaya Jepang (*Cnidosculus aconitifolius*) Memperbaiki Kadar Kolesterol, Morfometri, dan Histologi Testis Mencit Hipercolesterolemia. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(1), pp.52–62.
- Nugroho, D. S., & Nurdiana, N. 2020. Efek pemberian ekstrak daun mint terhadap kualitas spermatozoa mencit yang terpapar stres. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 30(1), pp.55–62.
- Nurjanah, S., Wahyuni, S., & Ramadhani, D. 2019. Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap berat testis mencit yang dipapar stres. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1), pp.12–18.
- Padmiswari, A. I. M., Wiratmini, N. I., & Kasa, I. W. 2017. Histologi testis tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi tepung daun lamtoro (*Leucaena leucocephala* Lamk. De Wit) hasil perendaman. *Jurnal Metamorfosa*, 4(2), pp.178–183.
- Padmiswari, A. I. M., Wulansari, N. T., & Indrayoni, P. 2023. Antioxidant activity test of combination of *Centella asiatica* leaf extract and mint leaf extract as an alternative herbal drink. *Jurnal Pijar Mipa*, 18(1), pp.126–129.
- Persada, J. K., Widayanti, E., & Royhan, A. 2023. Literature Review: The Effects of Antioxidant Saponins in Herbal Plants on Testicular Histology of Rats with Diabetes Mellitus and The Review of Islamic Perspective. *Junior Medical Journal*, 1(8), pp.1071–1089.
- Pratiwi, A. R., Nugroho, R. A., & Ramadhani, Y. 2022. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap peningkatan kualitas sperma mencit. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 19(1), pp.34–40.
- Putri, E. L., Sari, N. M., & Andriani, Y. (2023). Phytochemical analysis and antimicrobial potential of *Mentha arvensis* L. leaf extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 16(2), pp.55–60.
- Rahmadiani, D. 2021. Ekstrak pollen kurma (*Phoenix dactylifera* L) sebagai terapi infertilitas pada pria. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(1), pp.31–40.
- Rahmah, W. N. 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Propoelix terhadap Morfologi Motilitas dan Jumlah Sel Spermatozoa Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi oleh Monosodium Glutamat. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 3(1), pp.197–201.
- Rafieian-Kopaei, M., Sewell, R. D. E., & Ansari-Ramandi, M. M. 2014. *Centella asiatica*: A herbal medicine of great potential but controversial findings. *Current Pharmaceutical Design*, 20(30), pp.5211–5216.
- Ronasky, T., Ismy, J., & Dasrul, D. 2019. Pengaruh Pemberian Vitamin E terhadap Morfologi Testis Tikus Strain Wistar (*Rattus novergicus*) dengan Diabetes Melitus Tipe I. *Jurnal Ilmu Bedah Indonesia*, 47(2), pp.33–59.
- Sharma, V., Rajoria, K., & Singh, S. 2011. Role of flavonoids in the treatment of male infertility. *Journal of Natural Pharmaceuticals*, 2(2), pp.96–105.
- Siu, E. R., Mruk, D. D., Porto, C. S., & Cheng, C. Y. 2009. Cadmium-induced testicular injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), pp.240–249.
- Sucianti, A., Yusa, N. M., & Sugihita, I. M. 2021. Pengaruh suhu pengeringan terhadap aktivitas antioksidan dan karakteristik teh celup herbal daun mint (*Mentha piperita* L.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(3), pp.378–388.
- Vinnata, N. N. 2018. Pemberian Fraksi Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap spermatozoa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kesehatan*, 9(3), pp.366–375.

- Wahyuni, S., & Ardiana, R. 2019. Efek pemberian ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) terhadap peningkatan jumlah dan motilitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 11(2), pp.110–116.
- Widiastini, L. P., Karuniadi, I. G. A. M., & Tangkas, M. 2021. Senyawa antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) di Denpasar Selatan Bali. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, 16(1), pp.135–139.
- Widyaswari, S. G., Metusalach, M., Kasmiati, K., & Amir, N. 2024. Bioactive compounds and DPPH antioxidant activity of underutilized macroalgae (*Sargassum spp.*) from coastal water of Makassar, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(1), pp.176–182.
- Wulansari, N. T., Padmiswari, A. I. M., Harditya, K. B., Damayanti, I. A. M., Dharmapatni, N. W. K., & Dewi, K. M. C. 2024. Sosialisasi Potensi Daun Pegagan (*Centella asiatica*) sebagai Minuman Herbal yang Bersifat Antibakteri di Desa Renon. *Jurnal Abdimas ITEKES Bali*, 3(2), pp.81–85.
- Yuliani, S. F., Widyaningsih, T. D., & Wulandari, F. 2020. Potensi antioksidan dari tanaman obat Indonesia terhadap stres oksidatif sistem reproduksi pria. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(3), pp.432–438.
- Yulianti, R., Susantiningsih, T., Khaldun, M. I., & Adhiwigrawan, M. F. 2020. Efek Protektif Zink terhadap Stres Oksidatif Testis dan Kualitas Sperma pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) setelah Diinduksi Cyclophosphamide. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 22(2), pp.63–72.
- Yuniarti, T., Mulyani, A., & Nuryadin, S. 2018. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Kimia Valensi*, 4(2), pp.105–110.