

**Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker)
terhadap Jumlah Folikel Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
yang Diinduksi Bisphenol A**

***The Effect of Ethanol Extract of Bosibosi Leaves (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker)
on the Number of Ovarian Follicles in White Rats (*Rattus norvegicus*)
Induced by Bisphenol A***

Melisa Lidwina Panjaitan, Herbert Sipahutar*

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Medan, Medan, Indonesia

*Corresponding, author: Email: herbert_sipahutar@yahoo.com

Naskah diterima: 5 Juni 2025, direvisi: 12 Juli 2025, disetujui: 20 November 2025

Abstract

The presence of BPA as an endocrine disruptor has had a negative impact, especially on health conditions. Efforts to find natural ingredients that are cheap, safe, and effective for treating diseases caused by BPA toxicity are becoming increasingly important. This study aims to determine the potential of administering ethanol extract of bosibosi leaves (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) on the number of ovarian follicles in white rats (*Rattus norvegicus*) induced by BPA. This study used the CRBD (completely randomized design) method with six treatments and six replications. Group I, rats were only given food and water. Group II, were given 0.5 ml of corn oil. Group III, were given BPA 50 mg/kg/day. Group IV, were given BPA 50 mg/kg/day + EEDB 225 mg/kg/day. Group V, were given BPA 50 mg/kg/day + EEDB 250 mg/kg/day. Group VI, were given BPA 50 mg/kg/day + EEDB 500 mg/kg/day. Treatment was administered orally for 30 days. The results showed that administration of ethanol extract of bosibosi leaves had a significant effect ($p < 0.05$) on body weight, number of secondary follicles, and number of primary follicles. However, administration of ethanol extract of bosibosi leaves did not have a significant effect ($p > 0.05$) on ovary weight and ovary weight ratio.

Keywords: Bisphenol A; Ethanol Extract of Bosibosi Leaves; primary follicles; secondary follicles

Abstrak

Kehadiran BPA sebagai pengganggu endokrin telah memberikan dampak negatif terutama pada kondisi kesehatan. Upaya untuk menemukan bahan alami yang murah, aman dan efektif untuk mengobati penyakit akibat toksisitas BPA menjadi semakin penting. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pemberian ekstrak etanol daun bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) terhadap jumlah folikel ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi BPA. Penelitian ini menggunakan metode RAL (rancangan acak lengkap) dengan enam perlakuan dan enam kali pengulangan. Kelompok I, tikus hanya diberi pakan dan minum. Kelompok II, diberi minyak jagung sebanyak 0,5 ml. Kelompok III, diberi BPA 50 mg/kg/hari. Kelompok IV, diberi BPA 50 mg/kg/hari + EEDB 225 mg/kg/hari. Kelompok V, diberi BPA 50 mg/kg/hari + EEDB 250 mg/kg/hari. Kelompok VI, diberi BPA 50 mg/kg/hari + EEDB 500 mg/kg/hari. Pemberian perlakuan dilakukan secara oral selama 30 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bosibosi tidak memiliki pengaruh signifikan ($p > 0,05$) terhadap berat ovarium dan rasio berat ovarium. Ekstrak etanol daun bosibosi memiliki pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap berat badan, Jumlah folikel sekunder dan jumlah folikel primer.

Kata kunci: Bisphenol A; ekstrak etanol daun bosibosi; folikel primer; folikel sekunder

Pendahuluan

Beberapa dekade terakhir ini bahan kimia pengganggu endokrin (EDC) telah menarik perhatian peneliti karena aktivitasnya yang mengganggu jalur pensinyalan hormon. Salah satu EDC yang paling banyak dipelajari adalah bisphenol A (BPA) (Gorn *et al.*, 2016). Bisphenol A merupakan salah satu monomer yang paling banyak digunakan dalam pembuatan plastik polikarbonat dan resin epoksi serta sebagai penstabil dalam polivinilklorida (Berger *et al.*, 2016). Di Indonesia penggunaan produk yang mengandung BPA dapat dijumpai pada kemasan air isi ulang (galon) berbahan polikarbonat. Badan Pengawas Obat dan Makanan menyebutkan bahwa kemasan ini dapat melepaskan 0,9 bpj BPA ke dalam air minum. Ketika kemasan dipanaskan atau terkena cahaya matahari, BPA dapat terlepas dari polimer melalui proses difusi ke dalam makanan atau air. Di dalam tubuh BPA dapat memicu perubahan sistem hormon dan menyebabkan gangguan kesehatan termasuk penurunan kualitas sperma, gangguan steroidogenesis, gangguan libido dan kesulitan ejakulasi yang jika dibiarkan akan menimbulkan dampak yang sangat merugikan bagi kesehatan manusia (Faadhilah & Ami, 2023).

Rumus kimia BPA ($C_{15}H_{16}O_2$, berat molekul 228,28 g/mol) adalah suatu senyawa kimia sintetis organik turunan difenilmetana dan bifenol dengan dua gugus hidroksifenil (Almeida *et al.*, 2018). Produksi masal dan pengaplikasian yang meluas membuat keberadaan BPA dalam jumlah besar terdeteksi di lingkungan sekitar. Sebuah survei menemukan bahwa sekitar 8 juta ton BPA diproduksi di seluruh dunia setiap tahunnya, dan sekitar 100 ton dapat dilepaskan ke atmosfer dalam kurun waktu 1 tahun (Wang *et al.*, 2019). Manusia dapat terpapar BPA melalui berbagai rute seperti oral, transdermal (kulit) dan saluran pernapasan (Dumitrascu *et al.*, 2020). Kehadiran BPA pada subtansi makanan, dan produk industri dapat mengganggu biosintesis, metabolisme dan aksi hormon, sehingga mengakibatkan gangguan reproduksi (Marliza *et al.*, 2021), menginduksi peningkatan berat badan, percepatan masa pubertas, kanker prostat dan kelenjar tubuh serta diabetes pada manusia dan hewan (Birnbbaum *et al.*, 2012).

Toksistasitas BPA muncul dikarenakan kemampuannya dalam mengganggu jalur sinyal hormon dengan bertindak sebagai modulator estrogen. BPA memiliki afinitas estrogenik yang lemah sehingga mampu berikatan dengan reseptor estrogen yang menginduksi ekspresi gen dan mengganggu jalur sinyal seluler (Nah *et al.*, 2011). BPA bekerja melalui pengacakan hormon yaitu melalui sumbu HPG (Hipotalamus-Pituitari-Gonad) yang berkelanjutan dapat menurunkan siklus estrus menjadi abnormal serta penghambatan enzim aromaterase pada folikel antral dan mengakibatkan penurunan hormon utama estradiol (E2) pada wanita, hal ini dibuktikan dengan pengamatan pada hewan pengerat dan primata (Mustieles *et al.*, 2020). Dampak BPA terhadap sumbu HPG telah didokumentasikan, antara lain perubahan morfologi dan fungsi beberapa organ reproduksi wanita seperti ovarium, rahim dan saluran telur (Berger *et al.*, 2016). Selain itu BPA hampir terdeteksi di dalam semua jaringan dan cairan tubuh manusia, termasuk cairan folikel ($2,4 \pm 0,8$ nM), air susu ibu (1 nM), cairan ketuban (1-9 nM) dan jaringan adiposa (1,80 -12 nM) (Desmarchais *et al.*, 2020; Vandenberg *et al.*, 2010; Fernandez *et al.*, 2007; Ikezuki *et al.*, 2002). Seiring berjalannya waktu, konsentrasi BPA di dalam tubuh dapat meningkat, hal ini akan memberikan dampak negatif terhadap kesehatan manusia. Otoritas keamanan pangan Eropa (EFSA) (2021) menetapkan tingkat asupan BPA yang dapat ditoleransi oleh tubuh manusia yaitu 4 μ g /kg BB/hari. Sesuai dengan PerBPOM No. 20 tahun 2019 tentang kemasan pangan, mengatakan bahwa batas maksimal migrasi BPA 0,6 bpj (600 μ g/kg) dari kemasan polikarbonat (Aulia & Mita, 2023).

Aktivitas BPA pada sistem reproduksi telah dilaporkan, BPA teridentifikasi sebagai xenoestrogen dikarenakan dapat mengganggu fungsi sistem reproduksi, dimana sistem kerjanya yang menyerupai hormon estrogen alami pada tubuh (Mukhopadhyay *et al.*, 2022). BPA juga berdampak dalam peningkatan radikal bebas sehingga memicu stres oksidatif. BPA menyebabkan stres oksidatif pada sel ovarium dengan meningkatkan produksi radikal bebas dalam sel ovarium (Lin *et al.*, 2022). Hal ini dapat terjadi karena BPA meningkatkan aktivitas

enzim yang berperan dalam produksi radikal bebas seperti NADPH oksidase. Meningkatnya enzim NADPH oksidase akan mempengaruhi mekanisme pertahanan antioksidan pada ovarium melalui pengikatan dengan enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) dan katalase. Setelah berikatan, enzim antioksidan akan kehilangan fungsinya dalam menetralkan radikal bebas, sehingga mengakibatkan kerusakan sel dan penurunan fungsi ovarium (Sabry *et al.*, 2020). Dampak kerusakan sel akibat BPA ditunjukkan oleh Cao *et al* (2018), yang melaporkan bahwa pemberian BPA dengan dosis 5, 50 dan 500 /kg BB/hari menyebabkan perubahan struktur sel granulosa yaitu sel tampak mengendur, mengalami degenerasi, pelebaran celah antar sel granulosa dengan membran sel, dan fragmentasi inti menjadi beberapa bagian.

Berdasarkan ulasan mengenai penggunaan BPA yang semakin meningkat dan telah menjadi bagian tak terpisahkan dari kehidupan sehari-hari manusia. Hasil penelitian Sudharakan *et al.*, (2024), melaporkan bahwa BPA mengganggu kesuburan wanita seperti proses folikulogenesis ovarium, menghambat pertumbuhan folikel, menyebabkan atresia folikel dan sindrom ovarium polikistik (PCOS). Jika tidak ditangani dengan baik, penyakit ini dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup. Pada umumnya pencegahan penyakit dilakukan dengan pengobatan bahan kimia, penggunaan obat-obat tersebut justru dapat menimbulkan efek samping yang serius seperti reaksi alergi, ketergantungan dan resistensi sehingga mengurangi efektivitasnya dalam mencegah penyakit. Maka dari itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mendorong penggunaan obat-obatan secara tradisional dalam pencegahan penyakit serta upaya peningkatan keamanan dan kemanjuran obat-obat tersebut. Beberapa tumbuhan obat dilaporkan memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid dengan antioksidan yang cukup tinggi. Aktivitas metabolit tersebut dapat dijadikan sebagai bahan pengobatan penyakit dengan biaya yang murah dan efektif. Penelitian ini memberikan informasi baru terkait dengan potensi tumbuhan bosibosi sebagai terapi preventif dalam memelihara kesehatan reproduksi pada wanita dan sebagai solusi pencegahan penyakit yang lebih aman.

Salah satu tanaman yang telah lama digunakan oleh masyarakat ialah bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker). Tumbuhan bosibosi merupakan tumbuhan famili Rubiaceae yang telah digunakan secara tradisional sebagai bahan obat penawar racun, anti hipertensi dan anti malaria. Hasil penelitian Napitupulu (2015), melaporkan bahwa daun bosibosi mengandung senyawa aktif metabolit sekunder berupa flavonoid, fenolik, saponin dan terpenoid/steroid. Flavonoid telah terbukti memiliki efek estrogenik yang dapat mengikat reseptor estrogen dan mempengaruhi enzim terkait sintesis estrogen di dalam tubuh. Penelitian Sipahutar *et al.*, (2017) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun bosibosi telah terbukti memiliki sifat antidiabetes dan berpotensi sebagai agen imunostimulan. Flavonoid memiliki efek yang bermanfaat dalam mengatur gula darah dan meningkatkan sensitivitas insulin, sehingga membantu mengurangi resiko diabetes dan gangguan metabolisme lainnya termasuk BPA. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mencari potensi tanaman bosibosi (*Timonius flavescens*) sebagai dasar pengembangan terapi alternatif berbasis tanaman lokal yang aman dan efektif dalam melindungi organ reproduksi dari kerusakan akibat paparan senyawa toksik lingkungan.

Materi dan Metode

Peralatan yang digunakan yaitu kandang pemeliharaan tikus berukuran (30x20x15) dan peralatannya, tempat pakan, tempat minum, sarung tangan, timbangan digital (Vernier Veb 2000 C, PT. Andhy Putra, Indonesia) untuk menimbang berat badan, timbangan analitik (HC-B30, PT. Andhy Putra, Indonesia) untuk menimbang organ, sonde lambung (Teleflex, CV. Amor Farm) untuk penginduksian tikus, blender (Miyako, PT. Kencana Gemilang, Indonesia) untuk menghaluskan daun, rotary evaporator (Labtech PT. Sumber Karya Aneka Abadi, Indonesia) untuk membuat ekstrak kental, dan seperangkat alat bedah (GEA, PT. Mega Pratama Medicalindo, Indonesia) untuk membedah hewan, rotary microtom (Leica, PT. Sinar Harapan) untuk pemotongan sampel jaringan, seperangkat alat pewarnaan sediaan histologi (Hemtoxylin-Eosin, PT. Behn Meyer

Agricare, Indonesia), mikroskop cahaya dan fotomikrograf (Zeiss, PT. Berca Prima Internasional, Indonesia) untuk pengamatan mikroskopis sampel histologi.

Bahan yang digunakan meliputi, Bisphenol A (BPA) dengan kemurnian 98% diperoleh dari (Loba Chemie, Mumbai) sebagai bahan induksi, minyak jagung tropicanaslim (PT. Indofood Sukses Makmur, Indoensia) sebagai bahan pelarut BPA. NBF 10% (Miliporesigma, PT. Indrasari, Indonesia) sebagai bahan fiksasi organ, etanol 96% (Pro analisa, UD. Sinar Harapan, Indoensia) sebagai larutan pembuatan ekstrak, Pakan tikus (Pelet A 202 C, PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk, Indonesia) dan air minum (aquadest). Pada penelitian ini sampel tumbuhan yang digunakan untuk bahan baku ekstrak adalah daun bosibosi berwarna hijau tua (*Timonius flavescens*) yang diperoleh di Desa Sipahutar, Sumatera Utara, Indonesia yang dikumpulkan pada bulan Juni 2024. Tanaman ini diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara.

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar betina berumur 1-2 bulan dengan bobot berkisar 150-200 g sebanyak 36 ekor yang diperoleh dari Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara. Tikus telah diidentifikasi di Laboratorium Sistematika Hewan, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara. Penelitian ini telah mendapatkan surat keterangan kelaikan etik No. 0051/KEPT-FMIPA/2024 yang diterbitkan oleh Komisi Etik Penelitian FMIPA, USU,

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang mana untuk berat badan tikus diperoleh dari kisaran berat yang sama dan telah diuji homogenitasnya. Selanjutnya tikus dibagi secara acak ke dalam kelompok perlakuan sehingga mengurangi bias yang mungkin terjadi akibat perbedaan karakteristik tikus. Dengan demikian RAL memungkinkan peneliti untuk menguji efek pemberian ekstrak etanol daun bosibosi pada tikus yang diinduksi BPA, serta membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol. Tikus didistribusikan secara acak kedalam 6 kelompok perlakuan, setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 pengulangan dan setiap 1 ekor tikus

ditempatkan dalam satu kandang berukuran (30x20x15). Adapun pemberian perlakuan masing-masing kelompok dengan cara berikut; kelompok I (P1), tikus diberi pakan dan minum, kelompok II (P2), tikus diberi 0,5 ml minyak jagung, kelompok III (P3), tikus diberi BPA 50 mg/kg/hari, kelompok IV (P4), tikus diberi BPA 50 mg/kg/hari + EEDB 125 mg/kg/hari, kelompok V (P5), tikus diberi BPA 50 mg/kg/hari + EEDB 250 mg/kg/hari, kelompok IV (P6), tikus diberi BPA 50 mg/kg/hati+ EEDB 500 mg/kg/hari. Selama penelitian tikus ditempatkan dalam lingkungan yang terkontrol dengan suhu 22-24 dan kelembaban relatif $55 \pm 5\%$, serta siklus gelap terang (12 jam terang/12 jam gelap) ruangan eksperimen (3x4) dibiarkan secara alamiah untuk meminimalkan stress.

Ekstraksi daun bosibosi dilakukan dengan terlebih dahulu membersihkan daun dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di suhu ruang yang terlindung dari cahaya matahari selama kurang lebih 2 minggu. Sampel yang telah kering kemudian diblender dan disaring dengan ayakan 60 mesh. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun bosibosi dimaserasi dengan pelarut ethanol 96 % sebanyak 5 liter dalam wadah kaca selama 3 hari dengan perbandingan 1:10. Kemudian rendaman maserasi disaring menggunakan kertas saring whatman No.1. Hasil penyaringan kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga menjadi ekstrak kental. Kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

Pada penelitian ini pemberian BPA dilakukan pada pagi hari pukul 09.00 selama 30 hari. Adapun dosis yang digunakan pada penelitian yaitu 50 mg/kg BB/hari, penetapan dosis berdasarkan acuan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Albhoghobeish *et al* (2018), melaporkan bahwa pemberian BPA dengan dosis 50 mg/kg dapat menyebabkan penyusutan diameter dan tinggi epitel tubulus seminiferus. Penentuan volume dosis BPA yang akan

$$\frac{\text{Dosis}}{\text{BB/kg}} = \frac{x}{\text{rata - rata berat badan tikus}}$$

diberikan kepada tikus dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{50}{1000} = \frac{x}{170,2}$$

Misalkan berat badan tikus 170,2 g dan dosis BPA yang diberikan 50 mg/Kg BB. Maka jumlah EEDB yang diberikan secara oral yaitu:

X = 8,51 mg

Pembuatan stok larutan BPA dilakukan selama 1 minggu, pada perlakuan terdapat 4 kelompok yang diinduksi dengan BPA, stok dibuat dengan cara $8,51 \times 10 \times 7 = 595,7 \times 4 = 2.383,8$ mg BPA dilarutkan ke dalam 140 ml minyak jagung ($0,5 \times 10 \times 7 \times 4$). Penginduksian BPA dilakukan secara oral menuju lambung tikus menggunakan sonde (gavage) dengan volume pemberian 0,5 ml/ekor pada masing-masing kelompok perlakuan. Pemberian volume larutan BPA didasari acuan peraturan Menteri Pertanian Nomor 4/4/Permentan/O.T.140/5/tahun 2007 yang menyatakan bahwa volume maksimal pemberian sediaan uji secara oral adalah 5 ml untuk tikus, sehingga pada penelitian ditetapkan besaran volume pemberian tiap kelompok adalah 0,5 ml.

Pada penelitian ini pemberian EEDB (ekstrak etanol daun bosibosi) dilakukan pada pagi hari pukul 11.00, 1 jam setelah induksi BPA. Adapun dosis ekstrak yang digunakan 125, 250 dan 500 mg/kg BB. Penetapan dosis berdasarkan acuan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Lumban gaol *et al.*, (2021), melaporkan bahwa pemberian EEDB dengan dosis 500 mg/kg dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes. Penentuan volume dosis EEDB

$$\frac{\text{Dosis}}{\text{BB/kg}} = \frac{x}{\text{rata-rata berat badan tikus}}$$

yang akan diberikan kepada tikus dihitung berdasarkan rumus:

Misalkan berat badan tikus 170,2 g dan konsentrasi dosis EEDB yang diberikan 125

$$\frac{125}{1000} = \frac{x}{170,2}$$

mg/Kg BB. Maka jumlah EEDB yang diberikan secara oral yaitu :

X = 21,275

Pembuatan stok larutan EEDB dilakukan

selama 1 minggu, maka penentuan dosis EEDB dilakukan dengan cara: $21,275 \times 10$ (jumlah tikus dalam perlakuan) $\times 7$ (hari pembuatan stok) = $1.489,25 \times 0,87 = 1,295 = 1,3$ ml. Karena dosis yang diberikan dalam satuan ml, maka terlebih dahulu diketahui berat ekstrak dan volume ekstrak, $52 \text{ g}/60 \text{ ml} = 0,87 \text{ ml}$. Sehingga didapatkan hasil perhitungan dosis EEDB yaitu 1,3 ml. Selanjutnya ekstrak yang telah dibuat dilarutkan ke dalam CMC 0,5% dengan cara mencampurkan serbuk CMC sebanyak 0,5 g dan 35 ml aquades ke dalam beaker glass kemudian dipanaskan hingga mengental dan tercampur rata. Setelah dingin masukkan 1,3 ml EEDB aduk hingga tercampur rata dan distribusikan ke dalam botol gelap kemudian simpan di lemari pendingin dengan suhu 4. Penginduksian EEDB dilakukan secara oral menuju lambung tikus menggunakan sonde (gavage) dengan volume pemberian 0,5 ml/ekor pada setiap kelompok perlakuan selama 30 hari. Pemberian volume larutan EEDB didasari acuan peraturan Menteri Pertanian Nomor 4/4/Permentan/O.T.140/5/tahun 2007 yang menyatakan bahwa volume maksimal pemberian sediaan uji secara oral adalah 5 ml untuk tikus, sehingga pada penelitian ditetapkan besaran volume pemberian tiap kelompok adalah 0,5 ml.

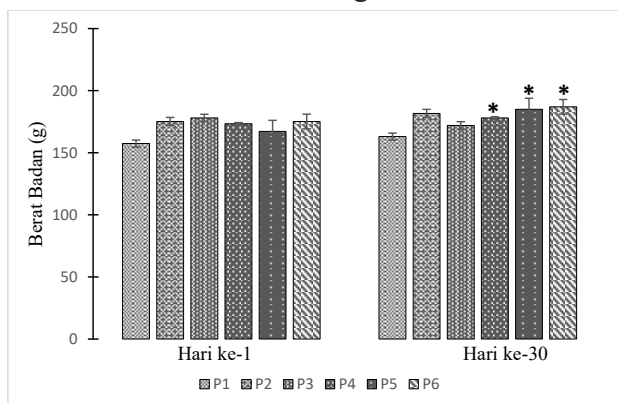
Pengambilan organ dan prosesi jaringan dilakukan dengan pembedahan hewan uji pada hari ke-31 setelah hewan dipuasakan selama sehari. Ovarium dibersihkan dengan cairan NaCL lalu ditimbang dengan timbangan analitik (0,01 g). Selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah botol untuk difiksasi selama 3 hari dengan BNF 10% menggunakan perbandingan paling sedikit 1:40. Pembuatan preparat histopatologi menggunakan metode parafin dan pewarnaan hematoksin-Eosin. Ovarium yang telah difiksasi kemudian dehidrasi dengan alkohol bertingkat, clearing menggunakan xylol, infiltrasi menggunakan parafin cair, selanjutnya embedding dilanjutkan dengan pemotongan menggunakan rotary microtom. Staining menggunakan Hematoksin-Eosin dan diakhiri dengan mounting. Pengamatan sediaan histologi yang telah diwarnai Hematoksin-eosin (HE) dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dan fotomikrograf dengan perbesaran 200x, adapun parameter yang diamati yaitu menghitung jumlah

folikel primer dan folikel sekunder. Pengamatan gambar histologi menggunakan aplikasi image view yang terhubung langsung pada komputer dan mikroskop. Analisis histologi diperoleh dari 3 ekor tikus setiap kelompok untuk mewakili data pemeriksaan histologi. Dalam 1 ekor diwakili 3 slide jaringan dan masing-masing dilakukan pemeriksaan 15 lapang pandang untuk pengamatan folikel primer dan folikel sekunder. Pemeriksaan ini dilakukan secara keseluruhan pada masing-masing kelompok.

Data yang telah diperoleh terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas. Setelah terdistribusi normal dan homogen, data selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%. Jika terdapat perbedaan pada uji one Way ANOVA ($p < 0,05$) maka akan dilakukan uji lanjut menggunakan Post Hoc DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) menggunakan aplikasi SPSS versi 24.

Hasil dan Pembahasan

Data berat badan tikus masing-masing perlakuan (rata-rata \pm SD) g pada hari ke-1 dan hari ke-30 setelah pemberian perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1. Data rata-rata berat badan tikus memperlihatkan perbedaan signifikan pada hari ke-30 ($p < 0,05$ uji ANOVA dan DMRT). Setelah 30 hari pemberian EEDB, terdapat peningkatan berat badan kelompok P4 dan P6. Hal ini mengindikasikan bahwa



pemberian EEDB mempengaruhi berat badan tikus.

Gambar 1. Berat badan tikus setelah pemberian perlakuan EEDB hari ke-1 dan hari ke-30. Tanda (*) menyatakan peningkatan signifikan pada hari ke-30 dibandingkan dengan hari ke-1). Tikus diberi makan dan minum (P1), minyak jagung 0,5 ml (P2), BPA 50mg/kgBB (P3), BPA 50 mg/kg BB

+ EEB 125 mg/kgBB (P4), BPA 50 mg/kg BB + EEB 250 mg/kg BB (P5), BPA 50 mg/kg BB + EEB 500 mg/kg BB (P6)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bosibosi pada kelompok P4 dan P6 mampu meningkatkan berat badan dibandingkan dengan kelompok yang hanya diinduksi BPA. Rata-rata berat badan pada kelompok yang diobati EEDB mengindikasikan bahwa senyawa aktif yang terdapat dalam daun bosibosi, seperti flavonoid berpotensi sebagai anti-obesitas. Flavonoid bekerja melalui pengikatan reseptor estrogen (ER) terutama $ER\alpha$ dan $ER\beta$. Ikatan flavonoid-ER akan menghambat aktivitas estrogenik yang disebabkan oleh BPA. Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Bertoia *et al* (2016), yang melaporkan bahwa flavonoid pada tumbuhan herbal dapat mengendalikan berat badan dan menghambat proses adipogenesis akibat aktivitas BPA di dalam tubuh. Pada penelitian terbukti berat badan menunjukkan pengaruh yang signifikan pada hari ke-30 pemberian perlakuan. Pemberian EEDB menunjukkan efek protektif yang lebih kuat, hal ini mungkin disebabkan oleh aktivitas antioksidan flavonoid yang lebih tinggi, yang secara kumulatif mengatur penyerapan lemak pada tubuh (Yang *et al.*, 2024). Flavonoid dapat menghambat enzim yang terlibat dalam sintesis asam lemak, seperti asam lemak sintase (FAS), sehingga mengurangi pembentukan trigliserida (TG). Mekanisme flavonoid menurunkan trigliserida adalah melalui peningkatan aktivitas enzim LPL, sehingga terjadi hidrolisis pada VLDL (very low-density lipoprotein) yang membawa trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak yang dibebaskan akan diserap otot dan jaringan lain, lalu dioksidasi untuk menghasilkan energi dan jaringan adiposa akan menyimpannya sebagai cadangan energi (Rufino *et al.*, 2020). Adapun faktor lain yang dapat mempengaruhi berat badan tikus yaitu laju metabolisme pada tubuh, susunan genetik, jenis kelamin, usia, aktivitas fisik serta kondisi lingkungan. Penelitian ini belum mengukur regulasi jalur sinyal insulin sehingga efek fungsional terhadap regulasi metabolisme glukosa dan lemak belum dapat disimpulkan secara menyeluruh. Hasil temuan mengindikasikan potensi daun bosibosi

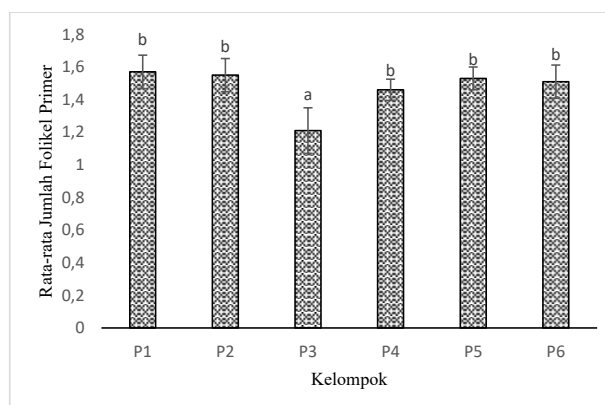
sebagai agen fitoterapi preventif terhadap kerusakan endokrin yang disebabkan oleh BPA, terutama di daerah yang memiliki akses tanaman ini. Penelitian lanjutan disarankan untuk menguji aktivitas farmakologis ekstrak etanol daun bosibosi terhadap ekspresi gen yang terkait dengan metabolisme lemak dan glukosa.

Data berat ovarium dan rasio berat ovarium/berat badan hari ke-30 (rata-rata \pm SD) g dapat dilihat pada Tabel 1. Setelah 30 hari perlakuan data menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan pada berat ovarium ($p > 0,05$ Uji ANOVA) dan rasio berat ovarium ($p > 0,05$ Uji ANOVA). Hal ini membuktikan pemberian EEDB tidak mempengaruhi berat ovarium dan rasio berat ovarium pada tikus yang diinduksi BPA.

Berat organ dapat menjadi indikator penting untuk mengevaluasi kondisi fisiologi dan patologi pada hewan maupun manusia. Perubahan berat organ menandakan adanya perubahan sel-sel organ akibat senyawa kimia (Michael *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil uji ANOVA tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap berat organ dan rasio berat organ antar kelompok perlakuan setelah 30 hari pemberian perlakuan ($p > 0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian EEDB belum mampu mempengaruhi berat ovarium maupun rasio berat ovarium secara signifikan. Penelitian ini sejalan dengan Wang *et al* (2015), yang melaporkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada berat relatif organ ovarium tikus *Sprague-dawley* jantan, yang diberi 50 mg/kg BB teh herbal yang mengandung senyawa flavonoid selama 13 minggu. Tidak adanya perubahan secara signifikan pada berat dan

rasio berat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, perbedaan strain/spesies hewan yang digunakan, jenis kelamin, dosis dan durasi pemberian perlakuan serta faktor lingkungan eksperimen. Penelitian ini belum mengukur mekanisme EEDB dalam membantu jalur pensinyalan hormon reproduksi pada ovarium, sehingga efek fungsional ekstrak bosibosi belum dapat disimpulkan secara menyeluruh.

Data rata-rata jumlah folikel primer (rata-rata \pm SD) per lapang pandang dapat dilihat pada Gambar 2. Setelah 30 hari pemberian perlakuan rata-rata jumlah folikel primer menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$ Uji ANOVA dan Uji lanjut DMRT). Gambar menunjukkan rata-rata jumlah folikel Primer pada kelompok P1 (pakan dan air minum) dan P2 (minyak jagung 0,5 ml) tidak berbeda secara nyata dibandingkan dengan kelompok P4, P5 dan P6.

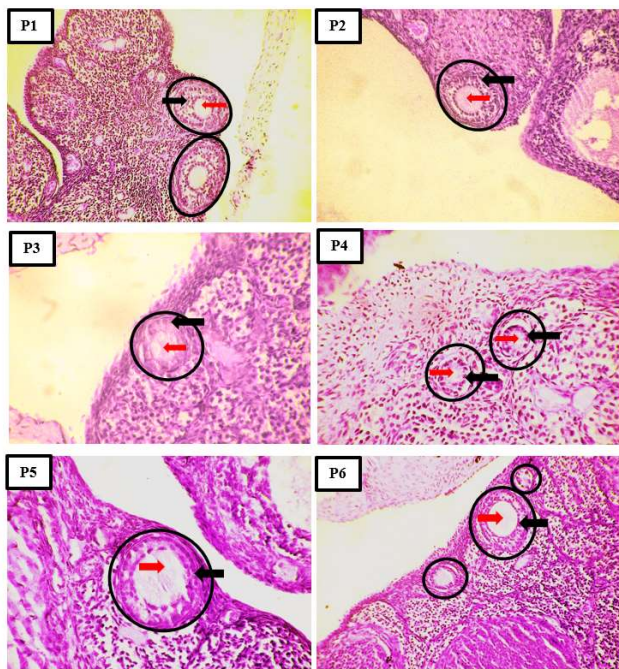


Gambar 2. Rata-rata jumlah folikel primer per lapang pandang setelah 30 hari perlakuan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$ uji ANOVA dan uji lanjut DMRT). Tikus diberi makan dan minum (P1), minyak jagung 0,5 ml (P2), BPA 50mg/kgBB (P3), BPA 50 mg/kg BB + EEB 125 mg/kgBB (P4), BPA 50 mg/kg BB + EEB 250 mg/kg BB (P5), BPA 50 mg/kg BB + EEB 500 mg/kg BB (P6).

Tabel 1. Berat Ovarium dan Rasio Berat Ovarium Dalam Kelompok yang Berbeda.

Kelompok	Berat ovarium (g)	Berat badan (g)	Rasio berat organ/berat badan
P1	0,072 \pm 0,008 a	163 \pm 8,42	0,044 \pm 0,006 a
P2	0,063 \pm 0,015 a	181 \pm 12,27	0,034 \pm 0,007 a
P3	0,062 \pm 0,015 a	172 \pm 18,65	0,035 \pm 0,007 a
P4	0,071 \pm 0,013 a	185 \pm 13,54	0,038 \pm 0,008 a
P5	0,064 \pm 0,011 a	167 \pm 9,35	0,038 \pm 0,007 a
P6	0,063 \pm 0,014 a	187 \pm 14,70	0,034 \pm 0,005 a

Ket: Huruf yang sama pada perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada berat organ maupun rasio berat ovarium ($p > 0,05$ uji ANOVA). Tikus yang diberi pakan dan minum (P1), minyak jagung 0,5 ml (P2), BPA 50 mg/kg BB (P3), BPA 50 mg/kg BB + EEB 125 mg/kgBB (P4), BPA 50 mg/kg BB + EEB 250 mg/kg BB (P5), BPA 50 mg/kg BB + EEB 500 mg/kgBB (P6).



Gambar 3. Histologi folikel primer per lapang pandang (NBF, HE, 200X). Setelah 30 hari perlakuan terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$, uji ANOVA dan uji lanjut DMRT). Lingkaran hitam: folikel primer, panah hitam: sel granulosa, panah merah: oosit. P1= diberi pakan dan minum, P2= 0,5 ml minyak jagung, P3= BPA 50 mg/kg BB, P4= BPA 50 mg/kg BB + EEB 125 mg/kgBB, P5= BPA 50 mg/kg BB + EEB 250 mg/kg BB, P6= BPA 50 mg/kg BB + EEB 500 mg/kg BB.

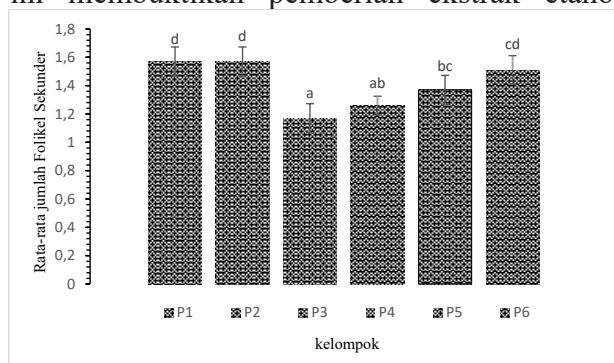
Namun berbeda secara nyata dengan P3, pada kelompok P3 jumlah folikel primer mengalami penurunan dengan jumlah rata-rata paling sedikit. Sedangkan kelompok P4, P5 dan P6 menunjukkan rata-rata jumlah folikel sekunder lebih tinggi. Hal ini membuktikan pemberian ekstrak etanol daun bosibosi kelompok P4, P5 dan P6 memberikan pengaruh terhadap jumlah folikel primer.

Hasil pengamatan gambaran histologi folikel primer setelah 30 hari pemberian perlakuan BPA dan EEDB pada kelompok P3, P4, P5 dan P6 dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar histologi menunjukkan jumlah folikel per lapang pandang, tampak struktur folikel tersusun atas selapis atau beberapa lapis sel granulosa berbentuk kuboid yang mengelilingi oosit primer. Temuan ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bosibosi (EEDB) mampu memelihara dan meningkatkan jumlah folikel sekunder yang mendekati kondisi normal. Pada kelompok P4, P5 dan P6 rata-rata jumlah folikel sekunder adalah sama, hal ini

menunjukkan bahwa efek EEDB pada kelompok perlakuan tidak selalu dipengaruhi oleh besaran dosis yang diberikan. Sebaliknya, pada kelompok P3 (BPA 50 mg/kg BB) menunjukkan rata-rata jumlah folikel primer paling sedikit. Peningkatan rata-rata jumlah folikel disebabkan oleh tingginya aktivitas antioksidan pada daun bosibosi. Napitupulu (2015), melaporkan bahwa ekstrak etanol daun bosibosi memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti, flavonoid, terpenoid, fenolik dan saponin. Kandungan senyawa tersebut bermanfaat sebagai antikanker, antioksidan, anti-inflamasi dan antivirus. Flavonoid bekerja dengan menangkap radikal bebas yang terbentuk akibat stres oksidatif. Flavonoid berikatan dengan enzim antioksidan seperti SOD (Superoksida Dismutase) dan Glutathione peroxidase yang bekerja dengan menghambat peroksidasi lipid dan inflamasi sehingga mengurangi kerusakan jaringan (Lu *et al.*, 2009). Sejalan dengan penelitian Hussein (2020), yang melaporkan bahwa flavonoid dan polifenol merupakan komponen alami yang bermanfaat sebagai anti-inflamasi, antioksidan dan berperan memperbaiki gangguan terhadap sistem reproduksi. Tikus yang diberi senyawa tersebut tidak menunjukkan tanda-tanda kematian, toksisitas serta tidak ada perubahan kandungan dalam darah. Selain itu kadar hormon pembentuk folikel di dalam darah meningkat dan struktur histologis ovarium membaik. Penelitian ini belum mengukur kadar hormon pembentukan folikel dalam sampel darah, sehingga potensi farmakologi ekstrak etanol terhadap hormon pembentukan folikel belum dapat disimpulkan secara menyeluruh. Hasil temuan ini mengindikasikan bahwa EEDB memiliki potensi terapeutik dalam mengatur keseimbangan hormon yang mendorong pembentukan folikel sehat pada ovarium. Oleh karena itu perlu dilakukannya penelitian lanjutan terkait dengan potensi farmakologi EEDB terhadap kadar hormon FSH dan LH di dalam darah dengan metode ELISA

Data rata-rata jumlah folikel sekunder (rata-rata \pm SD) per lapang pandang dapat dilihat pada Gambar 4. Setelah pemberian perlakuan selama 30 hari rata-rata jumlah folikel sekunder menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$ Uji ANOVA dan Uji lanjut DMRT). Data

menunjukkan rata-rata jumlah folikel sekunder pada kelompok P1 (pakan dan air minum) dan P2 (minyak jagung 0,5 ml) berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok P3, P4 dan P5. Pada kelompok P3 jumlah folikel sekunder paling sedikit. Sedangkan kelompok P4, P5 dan P6 menunjukkan rata-rata jumlah folikel sekunder lebih tinggi. Hal ini membuktikan pemberian ekstrak etanol

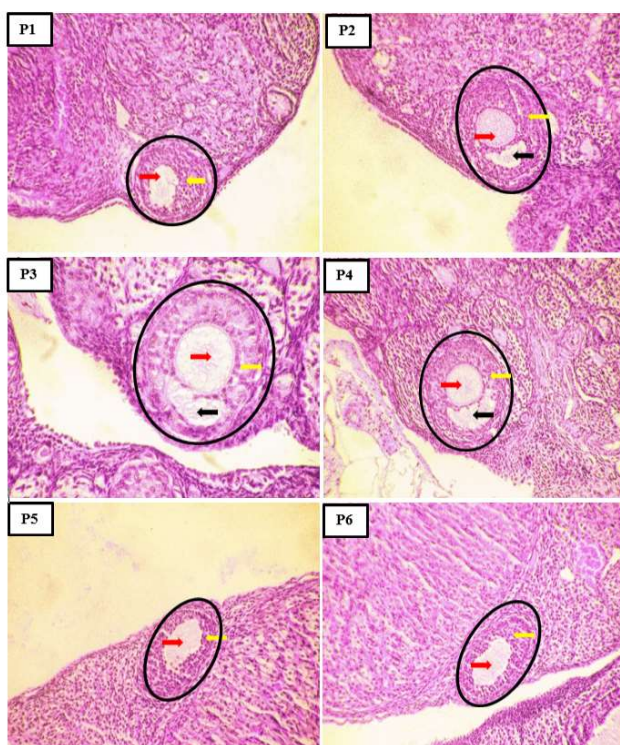


berpengaruh terhadap jumlah folikel sekunder.

Gambar 4. Rata-rata jumlah folikel primer per lapang pandang setelah 30 hari perlakuan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$ uji ANOVA dan uji lanjut DMRT). Tikus diberi makan dan minum (P1), minyak jagung 0,5 ml (P2), BPA 50mg/kgBB (P3), BPA 50 mg/kg BB + EEB 125 mg/kgBB (P4), BPA 50 mg/kg BB + EEB 250 mg/kg BB (P5), BPA 50 mg/kg BB + EEB 500 mg/kg BB (P6).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bosibosi dengan dosis (125, 250 dan 500 mg/kg) mampu memelihara jumlah folikel sekunder secara signifikan dibanding kelompok yang hanya diinduksi BPA. Jumlah folikel primer mengindikasikan bahwa senyawa aktif dalam daun bosibosi seperti flavonoid, tanin, dan fenolik berpotensi melindungi sel yang berperan dalam pembentukan folikel. Kandungan EEDB yang diduga mampu meningkatkan folikel ovarium yaitu saponin dan steroid, senyawa ini terbukti mencegah stres oksidatif dan peradangan sel pada ovarium (Napitupulu, 2015). Kandungan saponin dan steroid yang terdapat pada tumbuhan bosibosi akan diproses di dalam tubuh melalui jalur biosintesis hormon steroid dan dikonversi menjadi hormon estrogen. Pengubahan hormon tersebut memicu peningkatan kadar hormon estrogen di dalam darah. Kadar hormon estrogen yang tinggi di dalam darah akan

memberikan umpan balik pada hipotalamus untuk mensekresikan GnRH. Sekresi GnRH (*Gonadotropin Releasing hormone*) merangsang hipofisis untuk menghasilkan FSH yang menstimulasi perkembangan folikel sehingga terjadi pembentukan folikel baru (Zayani *et al.*, 2023). Hasil ini sejalan dengan Darabi *et al* (2020) yang menyatakan bahwa pemberian senyawa apigenin pada tikus betina berpotensi sebagai agen terapeutik. Hasil ini dibuktikan dengan gambaran histologi ovarium yang menunjukkan bahwa terdapat penurunan ukuran kista dan ketebalan lapisan sel teka pada ovarium, serta terjadi peningkatan jumlah korpus luteum dan sel granulosa secara signifikan, yang mana peningkatan sel granulosa akan mendorong produksi hormon untuk pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium. Penelitian ini belum mengukur potensi EEDB dalam penghambatan apoptosis sel pada folikel ovarium, sehingga potensi farmakologi ekstrak



Gambar 5. Histologi folikel sekunder per lapang pandang (NBF, HE, 200X) setelah 30 hari perlakuan terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$ uji ANOVA dan uji lanjut DMRT). Lingkaran hitam; menunjukkan folikel sekunder, panah merah; oosit, panah hitam; antrum dan panah kuning; sel granulosa. P1= diberi pakan dan minum, P2= 0,5 ml minyak jagung, P3= BPA 50 mg/kg BB, P4= BPA 50 mg/kg BB + EEB 125 mg/kgBB, P5= BPA 50 mg/kg BB + EEB 250 mg/kg BB, P6= BPA 50 mg/kg BB + EEB 500 mg/kg BB.

etanol terhadap hormon pembentukan folikel belum dapat disimpulkan secara menyeluruh. Oleh karena itu perlu dilakukannya penelitian lanjutan terkait dengan potensi farmakologi EEDB terhadap mekanisme penghambatan sel apoptosis pada folikel ovarium dengan berbasis molekuler.

Hasil pengamatan gambaran histologi folikel sekunder ovarium tikus setelah 30 hari pemberian perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5. Gambar histologi menunjukkan jumlah folikel per lapang pandang, tampak struktur folikel sekunder dikeliling beberapa lapisan sel granulosa berbentuk kuboid dengan oosit primer di bagian tengah, dan terdapat antrum yang berisi cairan folikuler.

Kesimpulan

Pemberian Ekstrak etanol daun bosibosi (*Timonius flavescens*) secara signifikan mampu meningkatkan berat badan pada hari ke-30 dibandingkan dengan hari ke-1. Aktivitas senyawa flavonoid yang terkandung dalam EEDB dapat meningkatkan berat badan tikus yang terpapar BPA. Namun tidak terdapat pengaruh signifikan terhadap berat ovarium dan rasio berat organ ovarium. Pemberian EEDB pada kelompok yang diinduksi BPA memiliki pengaruh signifikan terhadap struktur dan fungsi ovarium. Aktivitas senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam EEDB seperti flavonoid, saponin dan steroid dapat mencegah stres oksidatif, mencegah inflamasi, melindungi dan meningkatkan jumlah folikel primer dan sekunder dari dampak yang ditimbulkan BPA.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan yang telah memberikan sarana untuk pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

Abdulhameed, R.A.A., Hasnah, B., Boon, Y.K., Muhammad, N.H.A., Jun, J.T. & Yeo, K.Y. (2022). Adverse effect of bisphenol A on the liver and its underlying mechanisms: evidence from in vivo and in vitro studies.

Biomed Research International, 8227314.

- Alboghobeish, S., Mahdavinia, M., Zeidooni, L., Samimi, A., Oroojan, A. A., Alizadeh, S., Dehghani, M.A., Ahangarpour, A. & Khorsandi, L. (2019). Efficiency of naringin against reproductive toxicity and testicular damages induced by bisphenol a in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 22(3):315-323.
- Almeida, S., Raposo, A., Almeida-Gonzalez, M. & Carracosa, C. (2018). Bisphenol a: food exposure and impact on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6): 1503-1517.
- Atang dan Palupi, S. (2020). Pengaruh Antioksidan Alami pada Berat Testis Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Senyawa Kimia Plastik. *Journal Research of Empowerment and Development*, 1(2), 43–48.
- Aulia, G. & Mita, S.R. (2022). Pengaruh bisphenol-A (BPA) dalam kemasan pangan terhadap kesehatan. *Jurnal Farmaka*, 21(1): 43-49.
- Berger, A. Ayelet, Z., Jonathan., C., Wei, W., Changqing, Z. & Jodi, A.C.(2016). The effect of in utero bisphenol A exposure on the ovaries in multiple generations of mice. *Reproductive Toxicology*, 60: 39-52
- Bakar, A., Izzany, F., Bakar, A., Fadzelly, M., Abdullah, N., Endrini, S. & Rahmat, A. (2018). A review of malaysian medicin a plants with potential anti-inflammatory activity. *Advances in Pharmacological Sciences*, 18:1-13
- Bertoia, L.M., Eric, B.R., Kenneth, J.M., Frank, B.H. & Aedin, C. (2016). Dietary flavonoid intake and weight maintenance: three prospective cohorts of 124 086 US men and women followed for up to 24 years. *British Medical Journal*, 352:17. PMID : 26823518
- Biedermann-Brem, S., Koni, G. & Per, F. (2008). Release of bisphenol a from polycarbonate baby bottles: mechanisms of formation and investigation of worst

- case scenarios. *European Food Research and Technology*, 227:1053-1060.
- Birnbaum, L.S., Jhon, R.B., Gwen, W.C., Darry, C.Z., Anne F, J., Thaddeus T, S. & Jerrold J, H. (2012).
- Consortium-based science: the niehs's multipronged collaborative approach to assessing the health effect of bisphenol A. *Environment Health Perspective*, 120(12): 1640-1644.
- Caserta, D., Di Segni, N., Mallozzi, M., Giovanale, V., Mantovani, A., Marci, R. & Moscarini, M. (2014). Bisphenol a and the female reproductive tract: An overview of recent laboratory evidence and epidemiological studies. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1): 1–10
- Cao, Y., Xinian, Q., Zhang, M., Yanru, Y. & Yuanzhen, Z. (2018). The correlation between exposure to BPA and the decrease of the ovarian reserve. *Int Jurnal Exp Pathol*, 11(7): 3375-3382.
- Darabi. Homaun, K. & Manbobeh, N. (2019). Therapeutic potentials of the natural plant flavonoi apigenin in polycystic ovary syndrome in rat model: via modulation of pro-inflammatory cytokines and antioxidant activity. *Gynecological Endocrinology*, 36(1): 1-6. <https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1706084>
- Desmarchais, A., Ophelie, T., Pascal Papillier, Manon J., Xavier, D., Aurelien, B., Virginie, M. & Sebastian, E. (2020). Bisphenol impaired in vitro ovine early development oocyte competence. *Internasional Journal Molecular*, 21(4): 1238
- Dumitrascu, C.M., Cristian, M., Razvan, C.P., Florica, S., Razvan, I.P., Caludia, M. & Alda, P. (2020). Carcinogenic effects of bisphenol A in breast and ovarian cancers (Review). *Oncology Letters*, 20(6): 1-7
- European Food Safety Authority (EFSA). 2015 . EFSA explain the safety of bisphenol A. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol>
- Faadhilah, H. & Ami, T. (2023). Pencemaran bisphenol A (BPA) dalam kemasan galon dan dampaknya bagi kesehatan. *Jurnal Farmaka*, 21(2): 223-229.
- Fernandez, M.F., Arrebola, J.P., Taoufiki, J., Navalon, A., Ballesteros, R.G., Vilchez, J.L. & Olea, N. (2007). Bisphenol A and chlorinated derivates iin adipose tissue of women. *Reproductive Toxicology*, 24(2): 259-264
- Hussein, E.M. (2020). Ovatrine compound from plant extracts, used to female infertility treatment and increase the number of ovarian follicles. *International Journal Reproduction*, 9(3): 1238-1245.
- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle CJ, et al. *Physiology Liver*. (2025). StatPearls Publishing. Retrieved Mei 15, 2025, from <https://www.ncbi-nlm-nih-gov>
- Kourouma, A., Chao, Q., Peng, D., Suqin, Q., Tingting, Y., Yinan, W. & Kedi, Y. (2015). Bisphenol A induces apoptosis in liver cells through induction of ros. *Journal Advances In Toxicology*, 1-10.
- Li, C., Nan, S., Shaohua, Y. & Hui-li, W. (2023). Effects of BPA exposure and recovery on the expression of genes involved in the hepatic lipid metabolism in male mice. *Journal Toxics*, 11(775): 1-13.
- Li, Y., Zhang, W., Liu, J., Wang, W., Li, H., Zhu, J., Weng, S., Xiao, S. & Wu, T. (2013). Prepubertal bisphenol A exposure interferes with ovarian follicle development and its relevant gene expression. *Reproductive Toxicology*, 44: 33-40.
- Lu, M.J. Peter, H.L., Qizhi, Y. & Changyi, C. (2009). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4):840-860
- LbnGaol, A.Y.D., Syafruddin, I., Salomo, H. & Herbert, S. (2021). Aktivitas antidiabetes dan potensi immunostimulan ekstrak etanol daun bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq) Baker) pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan. *Jurnal Fisika Seri*

- Konferensi*, 1819(1): 1-9.
- Madiyawati, M. (2019). Equence and phylogenetic analysis of bebara medicinal plant (*Timonius flavescens* (jacq.) baker) Based on matk, rbcl and trnl genesin centra Kalimantan, *Iosience Research*, 16(1): 194-207.
- Marliza, H., Eltrikanawati, T., & Arini, L. (2021). Edukasi bahaya penggunaan plastic bagi kesehatan. *Jurnal Pustaka Mitra*, 1(1): 10-14
- Michael, B., Yano, Barry., Sellers, R. S., Perry, R., Morton, D., Roomie, N., Johnson, J. K., Schafer, K.. (2007). Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: a review of regulatory guidelines and a survey of current practises. *Toxicologic Pathology*, 35: 742-750.
- Mukhopadhyay, R., Prabhu, N. B., Kabekkodu, S. P. & Rai, P. S. (2022). Review on bisphenol A and the risk of polycystic ovarian syndrome: an insight from endocrine and gene expression. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(22): 32631–32650.
- Mustieles, V., D’Cruz, S. C., Couderq, S., Rodríguez-Carrillo, A., Fini, J. B., Hofer, T., Steffensen, I. L., Dirven, H., Barouki, R., Olea, N., Fernández, M. F. & David, A. (2020). Bisphenol A and its analogues: A comprehensive review to identify and prioritize effect biomarkers for human biomonitoring. *Environment International*, 144(4): 1-22.
- Nah. H.W., Mijung, P. & Myung, C.G. (2011). Effects of early prepubertal exposure to bisphenol A on the onset puberty, ovarian weights, and estrous cycle in female mice. *Clin Exp Reprod Med*, 38(2): 75-81.
- Napitupulu, A. A. (2015). *Kandungan Metabolit Sekunder dan Bagaimana Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Metanol Daun Bosibosi (Timonius flavescens* (Jacq.) Baker). Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan.
- Peerapanyasut, W., Anongporn, K., Siripong, P., Nipon, C. & Orawan, W. (2019). N-acetylcysteine reduces the severity of distant liver organ dysfunction after acute kidney injury in rats exposed to Bisphenol A. *Antioxidants*, 8(10): 497.
- Rufino, T.A., Vera, M.C., Felix, C. & Eduarda, F. (2020). Flavonoids as antiobesity agents: a Review. *Medical Research Reviews*, 1-30
- Sabry, R., Nguyen, M. Younes, S. & Favetta, L.A. (2022). BPA and its analogs increase oxidative stress level in in vitro cultured granulosa cells by altering anti-oxidant enzymes expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 545:111574
- Sipahutar, H., Adriana. Y.D.L.G. & Eko Prasetya. (2017). Antidiabetic potentials of ethanol extract of
- Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) Leaf. *Tropical Jurnal of Natural Product Research*, 7(1): 2115-2121.
- Vandenberg, I., Chahoud, J., Heindel, V., Paadmanabhan, F. & Paumgarten, G.S. (2010). Urinary circulating and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environment Healt Perspect*, 118(8): 1055-1070
- Wang, K., Zhao, Z., & Ji, W. (2019). Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 117: 2-8.
- Wang, Y., Weizhu., L., Jingming., N., Rihua., H. & Hanping., W. (2015). Major flavonoid constituents and short-term effect of chun mee tea in rats. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(11): 93-98.
- Zaulet, M., Steliana, E.M.K., Sorina, D., Coralia, C., Maria, S., Hildegard, H., Laura, B., Liliana, B., Aurel, A. & Anca, H. (2017). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(3): 821-828.
- Zayani, N., Bela, N.A.S. & Solihati. (2023). Efek pemberian suspensi buah zuriat (*Hyphaene thebaica*) terhadap morfometri ovarium mencit (*Mus musculus* L.) yang terpapar asap rokok. *Jurnal Ilmiah Biosaentropis*, 8(2): 65-76.