

**Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Bosibosi (*Timonius flavescens*) terhadap
Jumlah dan Diameter Pulau Langerhans Tikus Putih
(*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Bisphenol A**

***The Effect of Bosibosi Leaves (Timonius flavescens) Ethanol Extract on
the Number and Diameter of Langerhans Islets of White Rats
(Rattus norvegicus) Exposed to Bisphenol A***

Juwanda Pranata Saragih, Herbert Sipahutar*

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Medan, Medan, Sumatera Utara, Indonesia

*Corresponding author: Email: herbert sipahutar@yahoo.com

Naskah diterima: 2 Juni 2025, direvisi: 8 Juli 2025, disetujui: 20 November 2025

Abstract

Bisphenol A (BPA) is a synthetic chemical compound widely used in the plastic industry and is known to be toxic and disruptive to the endocrine system, including its effects on pancreatic function. Bosibosi leaves (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) contain secondary metabolites such as flavonoids, phenolics, saponins, and terpenoids/steroids. The flavonoids in bosibosi are known to possess high biological activity and have potential as antidiabetic agents. This study aimed to evaluate the effect of ethanol extract of bosibosi leaves on the number and diameter of the islets of Langerhans in white rats (*Rattus norvegicus*) induced with BPA. The study used a completely randomized design (CRD) with six treatment groups and five replications. The rats were administered 0.5 mL of corn oil, a single dose of BPA (50 mg/kg body weight), and combinations of BPA with ethanol extract of bosibosi leaves (EEDB) at graded doses (125, 250, and 500 mg/kg body weight) orally for 30 consecutive days. The normal control group received only standard pellets and water. On day 31, the rats were dissected, structurally had been fixed. ANOVA results showed that EEDB administration did not significantly affect ($P > 0.05$) body weight, pancreatic weight, the pancreatic weight ratio, or the number of islets of Langerhans. However, EEDB had a significant effect ($P < 0.05$) on the diameter of the islets of Langerhans. It can be concluded that the ethanol extract of bosibosi leaves has the potential to protect the structure of the islets of Langerhans from damage caused by BPA exposure.

Keywords: bisphenol A; langerhans islets; pancreas; *Rattus norvegicus*; *Timonius flavescens*

Abstrak

Bisphenol A (BPA) merupakan senyawa kimia sintetis yang banyak digunakan dalam industri plastik dan diketahui bersifat toksik serta mengganggu sistem endokrin, termasuk memengaruhi fungsi pankreas. Daun bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, saponin, serta terpenoid/steroid. Flavonoid dalam bosibosi diketahui memiliki aktivitas biologis tinggi dan berpotensi sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bosibosi terhadap jumlah dan diameter pulau Langerhans tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi BPA. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan lima ulangan. Tikus diberi 0,5 ml minyak jagung, BPA dosis tunggal (50 mg/kg BB), dan kombinasi BPA + ekstrak etanol daun bosibosi (EEDB) dosis bertingkat (125, 250, dan 500 mg/kg BB) secara oral selama 30 hari. Kelompok normal hanya diberi pelet dan air. Pada hari ke-31, tikus dibedah dan pankreas diambil untuk ditimbang serta diproses histologinya. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pemberian EEDB tidak memberikan pengaruh yang

signifikan ($P > 0,05$) terhadap berat badan, berat pankreas, rasio berat pankreas, dan jumlah pulau Langerhans. Namun, EEDB berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap diameter pulau Langerhans. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bosibosi berpotensi melindungi struktur pulau Langerhans dari kerusakan akibat paparan BPA.

Kata kunci: bisphenol A; pankreas; pulau langerhans; *Rattus norvegicus*; *Timonius flavescens*

Pendahuluan

Manusia modern dengan gaya hidup yang cenderung mengutamakan kemudahan, mendorong pemakaian wadah sekali pakai yang dianggap mempermudah aktivitas sehari-hari, termasuk plastik untuk kemasan makanan dan minuman (Diningsih & Rangkuti, 2020). Salah satu jenis plastik yang umum digunakan adalah plastik polikarbonat (PC), yang memiliki sifat kuat, ringan, dan lebih tahan panas dibandingkan plastik lain (Telaumbanua & Rahmadiano, 2022). Senyawa Bisphenol A (BPA) atau 2,2-bis (4-hidroksifenil) propana, adalah senyawa organik sintetik dengan rumus molekul $C_{15}H_{16}O_2$ dan berat molekul 228,28 g, merupakan bahan utama dalam produksi plastik PC (Suyasa *et al.*, 2018). BPA banyak dipakai untuk mensintesis resin epoksi, polimer, dan plastik PC (Manzoor *et al.*, 2022), kemasan makanan, serta bahan industri lainnya. Plastik PC disintesis dengan cara mereaksikan BPA dengan fosgen (karbonil diklorida, $CoCl_2$) (Gusnawati *et al.*, 2023).

Senyawa BPA terbentuk melalui reaksi kondensasi antara dua molekul fenol dan satu molekul aseton dalam pengkatalis asam (Ginter-Kramarczyk *et al.*, 2022), merupakan senyawa padat berbentuk kristal putih yang tetap stabil pada suhu kamar, titik leleh sekitar $156^{\circ}C$ dan titik didih $220^{\circ}C$ (Almeida *et al.*, 2018). BPA telah lama menjadi komponen utama dalam pembuatan resin epoksi dan plastik PC yang dapat ditemukan pada botol air, kaleng, wadah makanan, lensa, perlengkapan kesehatan dan olahraga, serta cat. Manusia berinteraksi dengan sangat intens dengan senyawa ini, dan pemakaiannya sangat luas, menjadikannya sebagai salah satu bahan kimia dengan tingkat konsumsi tertinggi di dunia, yang diperkirakan melebihi 7.348.000 ton per tahun pada tahun 2023 (Oriakpono & Nduonofit, 2021; Zahra *et al.*, 2022).

Senyawa BPA dapat ditemukan dengan mudah dan secara signifikan memengaruhi kehidupan organisme karena keberadaannya di semua sumber daya yang menjadi sarana paparan bagi manusia, baik melalui udara, air, maupun tanah (Vasiljevic & Harner, 2021). Paparan BPA terhadap manusia terbagi menjadi tiga jalur utama, yaitu lingkungan, pekerjaan, dan konsumsi makanan yang terkontaminasi (Manzoor *et al.*, 2022). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jalur utama paparan BPA pada manusia adalah melalui konsumsi secara oral, yang diperkirakan menyumbang sekitar 90% dari total paparan (Ohore & Songhe, 2019). Senyawa BPA memiliki struktur kimia yang menyerupai hormon estrogen, sehingga saat memasuki tubuh, senyawa ini dapat meniru aktivitas estrogen (Kim *et al.*, 2020). BPA termasuk dalam kelompok senyawa pengganggu endokrin (*endocrine disrupting chemicals/EDC*) yang dapat memengaruhi proses biosintesis, sekresi, maupun metabolisme hormon alami dalam tubuh. Selain berdampak pada sistem hormonal, BPA juga diketahui dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas yang mengarah pada terjadinya stres oksidatif (Wisesa *et al.*, 2020). Stres oksidatif dapat merusak molekul biologi yang terdapat di dalam tubuh seperti lipid, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Siswanto *et al.*, 2015). Jika proses ini berlangsung dalam waktu yang lama, akumulasi kerusakan oksidatif dapat terjadi pada sel dan jaringan, sehingga menyebabkan hilangnya fungsi jaringan tersebut (Pangkahila *et al.*, 2019). BPA dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan, seperti gangguan sistem reproduksi dan metabolisme, memicu diabetes (khususnya diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) dan penyakit kardiovaskular (Mukhopadhyay *et al.*, 2022; Faadhilah & Tiitraesmi, 2023), kerusakan otak yang memicu gangguan perilaku, gangguan sistem hormonal yang berdampak negatif pada

kesehatan fisik dan perkembangan anak (Putri *et al.*, 2021). Selain itu, BPA dapat merusak kromosom, ovarium, dan menurunkan jumlah sperma (Lubis *et al.*, 2021).

Paparan BPA dalam kadar tertentu menyebabkan kerusakan sel β pankreas, yang kemudian memicu berkembangnya diabetes. Pankreas terdiri dari dua bagian utama, yaitu kelenjar eksokrin yang berupa asinus serous dan kelenjar endokrin yaitu pulau Langerhans. BPA mendorong patogenesis utama DMT2, termasuk resistensi insulin, gangguan sekresi insulin dan glukagon, serta disfungsi dan cedera sel β pankreas. BPA juga berperan dalam meningkatkan stres metabolik akibat kadar glukosa yang tinggi, mempercepat penuaan sel, serta memicu proses kematian sel terprogram (apoptosis), yang selanjutnya dapat berkontribusi pada perkembangan diabetes mellitus (Jiang *et al.*, 2023).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional adalah bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker). Di wilayah pedesaan seperti Tapanuli, Sumatera Utara, tanaman ini sudah dikenal sejak lama. Masyarakat di Tapanuli dan daerah pesisir Sibolga, Tapanuli Tengah, telah memanfaatkan bosibosi untuk menjaga kesehatan dan menjaga kebugaran tubuh. Tumbuhan bosibosi merupakan salah satu tumbuhan famili Rubiaceae yang memiliki beberapa khasiat yang diketahui dapat meningkatkan produksi air susu ibu (ASI) setelah melahirkan (Madiyawati *et al.*, 2019), antiinflamasi (Bakar *et al.*, 2018), dan menghambat aktivitas enzim lipoksigenase (Chung *et al.*, 2009). Menurut penelitian Napitupulu (2015), daun bosibosi mengandung senyawa metabolit sekunder aktif, seperti flavonoid, senyawa fenolik, saponin, serta terpenoid atau steroid. Flavonoid yang terkandung dalam bosibosi memiliki aktivitas yang cukup tinggi dan berpotensi sebagai antidiabetes. Penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun bosibosi mengandung flavonoid dalam kadar yang relatif besar, yaitu sebesar 28,81 QE/g. Selain itu, ekstrak etanol tersebut mengandung senyawa flavonoid spesifik seperti kuersetin, apigenin, chrysin, dan kaempferol (Laily, 2016). Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada

berbagai konsentrasi ekstrak metanol daun bosibosi menunjukkan hasil yang signifikan. Nilai IC₅₀ dari ekstrak tersebut tercatat sebesar 35,757 ppm, yang menurut klasifikasi Blois termasuk dalam kategori antioksidan kuat (Napitupulu, 2015). Selain itu, Chung *et al* (2009) juga melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *Timonius flavescens* (famili Rubiaceae) dengan konsentrasi 8,9 μ g/mL mampu menghambat aktivitas enzim lipoksigenase secara efektif, dengan tingkat penghambatan lebih dari 70%. Enzim 5-lipoksigenase (5-LOX) memiliki peran krusial dalam proses inflamasi serta perkembangan beberapa jenis kanker, khususnya kanker payudara, pankreas, dan prostat. Berdasarkan hal tersebut, penelitian diperlukan untuk mengevaluasi lebih lanjut terkait pengaruh ekstrak etanol daun bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) terhadap gambaran histopatologi pankreas dan testis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan BPA.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilakukan dengan mematuhi pedoman etika yang ditetapkan oleh Komite Etik Penelitian Hewan Universitas Sumatera Utara, yang sesuai dengan standar internasional mengenai kesejahteraan hewan. Semua prosedur yang melibatkan hewan, khususnya tikus putih, dilakukan dengan mengutamakan prinsip Replacement, Reduction, dan Refinement untuk meminimalkan penderitaan dan stres hewan uji percobaan. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini diberikan anestesi sesuai prosedur yang telah disetujui, dan setiap upaya dilakukan untuk mengurangi rasa sakit selama dan setelah eksperimen. Setelah eksperimen selesai, nekropsi dilakukan oleh personel yang terlatih untuk memastikan pengambilan sampel dilakukan secara humanis dan efisien. Semua tindakan ini dilaksanakan dengan tujuan untuk memastikan bahwa penelitian ini tidak hanya memberikan kontribusi ilmiah yang signifikan, tetapi juga menghormati kesejahteraan hewan yang terlibat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi wadah aklimatisasi yang digunakan berupa kotak plastik ukuran 30 x 20 x 15 cm, lengkap dengan botol minum dan mangkuk

pakan plastik (merek Lion Star, Indonesia) serta jaring kawat (merek Forte Mesh, Indonesia) sebagai penutup kandang. Untuk ekstraksi daun bosibosi digunakan rotary evaporator (merek Heidolph, Jerman), beaker glass dan erlenmeyer (merek Pyrex, USA), spatula logam (merek Krisbow, Indonesia), botol kaca bening dan gelap (merek Schott Duran, Jerman), corong kaca, aluminium foil (merek Diamond, Indonesia), labu ukur (merek Pyrex, USA), kertas saring Whatman no. 1 (merek GEA, Indonesia), blender (merek Philips HR2115, Belanda), dan timbangan digital (merek Camry, China). Alat penginduksian meliputi syringe 1 ml (merek OneMed, Indonesia), sonde lambung stainless, kapas (merek OneMed, Indonesia), dan stoples kaca (merek Kedaung, Indonesia) untuk anestesi tikus. Untuk pemeriksaan histopatologi digunakan cawan petri dan beaker glass (merek Pyrex, USA), timbangan analitik (merek Shimadzu, Jepang), gunting bedah dan pinset (merek GEA atau OneMed, Indonesia), bak paraffin (Bio Optica, Italia), mikroskop cahaya (merek Olympus, Jepang), botol sampel kaca, glass objek dan cover glass (merek Menzel-Gläser, Jerman), coplin jar kaca, oven pengering (merek Memmert, Jerman), mikrotom (merek Leica, Jerman), serta perlengkapan pewarnaan seperti rak pewarna dan wadah pencelup (merek Leica, Jerman)

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari daun bosibosi (*Timonius flavescens*) yang diambil dari daun hijau tua bagian bawah tanaman. Etanol 96% (merek Brataco, Indonesia) digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi, menghasilkan ekstrak etanol daun bosibosi (EEDB) yang kemudian dilarutkan dalam CMC 0,5% (merek Brataco, Indonesia). Bahan kimia lain yang digunakan termasuk eter (Brataco, Indonesia), tisu (merek Paseo, Indonesia), alkohol 70%, 96%, dan absolut (Brataco, Indonesia) untuk dehidrasi jaringan, larutan pewarna hematoksin-eosin (merek Merck, Jerman), minyak jagung (merek Tropical, Indonesia), BPA (bisphenol A, kemurnian $\geq 98\%$, merek Sigma-Aldrich, USA), kloroform (merek Brataco, Indonesia) untuk anestesi, aquades (merek Ikapharmindo, Indonesia), larutan NaCl 0,9% (merek Otsuka, Jepang), xylene (merek Brataco, Indonesia), dan formalin buffer 10%

(merek Brataco, Indonesia). Hewan percobaan menggunakan tikus putih jantan galur *Wistar* berumur 2–3 bulan dengan berat 150–200 gram diperoleh dari Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara, Indonesia. Tikus ditempatkan dalam kandang yang dialasi sekam padi kering dan diberi mineral aqua serta pakan pelet 202 C (diproduksi oleh PT Japfa Comfeed Indonesia Tbk) yang mengandung jagung, bungkil kedelai, tepung daging dan tulang, dedak, gandum, vitamin, mineral, dan antioksidan.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* jantan, berusia antara 2-3 bulan, dengan berat badan 150-200 gram, dan dalam kondisi sehat. Hewan coba tersebut diperoleh dari Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara (USU).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang menerapkan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pembagian kelompok sampel tikus mengikuti prinsip RAL, di mana tikus diambil secara acak dan dibagi menjadi 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Setiap tikus ditempatkan secara individual dalam kandang yang telah disediakan. Tikus terlebih dahulu menjalani proses aklimatisasi selama 14 hari untuk menyesuaikan kondisi fisiologis dengan lingkungan baru di Rumah Hewan Jurusan Kimia Universitas Negeri Medan. Kandang dilengkapi dengan tutup kawat dan alas sekam padi setebal 0,5 cm, yang diganti setiap hari untuk menjaga kebersihan dan kenyamanan hewan. Pemeliharaan dilakukan dalam ruangan eksperimen berukuran 3 x 4 meter dengan kondisi suhu 22–24°C dan kelembapan relatif 50–60%, sesuai dengan rekomendasi standar perawatan tikus putih. Siklus pencahayaan diatur secara alami dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap setiap harinya, guna meniru kondisi lingkungan alami dan mengurangi stres pada hewan percobaan. Selama masa aklimatisasi, tikus diberi pakan standar dan air minum secara *ad libitum*, serta dilakukan pemantauan berat badan setiap hari untuk memastikan kesehatan dan kesejahteraan hewan. Setelah periode aklimatisasi selesai, tikus didistribusikan secara acak ke dalam enam kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari lima ekor, dengan

penempatan satu ekor per kandang sesuai dengan dosis perlakuan yang telah ditentukan. Perlakuan terhadap tikus dibagi menjadi 6, dengan deskripsi seperti tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Deskripsi perlakuan kelompok.

Kode Perlakuan	Deskripsi Perlakuan
P1	Pelet + Air (kontrol normal)
P2	0,5 ml minyak jagung
P3	BPA 50 mg/kgBB
P4	BPA 50 mg/kgBB + EEDB 125 mg/kgBB
P5	BPA 50 mg/kgBB + EEDB 250 mg/kgBB
P6	BPA 50 mg/kgBB + EEDB 500 mg/kgBB

Daun bosibosi (*Timonius flavescens*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kecamatan Tukka, Kabupaten Tapanuli Tengah, Sumatera Utara. Daun yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua yang berada di bagian bawah dan bukan bagian atas daun. Sebanyak 8.000 gram bobot basah daun dibersihkan dari ranting dan batang yang masih tertinggal kemudian dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari, pengeringan dilakukan dengan diangin-anginkan pada suhu ruangan sekitar 25-30°C. Pengeringan dilakukan kurang lebih 2 minggu sampai warna daun tampak kecoklatan dengan tekstur yang rapuh. Setelah proses pengeringan, daun diolah dengan blender hingga menjadi serbuk. Simplisia kemudian disaring menggunakan ayakan berukuran 40 mesh untuk memperoleh serbuk halus daun bosibosi yang siap digunakan dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun bosibosi dimasukkan ke dalam botol maserasi, kemudian ditambahkan 5 liter etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Campuran tersebut direndam selama tiga hari dengan pengadukan sekali sehari. Setelah itu, larutan disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Hasil filtrat kemudian dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu di bawah 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental dari daun bosibosi.

Pada penelitian BPA yang digunakan berbentuk kristal. Sebelum digunakan BPA harus dilarutkan terlebih dahulu sesuai dosis kebutuhan dengan cara di gerus atau dihaluskan. Selanjutnya, ditambahkan dengan minyak jagung (corn oil) sebagai pelarut dikarenakan minyak jagung sangat mudah di cerna, menyediakan energi dan asam lemak esensial sehingga tidak menimbulkan pengaruh terhadap penelitian. Dalam proses preparasi BPA dosis yang telah disiapkan dengan satuan gram pada setiap kelompok harus di larutkan dengan menggunakan minyak jagung sebanyak 0,5 ml. Larutan stok BPA dibuat setiap minggu dengan melarutkan BPA ke dalam minyak jagung hingga mencapai konsentrasi tertinggi yang diinginkan, kemudian dikemas kedalam botol lalu ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan disimpan (4°C) sampai akan digunakan. Dosis akan diberikan secara oral langsung menuju lambung menggunakan sonde/gavage lambung setiap hari, penentuan dosis sesuai dengan ketentuan yang telah ditetapkan. Perlakuan diberikan pada pukul 09.00-12.00 WIB selama 30 hari.

Pengamatan berat organ berupa pankreas dilakukan setelah selesai perlakuan atau pada saat dilakukan pembedahan pada hari ke-31. Tikus dibius dengan dietil eter. Kemudian tikus dieuthanasia untuk pengambilan organ, selanjutnya organ pankreas ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dengan ketelitian 0,1 miligram. Selanjutnya, organ langsung di fiksasi menggunakan larutan formalin buffer 10% yang akan digunakan untuk pembuatan preparat pengamatan histopatologi. Preparat jaringan disiapkan menggunakan teknik embedding parafin dan diwarnai dengan pewarna H ematoxylin-Eosin. Adapun langkah pertama yang harus dipersiapkan ialah melakukan fiksasi organ pankreas larutan formalin buffer 10%, selanjutnya pemotongan secara makroskopik agar mempermudah melakukan proses dehidrasi. Dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat yakni alkohol 70% (I, II, III), 96% (I, II, III) dan 100% (I, II, III). Selanjutnya clearing menggunakan xylene (I, II) untuk menarik kandungan alkohol pada jaringan lalu parafin (I, II). Selanjutnya dilakukan embeding menggunakan lilin,

Pengirisan jaringan dilakukan menggunakan rotary microtome, kemudian potongan jaringan yang membentuk pita-pita ditempelkan pada kaca objek melalui proses (affiksasi). Tahapan akhir dalam pembuatan preparat jaringan adalah proses pewarnaan, yang dikenal juga dengan istilah staining, menggunakan HE dengan proses (xylene I, II, III, IV, cuci dengan air, celupkan ke hematoxylin, cuci dengan air, alkohol, celupkan ke eosin, alkohol I, II, xylene). Selanjutnya langkah terakhir yang harus dilakukan yakni penutupan (mounting). Mounting dapat dilakukan dengan penambahan canada balsam (merek Leica, Jerman) yang digunakan agar menghilangkan gelembung udara dan sebagai perekat.

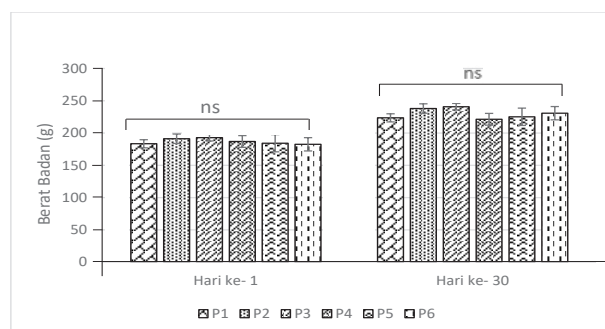
Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini berasal dari pengukuran berat badan, berat pankreas beserta rasio berat pankreas. Selain itu, dilakukan pula pengamatan histopatologi pada jaringan pankreas yang telah diwarnai menggunakan pewarna hematoksin-eosin (HE). Pengamatan terhadap jumlah pulau Langerhans dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Pengamatan dilakukan pada 15 bidang pandang untuk setiap kelompok perlakuan, dengan tiga kali ulangan guna memperoleh nilai rata-rata jumlah pulau Langerhans. Identifikasi pulau Langerhans dilakukan berdasarkan ciri morfologis khas, yaitu bentuk bulat atau oval serta batas jaringan yang jelas, yang membedakannya secara mencolok dari jaringan eksokrin pankreas di sekitarnya. Sedangkan untuk diameter pulau Langerhans diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan pada 15 bidang pandang di area pulau Langerhans. Pengukuran diameter pulau Langerhans dilakukan dengan menentukan sumbu terpanjang (a) dan sumbu terpendek (b), kemudian dihitung rata-rata diameter menggunakan rumus: $(a + b)/2$. Nilai hasil pengukuran dari setiap bidang pandang dijumlahkan dan dibagi untuk memperoleh rata-rata diameter pulau Langerhans per kelompok perlakuan. Prosedur ini diulang sebanyak tiga kali untuk tiap sampel. Hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan mikrometer (μm) dan dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ.

Data hasil pengamatan akan dianalisis secara statistik menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Jika hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik ($P < 0,05$), maka akan dilanjutkan dengan uji perbandingan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengidentifikasi kelompok perlakuan yang menunjukkan perbedaan nyata. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS for Windows versi 26.0.

Hasil dan Pembahasan

Berat Badan

Berat badan dalam studi toksikologi merupakan salah satu indikator penting untuk menilai kondisi kesehatan hewan secara umum. Perubahan berat badan dapat mencerminkan respons fisiologis terhadap paparan zat toksik dan menjadi salah satu kriteria umum dalam evaluasi toksisitas (Maulina, 2018). Paparan zat asing (xenobiotik) seperti BPA secara berkepanjangan dalam tubuh dapat mengganggu proses metabolisme, yang pada akhirnya berdampak pada perubahan berat badan (La Merrill *et al.*, 2025). Data berat badan tikus putih masing-masing perlakuan (rata-rata \pm SD) g pada hari ke-1 dan hari ke-30 perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Berat badan tikus putih tiap kelompok perlakuan pada hari ke-1 dan hari ke-30. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan (Uji ANOVA, $P > 0,05$). P1= Pakan & minum, P2= 0,5 ml minyak jagung, P3= BPA 50 mg/kg BB, P4= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 125 mg/kg BB, P5= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 250 mg/kg BB, P6= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 500 mg/kg BB. Ns: Non-significant.

Berdasarkan hasil uji ANOVA, diperoleh nilai $P > 0,05$ pada perbandingan berat badan hari ke-1 dan hari ke-30, yang menunjukkan

bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Pemberian BPA dan EEDB selama 30 hari perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat badan tikus putih pada kelompok P1, P2, P3, P4, P5 dan P6. Hal ini menunjukkan bahwa dosis perlakuan yang diberikan belum mampu memberikan pengaruh signifikan terhadap berat badan tikus putih. Jika ditinjau lebih lanjut, temuan ini sejalan dengan penelitian yang telah dipublikasikan oleh Alboghobeish *et al.* (2018), yang melaporkan tidak adanya perbedaan berat badan antar kelompok perlakuan tikus putih yang diinduksi BPA 50 mg/kg berat badan selama 30 hari. Sebaliknya, Yamasaki *et al.* (2002), menemukan bahwa perubahan berat badan yang signifikan baru terlihat pada tikus yang diberikan BPA dengan dosis tinggi, yaitu 600 mg/kg selama 28 hari. Penelitian ini juga konsisten dengan temuan LbnGaol *et al.* (2021), yang menyatakan tidak terdapat perubahan yang signifikan pada berat badan tikus putih setelah pemberian EEDB 500 mg/kg BB secara oral selama 14 hari. Tidak adanya perubahan berat badan pada tikus putih yang diinduksi BPA maupun EEDB dalam penelitian ini mengindikasikan bahwa dosis yang digunakan masih dapat dinetralisir oleh tubuh, sehingga aktivitas metabolisme tetap berjalan secara normal. Kondisi ini juga dapat dijelaskan oleh fakta bahwa efek toksik BPA bersifat tergantung dosis dan durasi paparan, di mana pada dosis rendah atau periode induksi yang singkat, efeknya terhadap metabolisme dan berat badan belum terlihat secara signifikan.

Rasio Berat Pankreas/Berat Badan

Berat organ dapat menjadi salah satu indikator penting dalam mengevaluasi kondisi patologis, karena perubahan berat organ dapat mencerminkan adanya penyusutan atau pembesaran akibat gangguan fisiologis maupun toksikologis. Pengukuran rasio berat organ terhadap berat badan merupakan parameter penting dalam studi toksikologi, karena mampu mendeteksi perubahan yang terjadi pada organ akibat paparan zat kimia (Haschek *et al.*, 2021). Adapun perubahan morfologi organ pankreas dalam penelitian ini sangat erat kaitannya dengan bahan yang masuk kedalam tubuh tikus putih.

Oleh karena itu, melakukan pengukuran berat organ merupakan hal penting dalam pemberian petunjuk organ normal dengan yang abnormal (Vaibhav *et al.*, 2022). Data berat pankreas, berat badan hari ke-30 dan rasio berat pankreas (rata rata \pm SD) g dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Berat pankreas, berat badan hari ke-30 dan rasio berat pankreas tikus putih (rata rata \pm SD) g pada masing-masing kelompok setelah 30 hari perlakuan.

Kelompok	Berat Pankreas	Berat Badan	Rasio Berat Pankreas/Berat Badan
P1	0,440 \pm 0,114	224 \pm 13,5	0,0019 \pm 0,0006
P2	0,483 \pm 0,117	238 \pm 16,4	0,0020 \pm 0,0005
P3	0,500 \pm 0,071	241 \pm 1,30	0,0020 \pm 0,0003
P4	0,383 \pm 0,075	221 \pm 15,8	0,0017 \pm 0,0003
P5	0,417 \pm 0,075	225 \pm 18,4	0,0018 \pm 0,0005
P6	0,500 \pm 0,089	231 \pm 34,2	0,0021 \pm 0,0003

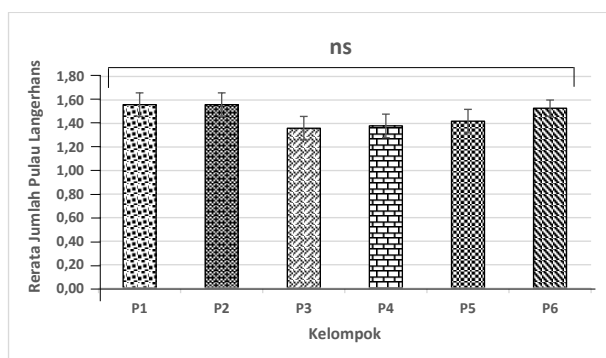
Keterangan: Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok setelah 30 hari perlakuan (Uji ANOVA, $P > 0,05$). Tikus yang hanya diberi pakan dan minum (P1), minyak jagung 0,5 ml (P2), BPA 50 mg/kg BB (P3), BPA 50 mg/kg BB + EEDB 125 mg/kg BB (P4), BPA 50 mg/kg BB + EEDB 250 mg/kg BB (P5), BPA 50 mg/kg BB + EEDB 500 mg/kg BB (P6).

Berdasarkan hasil uji ANOVA, baik berat pankreas maupun rasio berat pankreas terhadap berat badan menunjukkan nilai $P > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Pemberian BPA dan EEDB selama 30 hari perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat pankreas dan rasio berat pankreas tikus putih kelompok P1 (pakan & air minum), kelompok P2 (minyak jagung 0,5 ml), kelompok P3 (BPA 50 mg/kg BB), kelompok P4 (BPA 50 mg/kg BB + EEDB 125 mg/kg BB), kelompok P5 (BPA 50 mg/kg BB + EEDB 250 mg/kg BB) dan kelompok P6 (BPA 50 mg/kg BB + EEDB 500 mg/kg BB). Dengan demikian, dosis perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini belum mampu memengaruhi berat pankreas maupun rasio berat pankreas tikus putih secara signifikan. Delclos *et al.* (2014) melaporkan bahwa BPA pada dosis rendah hingga sedang (2.5-2700 μ g/kg berat badan per hari), tidak terdapat perubahan yang signifikan pada berat organ absolut maupun relatif. Berat organ tidak menunjukkan perbedaan yang

signifikan, hal ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor yang memengaruhi respons fisiologis, seperti dosis perlakuan yang relatif rendah serta durasi paparan yang tidak cukup lama. Berat organ, baik absolut maupun relatif, dapat digunakan sebagai indikator awal dalam menilai efek suatu perlakuan, namun indikator ini belum cukup sensitif dan spesifik untuk menggambarkan perubahan biologis yang terjadi secara menyeluruh (Mezencev *et al.*, 2024).

Jumlah Pulau Langerhans

Secara morfologis, pulau Langerhans memiliki bentuk bulat atau oval dan tersebar di seluruh jaringan pankreas. Dalam kondisi fisiologis normal, jumlah dan morfologi pulau Langerhans tetap terjaga untuk mendukung fungsi metabolik tubuh. Namun, pada kondisi patologis seperti diabetes mellitus atau paparan agen toksik, jumlah dan ukuran pulau ini dapat mengalami penurunan. Data jumlah pulau Langerhans (rata-rata \pm SD) per bidang lapang pandang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata jumlah pulau Langerhans per bidang lapang pandang setelah 30 hari perlakuan pada perbesaran 100X. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan (Uji ANOVA, $P > 0,05$). Tikus yang hanya diberi pakan dan minum (P1), minyak jagung 0,5 ml (P2), BPA 50 mg/kg BB (P3), BPA 50 mg/kg BB + EEDB 125 mg/kg BB (P4), BPA 50 mg/kg BB + EEDB 250 mg/kg BB (P5), BPA 50 mg/kg BB + EEDB 500 mg/kg BB (P6). Ns: Non-significant.

Berdasarkan hasil uji ANOVA dalam penelitian ini, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan pada jumlah pulau Langerhans ($P > 0,05$). Hasil uji menunjukkan bahwa jumlah pulau Langerhans pada semua kelompok perlakuan adalah sama. Rata-rata jumlah pulau Langerhans terbanyak

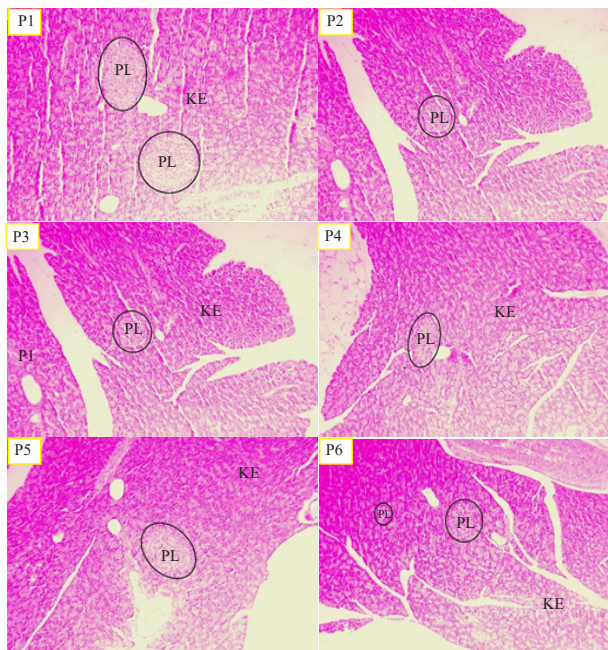
ditemukan pada kelompok P1 (tikus normal) dan P2 (minyak jagung), dengan jumlah yang identik. Penggunaan minyak jagung sebagai pelarut dalam penelitian ini tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap berbagai parameter biologis, sehingga sering digunakan sebagai kontrol dalam penelitian. Sebaliknya, kelompok P3 (BPA) menunjukkan rata-rata jumlah pulau Langerhans paling sedikit. Hasil ini menunjukkan bahwa BPA, yang bertindak sebagai pemicu radikal bebas, mampu menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas melalui mekanisme pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kerusakan ini berdampak pada menurunnya kemampuan pankreas dalam memproduksi dan melepaskan hormon insulin (Utami *et al.*, 2019).

Kelompok perlakuan BPA yang diobati dengan EEDB pada P4 (EEDB 125 mg/kg BB), P5 (EEDB 250 mg/kg BB), dan P6 (EEDB 500 mg/kg BB) menunjukkan peningkatan rata-rata jumlah pulau Langerhans yang mendekati kondisi normal. Temuan ini menunjukkan bahwa EEDB dapat memperbaiki sel pulau Langerhans, yang berdampak positif pada jumlah, fungsi, dan struktur sel pankreas. EEDB diketahui mengandung senyawa antioksidan yang tinggi (Napitupulu, 2015), yang berperan penting dalam mencegah kerusakan sel dengan cara menangkap dan menetralkan radikal bebas. Hal ini memungkinkan perbaikan kerusakan sel pankreas. Antioksidan alami yang terkandung dalam EEDB dapat menghambat pembentukan ROS yang merusak membran sel dan DNA sel beta pankreas akibat paparan BPA. Dengan demikian, antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bosibosi berperan dalam menetralkan ROS dan melindungi sel-sel pulau Langerhans dari kerusakan lebih lanjut.

Hasil pengamatan gambaran histologi pulau Langerhans setelah 30 hari perlakuan pada kelompok P1, P2, P3, P4, P5 dan P6 dapat dilihat pada Gambar 3.

Diameter Pulau Langerhans

Pulau Langerhans adalah kelompok sel endokrin yang tersebar di seluruh jaringan pankreas dan berperan penting dalam mengatur homeostasis glukosa melalui produksi hormon insulin, glukagon, dan somatostatin. Meskipun



Gambar 3. Fotomikrografi pulau Langerhans pankreas setelah 30 hari perlakuan (HE, 100X). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan (Uji ANOVA, $P > 0,05$). P1= Pakan dan minum, P2= 0,5 ml minyak jagung, P3= BPA 50 mg/kg BB, P4= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 125 mg/kg BB, P5= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 250 mg/kg BB, P6= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 500 mg/kg BB. PL: Pulau Langerhans, KE: Kelenjar Esokrin, I: Interlobularis.

hanya mencakup sekitar 1-2% dari total massa pankreas, struktur ini memainkan peran vital dalam homeostatis glukosa (Guyton & Hall, 2021). Pada model tikus diabetes, pulau Langerhans mengalami kerusakan struktural dan kehilangan sel beta, yang menyebabkan penurunan produksi insulin. Oleh karena itu, pengukuran diameter pulau Langerhans digunakan untuk menilai perubahan morfologis yang terjadi akibat kondisi patologis maupun intervensi terapeutik. Peningkatan diameter pulau Langerhans dapat menjadi indikator adanya regenerasi jaringan endokrin pankreas atau perlindungan terhadap kerusakan sel beta. Data diameter pulau Langerhans (rata-rata \pm SD) μm dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil uji ANOVA pada penelitian ini, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) sehingga dapat dilakukan uji lanjut DMRT. Berdasarkan uji lanjut nilai perbedaan yang nyata terlihat pada kelompok BPA P3 ($156,896 \pm 8,460 \mu\text{m}$). Hal tersebut menunjukkan bahwa BPA dapat menyebabkan penurunan diameter

Tabel 3. Diameter pulau Langerhans tikus putih (rata-rata \pm SD) μm setelah 30 hari perlakuan.

Kelompok	Diameter Pulau Langerhans rata-rata \pm SD (μm)
P1	$201,093 \pm 12,475^a$
P2	$198,459 \pm 7,318^a$
P3	$156,896 \pm 8,460^b$
P4	$181,101 \pm 18,430^a$
P5	$190,580 \pm 17,358^a$
P6	$196,828 \pm 2,288^a$

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($P < 0,05$, uji one-way ANOVA dan DMRT). P1= Pakan dan minum, P2= 0,5 ml minyak jagung, P3= BPA 50 mg/kg BB, P4= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 125 mg/kg BB, P5= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 250 mg/kg BB, P6= BPA 50 mg/kg BB + EEDB 500 mg/kg BB.

pada pulau Langerhans. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dipublikasikan oleh Abulehia *et al.* (2023) yang menemukan bahwa paparan BPA dengan dosis 5 mg/kg/hari mengakibatkan penurunan yang signifikan pada diameter pulau Langerhans. BPA memiliki efek diabetogenik yang dapat mendestruksi sel sehingga sel akan mengalami nekrosis atau apoptosis yang menyebabkan pulau Langerhans mengalami atrofi atau mengecil akibat berubah dan berkurangnya jumlah sel. BPA dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam sel, yang menyebabkan stress oksidatif dan kerusakan mitokondria. Hal ini mengakibatkan penurunan potensial membran mitokondria, pelepasan sitokrom c (*cytochrome c*), aktivitas *caspase-9* dan *caspase-3*, yang merupakan penanda utama jalur apoptosis intrinsik (Yang *et al.*, 2025). Penurunan diameter pulau Langerhans yang terjadi akibat paparan BPA mencerminkan perubahan struktural dan fungsional yang signifikan pada pankreas, khususnya bagian endokrin yang bertanggung jawab menghasilkan hormon seperti insulin. Secara histologis, pengecilan diameter pulau Langerhans menunjukkan atrofi atau kerusakan jaringan yang disebabkan oleh hilangnya atau kematian sel-sel pankreas melalui proses nekrosis atau apoptosis. Dengan berkurangnya jumlah dan fungsi sel dalam pulau Langerhans, kemampuan pankreas untuk memproduksi hormon insulin menurun, yang berdampak pada gangguan regulasi gula darah dan meningkatkan

risiko perkembangan diabetes. Jadi, penurunan diameter pulau Langerhans menunjukkan kerusakan histologis yang berimplikasi langsung pada fungsi metabolik pankreas.

Namun, terjadi kenaikan diameter secara bertahap pada tikus yang diinduksi EEDB pada dosis bertingkat P4 ($181,101 \pm 18,430 \mu\text{m}$), P5 ($190,580 \pm 17,358 \mu\text{m}$), dan P6 ($196,828 \pm 2,288 \mu\text{m}$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian EEDB dapat menurunkan tingkat kerusakan pulau Langerhans akibat induksi BPA dengan memberikan kesempatan sel untuk beregenerasi dan meningkatkan ukuran diameter pulau Langerhans. Kandungan senyawa aktif metabolit sekunder seperti flavonoid yang terdapat dalam bosibosi dapat memperbaiki penyusutan pulau Langerhans akibat BPA. Beberapa senyawa metabolit sekunder flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol daun bosibosi meliputi kuersetin, apigenin, chrysin, dan kaempferol (Laily, 2016). Lin *et al.* (2012), menunjukkan bahwa flavonoid seperti kuersetin dan naringenin dapat melindungi sel β pankreas dari apoptosis yang dimediasi sitokin. Mekanisme perlindungan ini melibatkan aktivitas jalur PI3-kinase, yang meningkatkan kelangsungan hidup sel β pankreas. Dengan demikian, flavonoid berfungsi sebagai agen pelindung yang membantu mempertahankan struktur dan fungsi pulau Langerhans, sehingga mencegah kerusakan pankreas akibat toksisitas BPA.

Kesimpulan

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak daun bosibosi tidak memengaruhi, namun secara signifikan meningkatkan diameter pulau Langerhans. Peningkatan diameter ini mengindikasikan adanya perbaikan atau regenerasi pada sel-sel endokrin pankreas, yang dapat meningkatkan fungsi hormon pankreas. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan bioaktif dalam daun bosibosi, terutama flavonoid, berperan sebagai agen pelindung terhadap kerusakan pankreas akibat toksisitas BPA, sehingga berpotensi mencegah gangguan metabolik yang berkaitan dengan kerusakan pankreas.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Laboratorium Biologi Fakultas Matematika

dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan yang telah memberikan fasilitas yang memadai dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Abulehia, H., Mohd Nor, N. S., Sheikh Abdul Kadir, S. H., Abdul Aziz, M., & Zulkifli, S. (2023). The effects of trans fat diet intake on metabolic parameters and pancreatic tissue in offspring of prenatal bisphenol A exposed rats. *Scientific Reports*. 13(1), 9322.
- 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-González, M., & Carrascosa, C. (2018). Bisphenol a: food exposure and impact on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 17(6): 1503-1517.
- Bakar, A., Izzany, F., Bakar, A., Fadzelly, M., Abdullah, N., Endrini, S., & Rahmat A. (2018). A review of malaysian medicinal plants with potential anti-inflammatory activity. *Advances in Pharmacological Sciences*. 18: 1-13
- Chung, L. Y., Soo, W. K., Chan, K. Y., Mustafa, M. R., Gosh, S. H., & Imiyabir Z. (2009). Lipoxigenase inhibiting activity of some Malaysian plants. *Pharmaceutical Biology*. 47(12), 1142-1148.
- Delclos, K. B., Camacho, L., Lewis, S. M., Vanlandingham, M. M., Latendresse, J. R., Olson, G. R.,
- Davis, K. J., Patton, R. E., Costa, G. G., Woodling, K. A., Bryant, M. S., Chidambaram, M., Trbojevich, R., Juliar, B. E., Felton, R. P., & Thorn, B. T. (2014). Toxicity evaluation of bisphenol A administered by gavage to Sprague Dawley rats from gestation day 6 through postnatal day 90. *Toxicological Sciences*. 139(1), 174-197.

- Diningsih, A. & Rangkuti, N. A. (2020). Penyuluhan pemakaian plastik sebagai kemasan makanan dan minuman yang aman digunakan untuk kesehatan di desa labuhan rasoki. *Jurnal Education and Development*. 8(1): 17–20.
- Faadhilah, H. & Tiitraesmi, A. (2023). Review: pencemaran bisphenol-a (BPA) dalam kemasan galon dan dampaknya bagi kesehatan. *Farmaka*. 21(2): 223-229.
- Ginter-Kramarczyk, D., Zembruska, J., Kruszelnicka, I., Zajac-woznialis, A., Cislak, M. & Poznan, T. (2022). Influence of temperature on the quantity of bisphenol a in bottled drinking water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19(9): 1-10.
- Gusnawati, G., Munira, M., Rachmanto, M. R., & Ramadhani, U. (2023). Analisis migrasi cemaran bisphenol-a (bpa) kemasan plastik polycarbonat (pc) pada produk air minum dalam kemasan galon di wilayah kota makassar. *Jambura Journal of Chemistry*. 5(1): 46-52.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2021). *Textbook of medical physiology* (14th ed.). Elsevier.
- Haschek, W. M., Rousseaux, C. G., Wallig, M. A., & Bolon, B. (Eds.). (2021). *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology, Volume 1: Principles and Practice of Toxicologic Pathology*. Academic press.
- Jiang, W., Ding, K., Huang, W., Xu, F., Lei, M., & Yue, R. (2023). Potential effects of bisphenol A on diabetes mellitus and its chronic complications: A narrative review. *Heliyon*. 9(5).
- Kim, J. J., Kumar, S., Kumar, V., Lee, Y. M., Kim, Y. S., & Kumar, V. (2020). Bisphenols as a Legacy Pollutant, and Their Effects on Organ Vulnerability. *Int J Environ Res Public Health*. 17(1): 112.
- La Merrill, M. A., Smith, M. T., McHale, C. M., Heindel, J. J., Atlas, E., Cave, M. C., Collier, D., Guyton, K. Z., Koliwad, S., Nadal, A., Rhodes, C. J., Sargis, R. M., Zeise, L., & Blumberg, B. (2025). Consensus on the key characteristics of metabolism disruptors. *Nature Reviews Endocrinology*, 21(4), 245-261.
- Laily, N. (2016). Identifikasi Senyawa Bioaktif Golongan Fenolik (Asam Fenolat dan Flavonoid) Yang Terkandung Dalam Daun Bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan.
- LbnGaol, A. Y. D., Ilyas, S., Hutahaean, S., & Sipahutar, H. (2021). Antidiabetic activity and immunostimulant potential of bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) leaves ethanol extract in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Physics: Conference Series*. 1819(1), 012071.
- Lin, C. Y., Ni, C. C., Yin, M. C., & Lii, C. K. (2012). Flavonoids protect pancreatic beta-cells from cytokines mediated apoptosis through the activation of PI3-kinase pathway. *Cytokine*. 59(1), 65-71.
- Lubis, N., Soni, D., & Fuadi, M. D. S. (2021). Pengaruh suhu penyimpanan air minum pada botol kemasan polikarbonat (pc) yang beredar di daerah garut terhadap kadar bisphenol-a (bpa) menggunakan spektrofotometri ultraviolet. *Journal of Chemistry*. 15(2): 223–230.
- Madiyawati, M., Soemarno., Suntari, R. & Nihayati, E. (2019). Sequence and Phylogenetic Analysis of Bebara Medicinal Plant (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) Based on matK, rbcL and trnL Genes in Central Kalimantan. *Bioscience Research*. 16(1): 194-207.
- Manzoor, M. F., Tariq, T., Fatima, B., Sahar, A., Tariq, F., Munir, S., Khan, S., Ranjha, M. M. A. N., Sameen, A., Zeng, X., & Ibrahim, S. A. (2022). An insight into bisphenol A, food exposure and its adverse effects on health: A review. *Frontiers in nutrition*, 9, 1047827.
- Maulina, M. (2018). *Zat-Zat Yang Memengaruhi Histopatologi Hepar*. Lhoksemawe: Unimal Press.

- Mezencev, R., Feshuk, M., Kolaczowski, L., Peterson, G. C., Zhao, Q. J., Watford, S., & Weaver, J. A. (2024). The association between histopathologic effects and liver weight changes induced in mice and rats by chemical exposures: an analysis of the data from Toxicity Reference Database (ToxRefDB). *Toxicological Sciences*. 200(2), 404-413.
- 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.
- 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.
- Ohore, O. E. & Songhe, Z. (2019). Endocrine disrupting effects of bisphenol A exposure and recent advances on its removal by water treatment systems. A review. *Scientific African*. 1-12.
- Oriakpono, O. E. & Nduonofit, E. E. (2021). Reproductive toxicity of bisphenol a (BPA) in albino rats. *Advances in Image and Video Processing*. 9(2): 1-10.
- Pangkahila, E., Linawati, N. M., Sugiritama, I. W., & Siswanto, F. M. (2019). Pelatihan Fisik Berlebih Meningkatkan Indeks Apoptosis pada Hepatosit Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan. *Jurnal Biomedik*. 11(3): 144-149.
- Putri, S. I., Fajriah, A. S., Arradini, D., Widiyanto, A. & Atmojo, J. T. (2021). Pengaruh Bisphenol A Terhadap Perilaku Anak. *Journal of Health Research*. 4(2): 57-68.
- Siswanto, F. M., Yenniastuti, B., Putra, T. A., & Kardenia, I. M. (2015). Aktivitas Fisik Maksimal Akut (*Acute Overtraining*) Menyebabkan Kerusakan Sel â Pankreas Mencit. *Jurnal Biomedik*. 7(2): 125–130.
- Suyasa, I. N. G., Jana, I. W., & Santhi, D. G. D. D. (2018). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Keberadaan Bahan Berbahaya Bisphenol A (BPA) Yang Terkandung Dalam Kontainer Plastik Makanan Dan Minuman. *Jurnal Skala Husada: The Journal of Health*. 15(1): 34-42.
- Telaumbanua, C.S. & Rahmadianto, F. (2022). Analisa Kualitas Hasil Pembentukan Lembaran *Polycarbonate* Terhadap Pengaruh Variasi Tekanan, Variasi *Temperature*, Dan Variasi Waktu Pemanasan Pada Proses *Vacum Forming* Dengan Metode Taguchi. *Prosiding Seniati*. 6(1): 62-67.
- Utami, E. T., Fitrianti, R. & Fajariyah, S. (2009). Efek kondisi hiperglikemik terhadap struktur ovarium dan siklus estrus mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmu Dasar*. 10(2): 219-224.
- Vaibhav, V., Meshram, R., Shukla, P. K., Kalonia, T & Bhute, A. R. (2002). A preliminary study of organ weight after histological exclusion of abnormality during autopsy in the adult population of uttarakhand, 14(7): 1-11.
- Vasiljevic, T., & Harner, T. (2021). Bisphenol A and its analogues in outdoor and indoor air: Properties, sources and global levels. *Science of the Total Environment*, 789, 148013.
- Wisesa, IBGR., Sukoco, H., & Siswanto, FM. (2020). The Oxidant Effect of Bisphenol A (BPA) Can be Decoupled from its Endocrine Disruptor Property. *Journal of Physics: Conference Series* 1430, 012007.
- Yamasaki, K., Sawaki, M., Noda, S., Imatanaka, N., & Takatsuki, M. (2002). Subacute oral toxicity study of ethynylestradiol and bisphenol A, based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline no. 407'. *Archives of toxicology*, 76, 65-74.
- Yang, W., Pan, F., Zhao, T., Chen, F., Shao, W., Wang, J., Wang, S., Zhao, Z., Liu, K., Zhao, S., & Zhao, L. (2025). Bisphenol A induces apoptosis and disrupts testosterone

synthesis in TM3 cells via reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway and autophagic flux inhibition. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 289, 117691.

Zahra, A., Kerslake, R., Kyrou, I., Randeva, H. S., Sisu, C. & Karteris, E. (2022). Impact of environmentally relevant concentrations of bisphenol a (BPA) on the gene expression profile in an in vitro model of the normal human ovary. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(10): 1–14.