

Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakan Banyu (*Croton argyratus* Blume) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa sebagai Antifertilitas

Nurlely^{1*}, Anika Iktishad Aslama², Noor Cahaya¹, Valentina Meta Srikartika¹

¹Program Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

Email: nurlely@ulm.ac.id

ABSTRAK

Kulit batang pakan banyu (*Croton argyratus* Blume) secara empiris digunakan sebagai obat kontrasepsi tradisional. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol kulit batang pakan banyu terhadap perubahan kualitas dan kuantitas spermatozoa pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan. Desain penelitian ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Kulit batang pakan banyu dimaserasi menggunakan etanol 70%. Pada bagian kulit batang terdapat zat aktif steroid, saponin, tanin, dan alkaloid. Uji pengaruh gambaran mikroskopik terhadap kualitas dan kuantitas spermatozoa menggunakan dua puluh ekor tikus jantan dengan 4 kelompok perlakuan yang diberi perlakuan secara oral selama 15 hari yaitu Kontrol negatif (Na CMC 0,5%), dan kelompok perlakuan (ekstrak dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 500 mg/kgBB). Setelah 15 hari hewan uji dinekropsi untuk mengamati jumlah spermatozoa menggunakan *improved neubauer* hemositometer, motilitas spermatozoa, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa menggunakan eosin negrosin sebagai pewarna. One way ANOVA digunakan untuk menganalisa data kuantitatif yang didapatkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB memberikan perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB memberikan pengaruh terhadap perubahan motilitas, abnormalitas, viabilitas, dan jumlah spermatozoa.

Kata Kunci: Pakan Banyu, Kontrasepsi Pria, Spermatozoa

ABSTRACT

Stem Bark of pakan banyu (Croton argyratus Blume) empirically is used as a traditional contraception method. This study aimed to evaluate the effect of the ethanol extract of the pakan banyu stem bark to change in the quality and quantity of spermatozoa in albino male rats (Rattus norvegicus). This research is an experimental research with posttest only control group design. Pakan Banyu stem bark was macerated using 70% ethanol. The extract contained the active substances such as steroids, saponins, tannins, and alkaloids. This study used twenty male rats which were divided into 4 groups: negative control (CMC Na 0,5%), and treatment groups (extract dose of 100, 200 and 500 mg/kg body weight). The treatment was orally administered for 15 days. After 15 days, the testis was isolated to observe the number of spermatozoa using improved Neubauer hemocytometer, motility, viability and sperm abnormalities using eosin nigrosin. Quantitative data were analyzed using one-way ANOVA. The results showed that dose of 100, 200, and 500 mg/kg body weight possessed a significant difference to the negative control group ($p < 0.05$). Thus, it can be conclude that ethanol extract of Pakan Banyu stem bark (C. argyratus Blume) possesses an effect in changing of motility, abnormality, viability, and number of spermatozoa.

Keywords: *Pakan Banyu, Male Contraception, Spermatozoa*

I. PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional sebagai suatu pengobatan di Indonesia telah diterapkan secara luas dimana terdapat 180 spesies tumbuhan yang digunakan sebagai bahan baku untuk pengobatan secara tradisional (Widyawati, 2007). Provinsi Kalimantan Selatan kaya akan keanekaragaman jenis tanaman yang berkhasiat obat yang salah satunya adalah pakan banyu (*Croton argyratus* Blume). Tanaman ini secara empiris digunakan oleh masyarakat di desa Riam Adungan daerah Kintap sebagai obat kontrasepsi wanita dengan menggunakan batang yang direbus sehingga dapat digunakan sebagai kontrasepsi.

Penggunaan metode kontrasepsi banyak ditujukan kepada wanita sehingga

partisipasi pria cukup rendah. Hal ini dikarenakan metode kontrasepsi yang dapat digunakan oleh pria cukup terbatas seperti vasektomi dan kondom. Oleh karena itu penggunaan bahan obat alami dapat dijadikan alternatif untuk obat kontrasepsi pria yang berasal dari tanaman (Sihabuddin *et al*, 2011).

Tanaman Pakan Banyu yang digunakan masyarakat daerah Kintap sebagai kontrasepsi wanita mengandung saponin triterpenoid. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan sel folikel dan ketebalan uterus pada mencit betina (Fauzi *et al*, 2014) sehingga menyebabkan ovulasi tidak terjadi. Triterpenoid juga dapat mempengaruhi spermatogenesis melalui penghambatan aktivitas enzim 5 α -reduktase. Hal ini diketahui bahwa

senyawa metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi sistem reproduksi pada hewan betina juga dapat memiliki pengaruh pada system reproduksi hewan jantan (Yeboah et al, 2013; Liu, 2005; Mycek 2001). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek antifertilitas tanaman pakan banyu terhadap perubahan kualitas dan kuantitas spermatozoa.

II. METODE

A. Persiapan Bahan Baku

Kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) diperoleh di desa Riam Adungan, Kintap, Kalimantan Selatan dan dideterminasi di Lembaga Herbarium Bogoriense LIPI Bogor Np. 251/IPH.1.01/If.8/II/2015. Kulit batang yang diperoleh disortas, dicuci, diiris dan dikeringkan. Setelah itu dibuat serbuk dan diayak dengan menggunakan ayakan 40 mesh.

B. Persiapan Ekstraksi

Lima puluh gram serbuk kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menambahkan etanol 70% (1:10) dan direndam 3x24 jam. Setiap 24 jam diaduk dengan kecepatan 50 rpm selama 30 menit untuk mendapatkan ekstrak cair. *Vacuum rotary evaporator* digunakan untuk pemekatan dengan suhu 45-50° untuk mendapatkan ekstrak kental yang

kemudian diuapkan di atas *waterbath* dan ditimbang. (Astuti, 2011; Muhgni, 3013).

C. Uji Skrining Fitokimia

Identifikasi Senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) dilakukan dengan sedikit perubahan dari metode sebelumnya (Harborne, 1998; Evans, 2009). Senyawa yang diuji meliputi alkaloid, steroid dan triterpenoid, tannin, flavonoid dan saponin.

D. Perlakuan Hewan Uji

Sebanyak 20 ekor tikus jantan galur wistar (300-400 g) digunakan pada penelitian ini dan diaklimatisasi 1 minggu sebelum penelitian dengan kondisi lingkungan dan pemberian diet yang sesuai. Etika penelitian telah disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat No. 014/KEPK-FK UNLAM/EC/IV/2015. Hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok yaitu control normal (Na CMC 0.5%), kelompok 1, 2 dan 3 diberikan ekstrak etanol kulit batang pakan banyu (*Croton argyratus* Blume) dengan dosis berturut-turut yaitu 100, 200 dan 500 mg/kg BB. Bahan uji diberikan 1 kali sehari selama 15 hari secara peroral. Semua hewan uji dieutanasi dengan dislokasi leher pada hari ke 16 dan dilakukan isolasi pada organ testis dan kauda epididimis. Bagian ini

kemudian dipotong dan dimasukkan ke cawan petri yang berisi 2 ml NaCl 0.9% (pH 7,2) dengan suhu 37°C selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan analisa kualitas dan kuantitas spermatozoa (Fauziyah, 2013; Hasanah, 2009; Iriandini *et al.*, 2013 & Rekha *et al.*, 2014; Ghosal *et al.*, 2013; Oyedeji *et al.*, 2013).

E. Pengamatan Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa

1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa dievaluasi dengan meletakkan suspensi spermatozoa pada *improved neubeur* dan dilakukan penilaian berdasarkan Tabel I di bawah ini.

Tabel I. Penilaian motilitas spermatozoa

Nilai	Gerakan spermatozoa	Gerakan massa spermatozoa
0	Spermatozoa imotil atau tidak bergerak	-
1	Berputar di tempat	-
2	Berayun atau melingkar	kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang
3	Progresif	Gerakan massa (50-80%)
4	Progresif, gesit dan segera membentuk gelombang	90% sperma motil
5	Sangat progresif, gelombang sangat cepat	spermatozoa menunjukkan 100% motil aktif

Spermatozoa dengan motilitas baik dapat dihitung dari 100 spermatozoa secara berurutan dan diperiksa dalam 4-7 lapangan pandang. Setelah itu dilakukan klasifikasi untuk menentukan setiap kategori motilitas dan dinyatakan dalam persentase spermatozoa dengan motilitas baik, yaitu jika spermatozoa bergerak lurus ke depan, cepat, lincah dan aktif (Iriandini *et al.*, 2013; Ghosal *et al.*, 2013; Alagammal *et al.*, 2013; Kurniati *et al.*, 2011).

2. Jumlah Spermatozoa

Suspensi spermatozoa dari kauda epididymis dimasukkan ke dalam kamar hitung *improved neubeur* dan konsentrasi spermatozoa dihitung pada 5 bilik dengan menggunakan rumus berikut :

$$Y \times \frac{400}{80} \times \frac{200}{0,1} = Y \times 10.000/\text{mm}^3 =$$

$$Y \times 10 \text{ Juta/mL}$$

Keterangan:

Y = Jumlah spermatozoa pengamatan dalam 5 kotak besar

400 = Total kotak kecil dalam kamar hitung

80 = Jumlah kotak kecil dalam 5 kotak besar

200 = Pengenceran 200 kali

0,1 = Volume kotak hitung (mm³)

(Iriandini *et al.*, 2013; Dethan *et al.*, 2010;

Ghosal *et al.*, 2013; Fatimah, 2012;

Hongbao *et al.*, 2006).

3. Abnormalitas Spermatozoa

Satu tetes suspensi spermatozoa diapus di atas gelas objek dengan pewarnaan eosin negrosin dan diamati di bawah mikroskop. Jumlah spermatozoa yang abnormal (D) dilakukan dengan cara melihat kriteria-kriteria spermatozoa yang abnormal, dan dapat dihitung dari 100 spermatozoa. Persentase abnormalitas dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{D}{100} \times 100\%$$

Keterangan: D = Jumlah spermatozoa abnormal (Julaeha *et al.*, 2013; Ghosal *et al.*, 2013; Nair *et al.*, 2014).

4. Viabilitas Spermatozoa

Empat puluh suspensi spermatozoa diletakkan di atas kaca objek dan diberi pewarna eosin negrosin. Persentase didapatkan dengan menghitung spermatozoa mati dari 100 spermatozoa dan diperiksa dalam 10 lapangan pandang yang kemudian dihitung dengan rumus :

$$\frac{C}{100} \times 100\%$$

Keterangan: C = Jumlah spermatozoa yang mati (terwarnai eosin) (Julaeha *et al.*, 2013; Ghosal *et al.*, 2013; Asadi *et al.*, 2014).

F. Analisa Data

Analisa data penelitian dilakukan dengan secara deskriptif untuk melihat perbedaan motilitas, abnormalitas, viabilitas dan jumlah spermatozoa terhadap semua kelompok perlakuan. Data

yang diperoleh dianalisa menggunakan SPSS 21 yang meliputi uji homogenitas, uji kenormalan, uji parametrik (Anova) atau non parametrik (*Kruskall Wallis*)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Skrining Fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) dapat dilihat pada Tabel II di bawah ini.

Tabel II. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit batang Pakan Banyu (*C. argyratus* Blume)

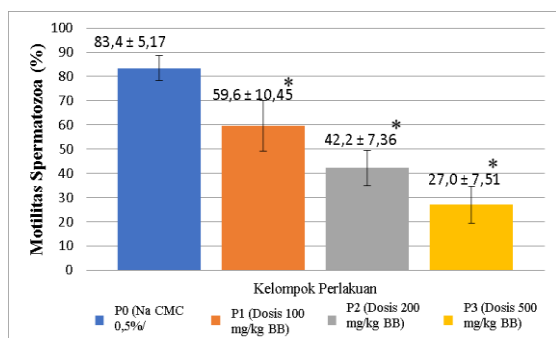
Identifikasi	Hasil
Tanin	
Pereaksi FeCl ₃	(+)
Flavonoid	
Pereaksi HCl pekat + Mg	(-)
Alkaloid	
Pereaksi Meyer	(+)
Pereaksi Wagner	(+)
Steroid	
Pereaksi kloroform + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (p)	(+)
Saponin	
- Uji busa + 2 mL air	(+)

B. Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa

1. Motilitas Spermatozoa

Ekstrak etanol kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) memberikan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok control normal yang menunjukkan penurunan motilitas spermatozoa dengan *dose-dependent*. Hasil rerata motilitas

spermatozoa tiap kelompok perlakuan terdapat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Grafik rerata motilitas spermatozoa tiap kelompok data dalam bentuk $\text{mean} \pm \text{SEM}$

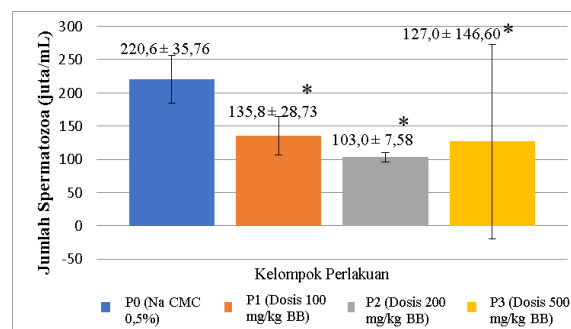
Keterangan: * menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$, $n = 5$)

Pada Gambar 1 terlihat bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka menurun jumlah spermatozoa yang motil. Penurunan ini dapat disebabkan karena adanya kandungan tanin yang dapat menggumpalkan sperma dengan mengikat enzim kunci untuk sintesis protein sehingga menurunkan kualitas nutrisi yang dibutuhkan oleh semen. Aktivitas protein dinein yang terdapat pada ekor sperma akan terhambat dengan adanya tanin sehingga mengganggu motilitas spermatozoa. (Hartini, 2011; Muslichah *et al*, 2014)

2. Jumlah Spermatozoa

Hasil uji jumlah spermatozoa menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol normal.

Hal ini dapat diamati pada Gambar 2 berikut ini.



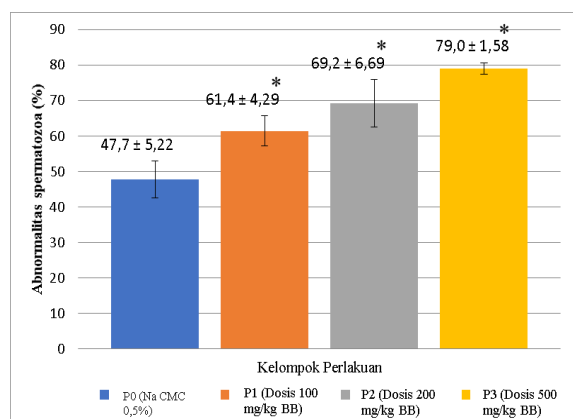
Gambar 2. Grafik rerata jumlah spermatozoa tiap kelompok data dalam bentuk $\text{mean} \pm \text{SEM}$

Keterangan: * menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$, $n = 5$)

Jumlah spermatozoa yang menurun ini dapat disebabkan adanya senyawa antifertilitas saponin yang dapat menghambat terjadinya spermatogenesis. Proses penghambatan ini terjadi saat diferensiasi transformasi morfologik spermatid membentuk spermatozoa melalui penghambatan suplai senyawa yang dibutuhkan saat proses tersebut. Selain itu senyawa aktif pada ekstrak ini juga bersifat sitotoksik terhadap sel-sel sertoli yang menyebabkan kerusakan sel-sel tersebut sehingga terjadi degenerasi sel-sel spermatogenik. Sel sertoli berperan dalam memberikan nutrisi sehingga ketika terjadi kerusakan sel ini maka pemberian nutrisi akan terganggu sehingga sel-sel spermatogenik tidak dapat berkembang (Nurcholidah *et al*, 2013; Siswanti *et al*, 2003).

3. Abnormalitas Spermatozoa

Hasil uji statistic terhadap abnormalitas spermatozoa menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol normal yang dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini.



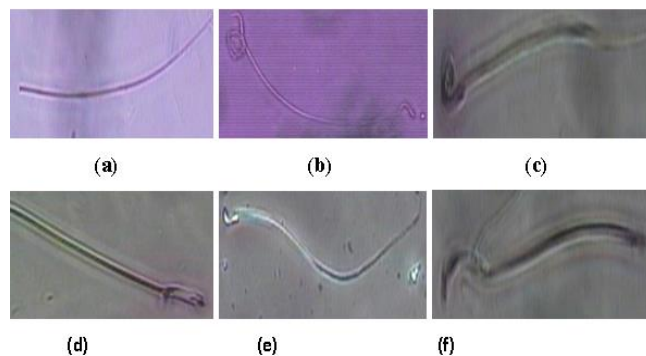
Gambar 3. Grafik rerata abnormalitas spermatozoa tiap kelompok data dalam bentuk $\text{mean} \pm \text{SEM}$

Keterangan : * menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$, $n=5$)

Berdasarkan data kualitatif menunjukkan penurunan persentase morfologi normal spermatozoa. Bentuk yang abnormal tersebut yakni adanya kepala putus, ekor menggulung, kepala pipih, bagian tengah melekuk, kepala pecah, ekor putus seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.

Peningkatan persentase morfologi spermatozoa yang disebabkan oleh abnormalitas primer dan sekunder (Harlis, 2011). Abnormalitas primer yang ditemukan dalam penelitian ini meliputi kepala pipih, kepala putus, ekor

menggulung, kepala pecah, bagian tengah melengkuk, sedangkan abnormalitas sekunder yang ditemukan pada penelitian ini meliputi ekor putus.



Gambar 4. Morfologi spermatozoa tikus dengan pewarnaan eosin negrosin (perbesaran 400x) (a) Kepala putus; (b) ekor menggulung; (c) Kepala pipih; (d) Kepala pecah; (e) bagian tengah melekuk; (f) ekor putus

Abnormalitas spermatozoa primer dapat terjadi disebabkan karena kandungan dari zat alkaloid yang diduga memiliki sifat antifertilitas. Senyawa antifertilitas memiliki mekanisme kerja melalui efek sitotoksik dan efek hormonal sehingga menghambat laju metabolisme sel spermatogenik akibat gangguan keseimbangan sistem hormon (Susetyarini, 2003). Beberapa organel penyusun sel target seperti sel leydig juga rusak akibat adanya alkaloid. Selain itu alkaloid menyebabkan vakuolisasi pada mitokondria, yang disebabkan ketidakcukupan dari suplai hormon.

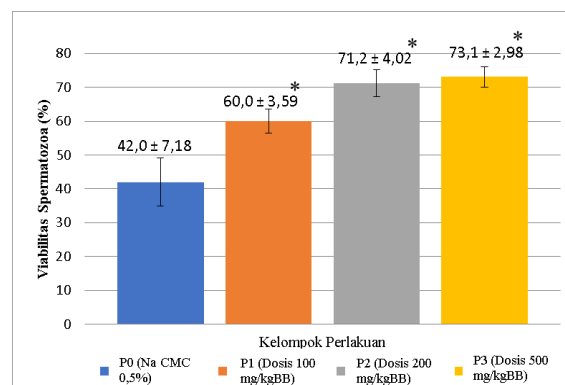
Apabila kadar hormon tidak mencukupi kebutuhan sel, maka dapat menyebabkan timbulnya gagal testis.

Selain itu senyawa sterol dan tanin yang terdapat pada ekstrak etanol kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) juga mengakibatkan pembentukan spermatozoa yang abnormal. Sterol dapat mengubah metabolisme hormon androgen yang dapat menurunkan testosteron sehingga terjadi penurunan kadar dihidrotestosteron (DHT) dan mengakibatkan penurunan ketebalan sel epitel dan berat kalenjar prostat (Winarto *et al.*, 2011; Harlis, 2011; Ravika, 2014). Tanin juga dapat menyebabkan pengerutan sel sehingga terjadi kerusakan membran plasma yang akan mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran sel pada kepala spermatozoa. Kerusakan pada kepala spermatozoa juga merusak membran akrosom yang akan mengeluarkan enzim-enzim hidrolitik sehingga tudung yang dimiliki akrosom tidak utuh (Amarudin, 2012; Muslichah *et al.*, 2014).

4. Viabilitas Spermatozoa

Pemberian ekstrak etanol kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume) dapat meningkatkan persentase kematian spermatozoa dan data statistik menunjukkan persentase kematian berbeda

bermakna dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$) seperti pada Gambar 5 berikut ini.



Gambar 5. Grafik rerata viabilitas spermatozoa tiap kelompok data dalam bentuk mean±SEM

Keterangan : * menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$, $n=5$)

Viabilitas merupakan proporsi daya hidup spermatozoa dalam cairan semen. Pembuahan tidak terjadi jika viabilitas rendah sebab spermatozoa yang telah mati sebelum membuahi sel telur. Penurunan viabilitas yang ditandai dengan peningkatan spermatozoa yang mati terjadi karena adanya hambatan di dalam epididimis sebagai tempat pematangan spermatozoa karena berkurangnya hormon testosteron (Muslichah *et al.*, 2014).

Tumbuhan yang mengandung golongan senyawa saponin, alkaloid, steroid, dan tanin dapat memberikan efek antifertilitas dengan mekanisme yang berbeda-beda. Salah satu senyawa yang memiliki aktifitas antifertilitas yaitu senyawa tanin. Senyawa tersebut dapat berefek toksik terhadap spermatozoa

karena sifat astringent dari tannin akan mengerutkan sel dan mengganggu permeabilitas membran sel sperma. Hal ini mempengaruhi viabilitas sperma karena kebutuhan nutrisi terganggu yang akan membuat sel sperma mati (Muslichah *et al*, 2014).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit batang pakan banyu (*C. argyratus* Blume).memberikan efek antifertilitas denganmenurunkan jumlah, viabilitas dan motilitas erta meningkatkan jumlah abnormalitas spermatozoa pada dosis 100, 200 dan 500 mg/kg BB

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih atas Universitas Lambung Mangkurat yang telah membiayai penelitian ini dari DIPA Universitas Lambung Mangkurat tahun 2020 No. 02317.2.6777518/2020 dengan No SP. 212.252/UN8.2/PL/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Alagammal, M., G. Sakthidevi, & V. R. Mohan. 2013. *Anti-fertility activity of whole plant extracts of Polygala rosmarinifolia Wight & Arn against male albino rats*. Journal of Advanced Pharmaceutical Sciences. Research Article 3 (1): 385 – 393.
- Amarudin. 2012. Pengaruh Merokok Terhadap Kualitas Sperma pada Pria dengan Masalah Infertilitas Studi Kasus Kontrol di Jakarta Tahun 2011. Skripsi. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Asadi, M. H., F. Zafari., A. Sarveazad., M. Abbasi., M. Safa., M. Koruji., A. Yari, & R. A. Miran. 2014. *Saffron Improves Epididymal Sperm Parameters in Rats Exposed to Cadmium*. Nephro Urol Mon 6 (1): 1 – 6
- Astuti, S. M. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). 3: 1-12.
- Evans WC, 2009. Trease and Evans' pharmacognosy: Elsevier Health Sciences.
- Dethan, A. A., Kustono, & H. Hartadi. 2010. Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Bligon Jantan yang diberi Pakan Rumput Gajah dengan Suplementasi Tepung Darah. Buletin Peternakan 34(3):145-153, Oktober 2010
- Fatimah. 2012. Pembuatan dan Uji Sitotoksisitas Nanopartikel emas – Dendrimer Poliamidoamin (Pamam) Generasi 4 Terhadap Sel kanker. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Fauzi, R., K.B. Nugroho, A.H. Azhari, & K. Nisa. 2014. Uji Potensi Ekstrak Tumbuhan Pakan Banyu (*Oriocnide* sp.) sebagai Obat KB Khas Kal-Sel. PKM Penelitian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru
- Fauziyah, A. 2013. Pengaruh Radiasi Sinar X Terhadap Motilitas Sperma pada Mencit (*Mus Muculus*). Skripsi. Universitas Negeri Semarang
- Ghosal, S., I. Chakraborty, & N. K. Pradhan. 2013. *Jussiaea repens L Induced Morphological Alterations in Epididymal Spermatozoa of Rat*. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res 22 (2): 288-295.
- Harborne JB, 1998. *Phytochemical methods A Guide to modern*

- techniques of plant analysis: springer.*
- Harlis, W. O. 2011. Morfologi Spermatozoa Epididymis Tikus (*Rattus norvegicus*, L.) Setelah Diperlakukan Ekstrak Herba Maniran (*Phyllanthus niruri*, L.). *Wa ode harlis//paradigma*, 15 (1): 39-44.
- Hartini. 2011. Pengaruh Dekok Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava*.L.) Terhadap Jumlah Kecepatan dan Morfologi Spermatozoa Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Program Studi Ilmu Biomedik.
- Hasanah, I. W. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Spermogenesis Mencit (*Mus musculus*). Skripsi. UIN. Malang.
- Hongbao, M. A., K. J. Shieh, & S. L. Lee. 2006. Study of ELISA Technique. *Nature and Science* 4(2): 36 - 37.
- Iriandini, J., L. Tendean & Benny, W. 2013. Pengaruh Aplikasi Cahaya Terhadap Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus Musculus* L.). Skripsi. Universitas Sam Ratulung. Manado.
- Julaeha E., D. M. Marlina, & O. S. Sondang. 2013. Pengaruh Pemberian Senyawa C30 Sterol yang di Isolasi dari Daun *Clerodendron serratum* Terhadap Kualitas Sperma *Mus musculus* Secara in vivo. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir. Bandung.
- Kurniati, R., R. Aryani, & S. Ibrahim. 2011. Jumlah dan Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L) yang di Papari Obat Nyamuk Elektrik Berbahan Aktif D-Allethrin. *Mulawarman Scientie* 10 (2): 133 – 138.
- Liu, J. 2005. *Oleanolic acid and ursolic acid: Research perspectives*. *Journal of Ethnopharmacology*. (100): 92-94.
- Muhgni, A. I. 2013. Uji Aktifitas Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kapuk Randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) Sebagai Penghambat Pembentukan Batu Ginjal pada Tikus Putih Jantan. Skripsi. Universitas Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Muslichah, S., Wiratmo., D. Holiday, & F. A. Fajrin. 2014. Potensi Biji Saga (*Abrus precatorius*) Sebagai Kontraksi Pria. *Pharmacy*, 11 (2).
- Mycek, M. J., Harvey, R. A, & Champe, P. C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*. Penerbit Widya Medika. Jakarta.
- Nair, S.V. G, & T. Rajamohan. 2014. *The Role of Coconut Water on Nicotine-Induced Reproductive Dysfunction in Experimental Male Rat Model*. *Food and Nutrition Sciences* 5: 1121-1130.
- Nurcholidah, S., B. Purwantara., I. Supriatna, & A. Winarto. 2013. Perkembangan Sel-Sel Spermatozoa dan Kualitas Sperma Pascapemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*). *JITV* 18 (3).
- Oyedeji, K.O., A. F. Bolarinwa, & A. A. Azeez. 2013. *Effect of Methanolic Extract of Vernonia Amygdalina on Reproductive Parameters in Male Albino Rats*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6 (2): 234 - 236.
- Ravika, M. 2014. Uji Aktifitas Ekstrak Etil Asetat Lumut Hati *Mastigophora dicladus* (Bird. Ex Web) Nees terhadap Kualitas Sperma dan Dentitas Sel Spermatozoa pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* Secara in Vivo. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Rekha. S, & S. Chandrashekara. 2014. *Antifertility Effect Ziziphus jujuba mill*. *World Journal Pharmacy and*

- Pharmaceutical Sciences 3 (3): 1363-1370.
- Sihabuddin, M., A. Maria., J. S. Flourisa., B. Pramesti., S. Musta'ina., A. Radjaram., H. Aucky, & E. W. B. Prajogo. 2011. *Pharmacokinetic Parameters Determination of Gendarusin a in Men Subject Urine After Administration of Ethanol Extract of Justicia gendarussa Burm. f. Leaf (Ethno Medicine Research)*. Jurnal Medika Planta 1 (4): 59-68.
- Siswanti, T., O. P. Astirin, & T. Widiyani. 2003. Pengaruh Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.). Bio SMART. 5 (1): 38-42.
- Susetyarini, E. 2003. Jumlah Spermatogenesis Tikus Putih yang diberi Tanin Daun Beluntas () Sebagai Sumber Belajar. 2: 16-159 A.
- Widyawati, T. 2007. Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Majalah Kedokteran Nusantara 40 (3): 216 – 222.
- Winarto, M, W., B. Nuratmi, & Y, Astuti. 2011. Pengaruh Infus Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Kelenjar Prostat Tikus Putih. Media Litbang Kesehatan 11 (2): 41-44.
- Yeboah, A. A., H. Lambrechts., D. Brink., F. Hiten, & E. A. Gyawu. 2013. *Analysis of Oleanolic Acid and Ursolic Acid, Potential Antifertility Agents in Moringa (Moringa oleifera) Seed*. Journal of Agricultural Science and Technology A (3): 989-999.