

**POTENSI EKSTRAK JAHE MERAH (*Zingiberaceae officinale rosc*) SEBAGAI  
ANTIMIKROBA DAN PENINGKAT KUALITAS SPERMATOZOA MENCIT YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA INTRA URETHRA**

N. Ersanto<sup>1)</sup>, Sukarjati<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Prodi Biologi F. MIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya  
email: [ersanto@gmail.com](mailto:ersanto@gmail.com)

<sup>2)</sup> Prodi Biologi F. MIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya  
email: [sukarjati@ymail.com](mailto:sukarjati@ymail.com)

**ABSTRACT**

*Red Ginger (Zingiberaceae officinale rosc) is known to be used as an anti-microbial and enhancing the quality of spermatozoa. This study aims to demonstrate of the red ginger extract (Zingiberaceae officinale rosc) potential as an antimicrobial and the quality enhancer of spermatozoa in laboratory rats injected by Staphylococcus aureus to its urethra. The red ginger was extracted by ethanol. The sample of this research was the spermatozoa of 30 mice that were injected by Staphylococcus aureus to its urethra. Potential test of red ginger extract on the laboratory rats conducted by observing the spermatozoa's motility, viability, morphology, the spermatozoa's concentration and the amount of spermatozoa leukocyte in the laboratory rats after the administration of the red ginger extract for 35 days under the microscope. Antimicrobial activity test on Staphylococcus aureus was done by culturing the spermatozoa of laboratory rats (in vivo) after administering the red ginger extract for 35 days with total plate count method. The result of the study showed that there were differences between negative control group of laboratory rats and positive control group of laboratory rats (laboratory rats injected with Staphylococcus aureus intra urethra) motility ( $p = 0.000$ ), viability ( $p = 0.000$ ), morphology ( $p = 0.000$ ), concentration ( $p = 0.000$ ), and the amount of leukocyte ( $p = 0.000$ ). Whereas on the calculation of red ginger extract bacterial colonies give the significant effects  $p < 0.05$  on the growth of *S. aureus*. Based on the results of this study, it can be conclude that the red ginger has potential as an antimicrobial and it also can improve the quality of spermatozoa in laboratory rats infected with *S. aureus* through its urethra.*

**Keyword :** Red Ginger, *S. Aureus*, Spermatozoa, Laboratory Rats

## 1. PENDAHULUAN

Infertilitas yang didefinisikan sebagai kegagalan untuk hamil setelah satu tahun mencoba kehamilan dengan melakukan hubungan seksual secara teratur tanpa kontrasepsi, dianggap sebagai masalah di hampir semua budaya dan masyarakat (Lewis, 2007). Kasus infertilitas dalam suatu lingkungan sosial budaya mengandung bias jender yang kuat. Pihak perempuan sering disalahkan pada pasangan suami istri yang tidak mempunyai keturunan (Pranata, 2009). Dengan demikian perempuan dianggap sebagai pihak yang bertanggung jawab atas semua kejadian infertilitas. Tidak jarang kekerasan dalam rumah tangga terjadi akibat ketidakadilan memandang masalah terkait infertilitas, sehingga pada akhirnya perempuan

yang menjadi korban baik secara fisik, ekonomi, seksual maupun psikososial (Greil, 1997; Warsiti, 2006).

Infertilitas terjadi pada banyak pasangan di seluruh dunia, yaitu sebanyak 50 juta hingga 80 juta pasangan dengan usia wanita yang masih subur (WHO, 2011). Insiden infertilitas terjadi sekitar 15% pada pasangan suami – istri (Agarwal dan Said, 2005). Di Indonesia, pada tahun 2007, dari sekitar 30 juta pasangan usia subur terdapat 3-4,5 juta atau sekitar 10-15 % pasangan yang memiliki problem kesuburan. Menurut penelitian yang dilakukan Lim dan Ratnam (1997) sebesar 33% faktor penyebab infertilitas berasal dari suami.

Penyebab terjadinya infertilitas pada pria sangat bervariasi, namun 15 % lebih kasus

infertilitas pria disebabkan oleh infeksi bakteri pada saluran urogenital (Pellati *et al.*, 2008). Salah satu bakteri yang menginfeksi saluran genital dan mengkontaminasi semen adalah *Staphylococcus aureus*. Akibat proses infeksi dan inflamasi, konsentrasi sitokain dan ROS meningkat, sehingga menyebabkan abnormalitas membran dan DNA spermatozoa. Penelitian yang dilakukan Huwe *et al* (1998) melaporkan bahwa *Staphylococcus aureus* menghambat motilitas spermatozoa. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Liu, *et al* (2002) menemukan penurunan yang signifikan dalam motilitas spermatozoa saat spermatozoa di infeksi oleh *Staphylococcus aureus*.

Jahe merah (*Zingiber officinale rosc*) merupakan salah satu jenis rempah yang sejak dulu dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale rosc*) menimbulkan efektivitas yang positif terhadap sistem reproduksi tikus jantan Morakinyo., *et al* (2008). Saker (2009) meneliti pengaruh ekstrak jahe merah terhadap kualitas sperma manusia dan dilaporkan bahwa ekstrak jahe merah mampu meningkatkan kualitas spermatozoa karena adanya kandungan bahan aktif yang berasal dari senyawa fenolik yang mampu bertindak sebagai antioksidan. Aktifitas senyawa gingerol, shogaol, dan zingeron telah diteliti oleh Kikuzaki dan Nakatani (1993). Jahe merah juga mengandung zinc dan mangan. Zinc sangat penting untuk pembelahan sel dan produksi spermatozoa yang sehat. Zinc diperlukan untuk metabolisme hormon testosteron, pertumbuhan testis dan produksi spermatozoa, motilitas, jumlah dan mengurangi kelebihan estrogen dalam jaringan reproduksi laki – laki (Vancouver, 2005).

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut yang membuktikan potensi jahe merah (*Zingiberaceae officinale rosc*), maka penelitian tentang uji potensi jahe merah terhadap kualitas spermatozoa mencit dan sebagai antimikroba secara *in vivo* juga perlu dilakukan.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya. Sampel jahe merah (*Zingiberaceae officinale rosc*) diperoleh dari petani jahe merah di Desa

Tlogo Kecamatan Kanigoro Kabupaten Blitar Jawa Timur

### Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 2 kg jahe merah disortasi dan dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, dipotong-potong kecil, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama 2 hari. Potongan jahe merah di blender hingga halus, diayak. Ekstraksi jahe merah dilakukan dengan cara dingin yaitu maserasi. Serbuk jahe merah sebanyak 100 g dilarutkan dalam 1000 ml etanol 70 % selama 3 hari sambil diaduk. Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan kertas saring kemudian filtratnya di destilasi dengan suhu 70°C, hasil dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 75°C selama 2 hari.

### Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri diambil dari biakan murni menggunakan ose loop kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan garam fisiologis (NaCl 0,85% steril), Selanjutnya, suspensi bakteri disamakan kekeruhannya dengan *Mc farland 0,5* yang dibuat dengan menambahkan 0,05 ml BaCl<sub>2</sub> 1% dan 9,95 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%. Hal ini bertujuan untuk mengetahui dan menetapkan jumlah bakteri per ml yang diinginkan dalam suspensi. standar yang digunakan adalah *Mc farland 0,5* yang setara dengan jumlah bakteri 1 x 10<sup>8</sup>cfu/ml.

### Perlakuan Injeksi Intra Urethra Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini kelompok yang diuji berjumlah tiga kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan. Hewan coba (mencit jantan) diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus* 10<sup>6</sup> sebanyak 1 ml secara intra urethra selama lima hari untuk semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif. Kontrol negatif hanya diinduksi aquadest sebanyak 1 ml. Penyuntikan dilakukan satu kali dalam sehari.

### Perlakuan Pemberian Ekstrak Jahe Merah

Perlakuan mencit diberikan secara oral dengan menggunakan sonde lambung sekali sebanyak 1 ml dosis 150 mg/kg BB untuk kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak jahe merah dilakukan satu kali dalam sehari.

### Pengamatan Motilitas Spermatozoa

Spermatozoa epididimis mencit segera diambil satu tetes pada *object glass* lalu ditutup *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop

dengan pembesaran 400 kali. Motilitas ditentukan dengan kategori menurut WHO (1999) yaitu a. gerakan maju lurus ke depan b. gerakan kambat ke depan c. tidak bergerak maju atau bergerak di tempat d. tidak bergerak. Dilakukan penghitungan pada 100 spermatozoa.

#### **Pengamatan Viabilitas Spermatozoa**

Spermatozoa epididimis mencit diambil satu tetes pada *object glass*, lalu ditetesi satu tetes Eosin Y dan dicampur. Pengamatan dilakukan setelah 30 detik dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali, spermatozoa hidup tidak tercat dan sperma mati tercat merah. Dilakukan penghitungan pada 100 spermatozoa.

#### **Pengamatan Morfologi Spermatozoa**

Satu tetes sperma epididimis ditetaskan pada *object glass* lalu ditipiskan dengan *cover glass*, dikeringkan di udara. Selanjutnya diwarnai dengan safranin, di rendam alcohol 70% selama 5 menit. Kemudian di celup cepat dengan buffer fosfat sebanyak 3 kali. Terakhir diwarnai dengan kristal violet selama 10 menit, di cuci dengan air dan dikeringkan. Selanjutnya dihitung sperma normal dan abnormal pada kepala, ekor, dan bagian tengah pada 100 sperma menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali.

#### **Pengamatan Konsentrasi Spermatozoa**

Larutan spermatozoa diambil sebanyak 10 $\mu$ l dengan menggunakan pipet mikro. Setelah itu dilakukan pengenceran sebanyak 10 kali dengan menambahkan larutan George sebanyak 90 $\mu$ l dalam tabung mikro. Larutan spermatozoa tersebut kemudian dikocok kemudian ditetaskan ke dalam kamar hitung hemasitometer *Improved Neubauer* yang telah diberi kaca penutup. Penghitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

#### **Pengamatan Jumlah Leukosit**

Dihitung jumlah leukosit perlapangan pandang saat pengamatan motilitas spermatozoa.

#### **Pengamatan Jumlah Koloni Bakteri**

Perhitungan jumlah koloni bakteri menggunakan metode TPC (Total Plate Count). Tahapan pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml (campuran 1 ml sampel dengan 9 ml NaCl 0,2%). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan masukkan kedalam 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10<sup>-2</sup>. Dari pengenceran 10<sup>-2</sup> diambil lagi 1 ml dan dimasukkan kedalam

tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10<sup>-3</sup>. Kemudian dilakukan penanaman pada media lempeng agar, diikubasi. Perhitungan dilakukan terhadap cawan petri dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. Perhitungan Total Plate Count dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengencer.

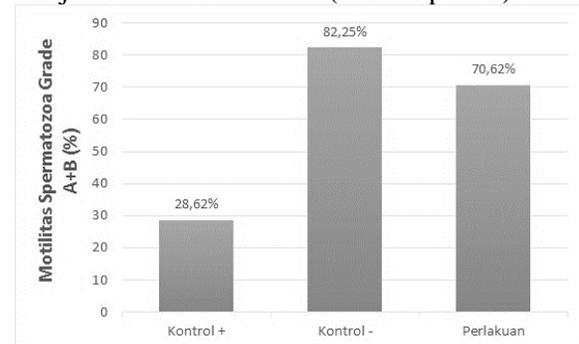
#### **Analisis Data**

Perbedaan motilitas, viabilitas, morfologi, konsentrasi, jumlah leukosit, jumlah koloni bakteri antara sperma pada mencit data dianalisis dengan menggunakan SPSS 16 dengan uji T. Data jumlah bakteri ditrasformasikan pada bilangan logaritma sebelum dilakukan analisis.

### **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Motilitas**

Data hasil pengamatan motilitas spermatozoa mencit menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas spermatozoa mencit. Motilitas spermatozoa mencit (Gambar 1) yang di beri ekstrak jahe merah (kelompok perlakuan) signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih rendah dibandingkan motilitas spermatozoa mencit normal (kontrol negatif), dan signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan motilitas spermatozoa mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* (kontrol positif).

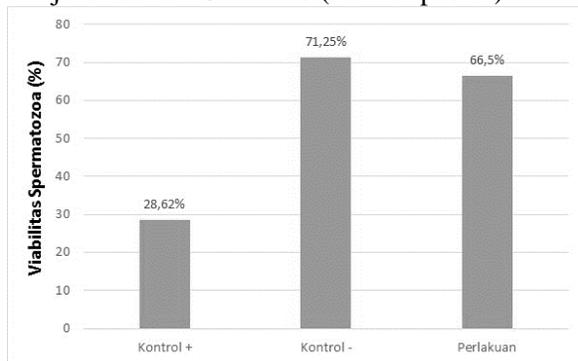


Gambar 1 Presentase rata-rata motilitas spermatozoa mencit pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan.

#### **Viabilitas**

Data hasil pengamatan viabilitas spermatozoa mencit menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap viabilitas spermatozoa mencit. Viabilitas spermatozoa mencit (Gambar 2) yang di beri ekstrak jahe merah (kelompok perlakuan) signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih rendah dibandingkan viabilitas spermatozoa mencit normal (kontrol

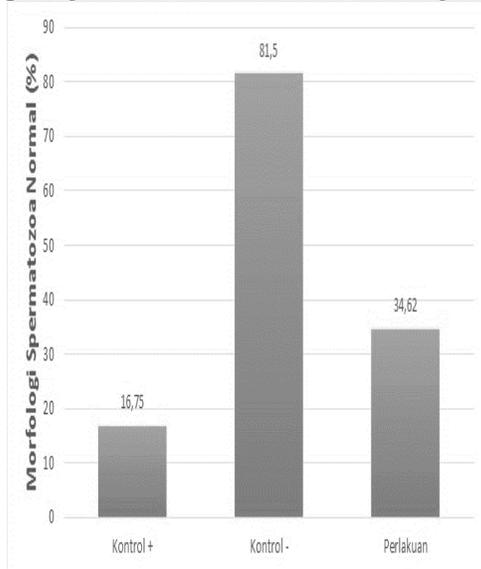
negatif), dan signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan viabilitas spermatozoa mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* (kontrol positif).



Gambar 2 Presentase rata-rata viabilitas spermatozoa mencit pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan.

**Morfologi**

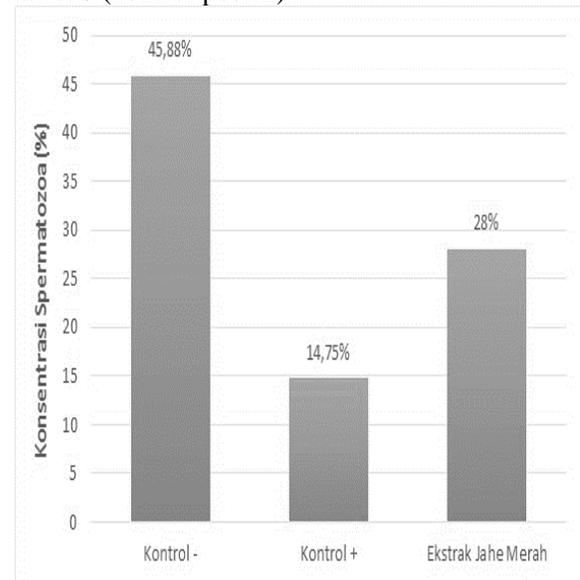
Data hasil pengamatan morfologi spermatozoa mencit menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap morfologi spermatozoa mencit. Morfologi spermatozoa mencit (Gambar 3) yang di beri ekstrak jahe merah (kelompok perlakuan) signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih rendah dibandingkan morfologi spermatozoa mencit normal (kontrol negatif), dan signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan morfologi spermatozoa mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* (kontrol positif).



Gambar 3 Presentase rata-rata morfologi spermatozoa normal mencit pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan.

**Konsentrasi**

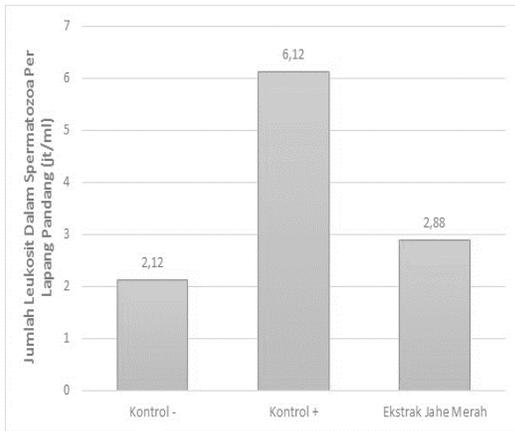
Data hasil pengamatan konsentrasi spermatozoa mencit menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap konsentrasi spermatozoa mencit. Konsentrasi spermatozoa mencit (Gambar 4) yang di beri ekstrak jahe merah (kelompok perlakuan) signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih rendah dibandingkan konsentrasi spermatozoa mencit normal (kontrol negatif), dan signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan konsentrasi spermatozoa mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* (kontrol positif).



Gambar 4 Presentase rata-rata konsentrasi spermatozoa mencit pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan

**Jumlah Leukosit**

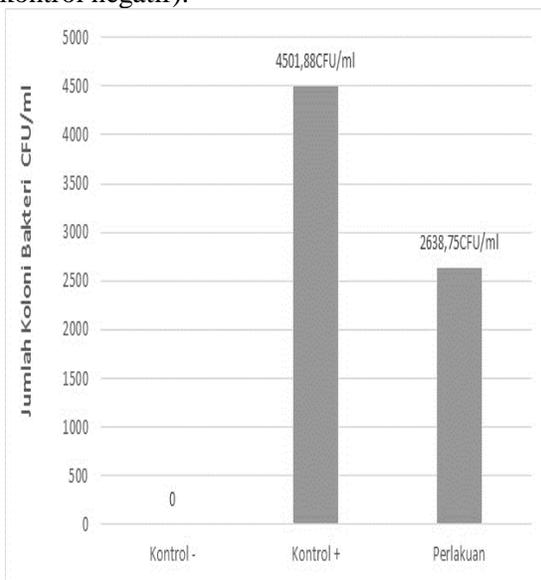
Data hasil pengamatan jumlah leukosit spermatozoa mencit menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap jumlah leukosit spermatozoa mencit. Jumlah leukosit spermatozoa mencit (Gambar 5) yang di beri ekstrak jahe merah (kelompok perlakuan) signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih rendah dibandingkan jumlah leukosit spermatozoa mencit normal (kontrol negatif), dan signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan jumlah leukosit spermatozoa mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* (kontrol positif).



Gambar 5 Presentase rata-rata jumlah leukosit spermatozoa mencit pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

**Jumlah Bakteri *S. aureus***

Data hasil pengamatan jumlah bakteri dalam spermatozoa mencit menunjukkan bahwa ekstrak jahe merah berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap jumlah bakteri dalam spermatozoa mencit. Jumlah bakteri dalam spermatozoa mencit (Gambar 6) yang di beri ekstrak jahe merah (kelompok perlakuan) signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih rendah dibandingkan jumlah bakteri dalam spermatozoa mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* (kontrol positif). Dan signifikan ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan jumlah bakteri dalam spermatozoa mencit normal (kontrol negatif).



Gambar 6 Data presentase rata-rata jumlah koloni bakteri dalam spermatozoa mencit kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Hasil penelitian yang dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak jahe merah (*Zingiberaceae officinale rosc*) sebagai antimikroba dan peningkat kualitas spermatozoa mencit menunjukkan (*Mus musculus l*) menunjukkan signifikan berpengaruh antara mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* inthra urethra dengan mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* inthra urethra dan diberi ekstrak jahe merah dengan mencit normal. Pengaruh yang terlihat mengindikasikan adanya penurunan kualitas spermatozoa dari mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Dan adanya peningkatan kualitas spermatozoa pada mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* inthra urethra dan diberi ekstrak jahe merah. Selain itu peningkatan kualitas spermatozoa ditandai dengan penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada kultur spermatozoa mencit.

Infeksi buatan intra urethra dengan *S. aureus* pada mencit jantan (kelompok kontrol positif) dapat menurunkan kualitas spermatozoa yaitu menurunkan motilitas, vitabilitas, konsentrasi, morfologi spermatozoa dan meningkatkan jumlah leukosit dalam spermatozoa (leukospermia). Hal ini karena adanya bakteri *S. aureus* yang menyebabkan kerusakan pada lipid membran plasma spermatozoa. Patogenesis *S. aureus* disebabkan oleh efek gabungan dari faktor ekstraseluler dan toksin yang dihasilkan, sifat infasive dari bakteri, pembentukan biofilm dan resistensi bakteri terhadap fagositosis (Eiichi A, 2004). Lapisan kapsul bakteri *S. aureus* mengandung asam teikoik dan asam lipoteikoat yang dapat membuat infeksi saluran urogenital (Yassin H, 1990).

Akibat proses infeksi dan inflamasi akan mengakibatkan konsentrasi sitokain dan ROS yang meningkat, hal ini menyebabkan abnormalitas membran spermatozoa dan DNA spermatozoa. Menyebabkan aglutinasi spermatozoa, mengurangi kemampuan reaksi akrosom dan menyebabkan perubahan morfologi melalui produksi spesies oksigen reaktif yang dihasilkan oleh respon inflamasi terhadap infeksi (Tremellen K, 2008). Infeksi dari *S. aureus* menyebabkan gangguan pada spermatozoa diantaranya motilitas dan morfologi spermatozoa seperti yang tampak pada gambar pengamatan

morfologi spermatozoa mencit kelompok kontrol positif (mencit yang diinjeksi bakteri *S. aureus* intra urethra)

Setelah pemberian ekstrak jahe merah pada mencit jantan yang diinfeksi buatan *S. aureus* (kelompok perlakuan) mengakibatkan peningkatan kualitas spermatozoa mencit meningkat. Hal ini terbukti dengan kelompok perlakuan memberikan perbedaan yang nyata dengan kelompok kontrol positif. Adanya zat aktif di dalam ekstrak jahe merah antara fenolik zingeron, minyak atsiri, arginin, gingerdiol, sangaol yang memiliki aktifitas antioksidan yang cukup tinggi. Aktioksidan pada jahe merah dapat menghambat radikal bebas dari ROS yang ditimbulkan dari infeksi *S. aureus*. Hal ini sesuai hasil penelitian Spetina (2002) bahwa, antioksidan fenolik pada jahe dapat digunakan untuk menghambat terjadinya peroksidasi lipid. Penghambatan peroksidasi lipid oleh senyawa antioksidan jahe merah dilakukan dengan cara mendonasikan radikal hidrogen kepada senyawa radikal bebas, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil dan tidak bersifat merusak. Akibat senyawa radikal bebas yang stabil, maka kerusakan sel sertoli dan sel leydig dapat terhindari sehingga proses spermatogenesis kembali normal, selain itu bahan aktif arginine yang terkandung dalam ekstrak jahe merah mampu memberikan perlindungan dominative pada kerusakan DNA serta mencegah timbulnya reaksi berantai oleh radikal bebas (Ghada *et al*, 2009).

Pemberian ekstrak jahe merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal ini disebabkan karena ekstrak jahe merah mengandung senyawa anti-mikroba. Menurut Nurse *et al.*, (2006) ekstrak jahe merah diketahui mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri.

Polifenol menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi

(senyawa dan ion) sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhan (Volk dan Wheeler, 1991). Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang kondisi yang sangat tipis, sehingga polifenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Sukarjati, 2010).

#### 4. KESIMPULAN

Penelitian dapat disimpulkan Ekstrak jahe merah (*Zingiberaceae officinale rosc*) signifikan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan signifikan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa (motilitas, viabilitas, morfologi, konsentrasi.) pada mencit yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* secara intra – urethra.

#### 5. REFERENSI

- Agustina, Icha dan Hendri Busman. 2008. Struktur Histologi Folikel Primer, Sekunder Dan Tersier Ovarium Mencit (*Mus musculus*) Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Prosiding seminar nasional sains dan teknologi II*.Lampung: Universitas Lampung
- Besung, Kerta nengah I. 2009. Pegagan (*Centella asiatica*) Sebagai Alternative Pencegahan Infeksi Pada Ternak. *Jurnal Penelitian* vol.2. no 1 26 agustus 2009. Bali : Universitas Udayana
- Christensen, A.K. 1975 Leydig Cells. In: D.W. Hamilton and Roy O. Greep (eds) *Handbook of Physiology. Section 7 Vol. V. Male Reproduction System*. Waverly Press. Washington D.C.
- Dalimarta, Setiawan. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Gilbert, S.F. 1985. *Developmental Reproductive Biology*. Sunderland: Sinauere Associates Inc.
- Greenspan FS, Baxter JD. *Endokrinologi dasar & klinik*, ed 4. Jakarta: EGC, 1998: 508-10.
- Gultekin E, Yildiz F. Introduction to phytoestrogen. In: Yildiz F, editor. *Phytoestrogens in functional foods*. Boca

- Raton: CRC Press Taylor&Francis Group LLC, 2006: 3-12.
- Johnson, M., Everitt, B. (1990). *Essential in Reproduction*, Blackwell Science Pub Oxford, London.
- Junquiera, Luis C dan Carneiro, Jose. 1980. *Histologi Dasar*. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta
- Kaspul. 2004. Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Setelah Perlakuan Dengan Boraks. *Bioscientiae Jurnal*. Volume 1 Nomor 2. 1-9. <http://bioscientiae.tripod.com>
- Winarno, Wien dan Sundari, Dian. 1997. *Informasi Tanaman Obat untuk Kontrasepsi Tradisional*. Cermin Dunia Kedokteran No. 120, 1997 25. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.