

The Effect of Kepel Fruit Extract on The Number of Spermatogenic Cells in Mice (*Mus musculus*)

Marwa Azzahra¹, I Wayan Merta^{1*}, Kusmiyati¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : August 18th, 2023

Revised : August 28th, 2023

Accepted : September 18th, 2023

*Corresponding Author:

I Wayan Merta, Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia; Email: wayanmerta.fkip@unram.ac.id

Abstract: The Kepel plant (*Stelechocarpus burahol*) has garnered research interest due to its diverse secondary metabolites like alkaloids, flavonoids, polyphenols, saponins, triterpenoids, and quinones, thought to impact fertility. This research aims to determine the effect of kepel fruit extract on the number of spermatogenic cells in mice (*Mus musculus*), consisting of spermatogonia cells, spermatocyte cells, and spermatid cells. Employing a Posttest-Only Control Design, Kepel extraction used 95% ethanol via maceration. 25 mice were divided into groups: positive control, negative control, groups I, II, and III exposed to 50, 100, and 150 mg/kgBW Kepel extract for 36 days. Randomized group design determined sample selection, assessing seminiferous tubules via four fields of vision. Statistical analysis involved one-way ANOVA (5% significance) and LSD test for disparities. Data were analyzed using SPSS 25. ANOVA revealed no significant difference ($p > 0.05$) in mean spermatogonia and spermatocyte cell counts between control and treatment groups (I, II, III). However, groups I, II, and III exhibited significant spermatid cell reduction. In conclusion, Kepel fruit extract at 50 mg/kgBW, 100 mg/kgBW, and 150 mg/kgBW could lower spermatid cell count, indicating potential as an antifertility agent.

Keywords: Kepel, spermatids, spermatogonia, spermatocyte, *Stelechocarpus burahol*.

Pendahuluan

Salah satu tanaman buah asli Indonesia, kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.f & Thomson) adalah tanaman yang tersebar secara alami di seluruh Indonesia, khususnya di Yogyakarta. Istilah "kepel" berasal dari fakta bahwa buah dari tanaman ini memiliki ukuran dan bentuk sebesar kepala tangan manusia. Tanaman ini juga dikenal dengan nama "kepel", "kecindul", "simpol", "cindul" (Jawa), "burahol", dan "turalak" (Sunda), dan disebut "keppel apple" di Inggris. Kepel telah digunakan dalam pengobatan tradisional Indonesia, terutama di wilayah keraton. Buah kepel digunakan oleh penghuni keraton sebagai alat kontrasepsi dan terkenal dapat menghilangkan bau busuk dari nafas, keringat, dan air seni (Angio & Firdiana, 2021). Pohon kepel tumbuh hingga

ketinggian 25 m, memiliki batang berdiameter 40 cm, dan memiliki beberapa tonjolan tebal. Daunnya tunggal, dengan panjang hingga 12-27 cm dan lebar 5-9 cm, berbentuk elips-lonjong hingga bulat telur-lanset. Bunga berkelamin tunggal, berwarna hijau keputihan, dengan bunga jantan berkelompok 8-16 kuntum secara eksklusif pada batang bawah dan cabang yang lebih tua. Buahnya berdiameter 5-6 cm, berbentuk bulat, dan berwarna kecoklatan. Setiap buah mengandung 4-6 biji berbentuk elips dengan ukuran yang bervariasi (Putri *et al.*, 2011).

Hasil uji skrining fitokimia pada daging buah burahol menunjukkan adanya metabolit sekunder dari golongan alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, triterpenoid, dan kuinon (Sunardi *et al.*, 2010). Zat-zat tersebut dapat mempengaruhi proses reproduksi termasuk spermatogenesis karena memiliki efek

antifertilitas. Obat antifertilitas dapat memiliki efek sitotoksik atau efek sitostatik, yang keduanya merupakan mekanisme kerja yang mungkin terjadi.

Spermatogenesis pada mencit membutuhkan waktu 35,5 hari untuk menyelesaikannya dalam satu siklus, atau 4 kali lebih lama dari siklus epitel seminiferus. Proliferasi, pertumbuhan, pematangan, dan transformasi/spermiogenesis merupakan fase-fase yang berbeda dari spermatogenesis (Nugroho, 2018). Menurut Djaelani (2010), spermatogenesis adalah proses dimana sel spermatozoa dibuat oleh serangkaian pembelahan sel yang disebut spermatogonia yang berlangsung di dalam tubulus seminiferus testis hewan jantan.

Luteinizing hormone yang memengaruhi sel Leydig untuk mensintesis testosteron, dan *follicle stimulating hormone*, yang bekerja pada sel Sertoli untuk menstimulasi pembentukan protein pengikat androgen yang dapat mengikat androgen (testosteron), bertanggung jawab untuk mengatur spermatogenesis (Hafez, & Hafez, 2000). Testosteron dan FSH berkolaborasi untuk memfasilitasi transformasi spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder, yang kemudian mengalami meiosis untuk menghasilkan spermatid, yang kemudian diikuti oleh proses spermiogenesis. Spermatogenesis dikendalikan oleh interaksi testosteron, FSH, dan LH. Proses spermatogenesis akan terganggu apabila terjadi penyimpangan dalam interaksi hormon testosteron, FSH, dan LH (Arief, 2011).

Belum banyak penelitian yang dilakukan mengenai bagaimana ekstrak buah kepel mempengaruhi sel spermatogenik. Mempelajari dampak buah kepel terhadap jumlah sel spermatogenik pada mencit jantan diperlukan karena buah kepel kaya akan kandungan alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, triterpenoid, dan kuinon, yang berpotensi sebagai agen antifertilitas.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang dibutuhkan meliputi baskom, pisau, nampan, blender, neraca analitik, botol kaca, *rotary evaporator*, gelas kimia,

timbangan, kandang mencit, botol minum mencit, alat seksio, oven, mikroskop, gelas ukur, *hot plate*, pipet tetes, cawan petri, *refrigerator*, mikrotom, botol vial, papan seksio, jarum gavage, kaca benda beserta penutupnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi larutan NaCl 0,9%, pellet, air, ekstrak buah kepel, pelarut etanol 95%, aquades, xylol, larutan NBF (*Neutral Buffer Formalyn*) 10%, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), hematoxylin, eosine, parafin, alkohol dengan konsentrasi (70%, 80%, 90%, dan 96%), absolut, tisu, *cotton bud*, perekat entellan, dan sarung tangan.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan menggunakan total 25 ekor mencit. Setiap kelompok terdiri dari lima ekor mencit jantan. Terdapat kelompok kontrol yang positif (KO+) dan negatif (KO-). Pada kelompok perlakuan K1, K2, dan K3, mencit menerima dosis 50, 100, dan 150 mg/kgBB ekstrak buah kepel secara berurutan. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juni 2023 di laboratorium biologi dan kimia Jurusan Pendidikan MIPA, FKIP, Universitas Mataram.

Aklimatisasi mencit jantan

Satu minggu sebelum perlakuan, dilakukan aklimatisasi dan penimbangan berat badan mencit yang akan digunakan. Mencit diberi makan dengan pakan pellet CP551 dan air minum menggunakan botol minum mencit. Pemberian makan dan minum dilakukan pada pagi dan sore hari.

Ekstraksi kepel

Ekstraksi buah kepel dilakukan menggunakan metode maserasi, metode ini yang cukup sederhana dimana serbuk simplisia direndam dengan etanol 95% selama 3 hari dengan pengadukan satu kali sehari sampai semua bagian buah terendam dengan baik. Campuran ini kemudian disaring menggunakan kertas saring agar mendapatkan bagian cairnya saja. Memekatkan hasil campuran yang telah disaring dengan evaporator sampai memperoleh ekstrak yang pekat (Batubara *et al.*, 2020). Tujuan penggunaan metode maserasi yaitu

untuk menghindari rusaknya senyawa aktif yang terkandung dalam sampel karena pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95%.

Pemberian perlakuan

Sonde digunakan untuk memberi suspensi ekstrak kepel. Perlakuan diberikan pada mencit di setiap kelompok selama 36 hari. Hewan dibunuh dengan dislokasi leher setelah menerima perlakuan selama 36 hari, yang sesuai dengan panjang satu siklus spermatogenesis mencit. Organ testis mencit yang mati dibedah pada papan penampang.

Pembuatan preparat histologis

Preparat histologis dibuat setelah organ testis dimasukkan ke dalam botol yang berisi larutan NBF 10%. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin dan metode parafin digunakan untuk pembuatan preparat (Marfu'ah *et al.*, 2019).

Parameter penelitian

Preparat histologi organ testis diperiksa di bawah mikroskop pembesaran 400x. Terlihat tubulus seminiferus yang dipotong menjadi bentuk bundar. Jumlah sel spermatogenik (spermatogonia, spermatisit, dan spermatid) adalah parameter yang diukur. Pengambilan data jumlah sel dilakukan dengan mengamati 4 lapang pandang tubuli seminiferus yang bulat penuh untuk masing-masing perlakuan dan ulangan. Kemudian dilakukan pemotretan preparat histologis.

Analisis data

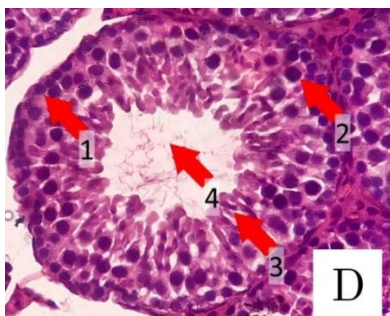
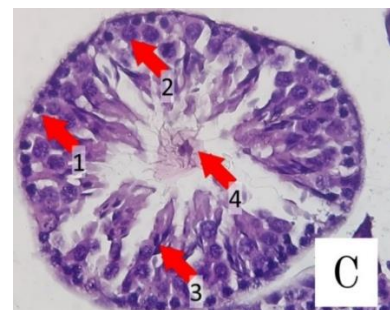
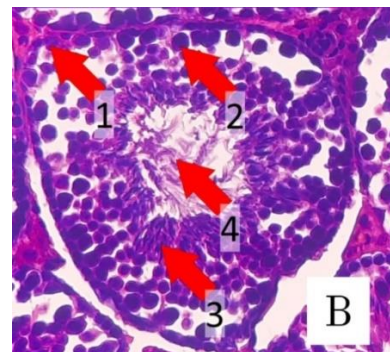
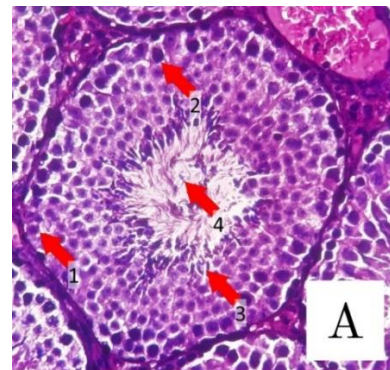
Hasil uji pengaruh ekstrak buah kepel terhadap jumlah sel spermatogenik mencit dianalisis menggunakan *One Way analysis of Variance* (ANOVA, $\alpha = 0,05$) untuk melihat pengaruh perlakuan. Apabila terdapat pengaruh yakni adanya penurunan jumlah sel, maka akan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Data dianalisis dengan program *SPSS For Windows* versi 25.

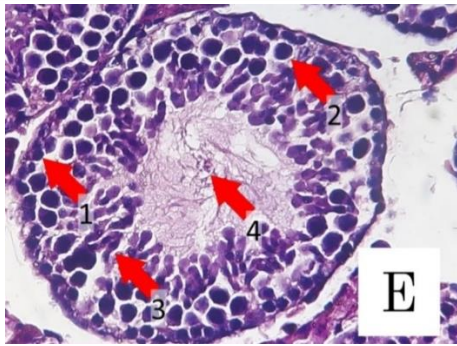
Hasil dan Pembahasan

Sel spermatogonia

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sel spermatogonia kelompok kontrol positif tersusun rapat dan padat (gambar 1.A1). Begitu

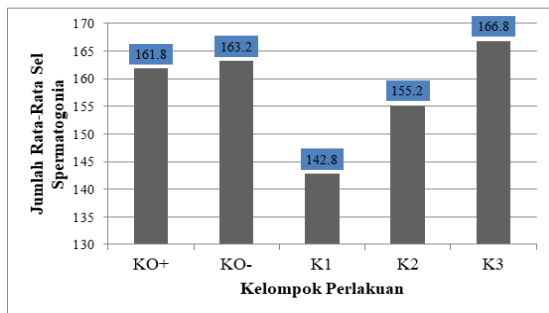
pula dengan sel spermatogonia pada kelompok kontrol negatif (gambar 1.B1). Susunan sel spermatogonia pada kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 terlihat renggang serta jumlah selnya sedikit menurun (gambar 1.C1 dan 1.D1). Sebaliknya, pada kelompok perlakuan 3 terlihat sel spermatogonia yang rapat dan padat (gambar 1.E1).





Gambar 1. Penampang melintang Tubulus seminiferus mencit setelah diberi perlakuan ekstrak buah kepel. Keterangan: Kontrol positif (A), kontrol negatif (B), perlakuan 1 (C), perlakuan 2 (D) dan perlakuan 3 (E); 1. Spermatogonia, 2. Spermatisis, 3. Spermatid, 4. Lumen

Hasil perhitungan jumlah sel spermatogonia paling tinggi yakni pada K3 dengan rata-rata sel spermatogonia 166,8 dan terendah pada K1 sebesar 142,8 (gambar 2).



Gambar 2. Rata-Rata Jumlah Sel Spermatogonia

Jumlah sel spermatogonia pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 tidak berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan negatif hal ini dibuktikan dari analisis ANOVA satu arah, meskipun terdapat kecenderungan jumlah sel yang lebih sedikit pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol (tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak buah kepel berbagai dosis belum mampu menurunkan jumlah sel spermatogonia secara signifikan. Pemberian ekstrak buah kepel diduga belum bisa menyebabkan efek sitotoksik secara maksimal sehingga kandungan metabolit pada ekstrak buah kepel belum mampu meningkatkan produksi radikal bebas yang mempengaruhi produksi ATP yang diperlukan saat proses spermatogenesis, khususnya saat sel melakukan pembelahan mitosis.

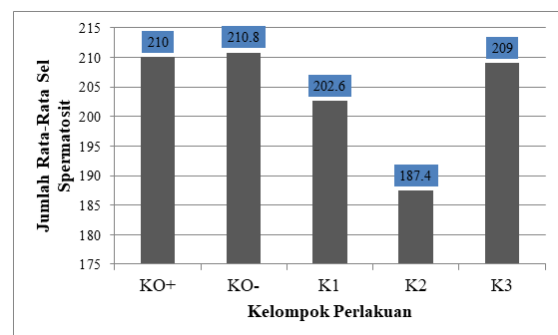
Tabel 1. Uji *One Way ANOVA* Sel Spermatogonia

ANOVA					
Jumlah Sel Spermatogonia					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1788.960	4	447.240	1.309	0.301

Ekstrak kepel juga diduga belum memberikan efek sitostatik berupa umpan balik negatif LH di hipofisis. Kedua faktor ini dapat mempengaruhi proses spermatogenik dan jumlah sel spermatogenik, terutama sel spermatogonia, sehingga ekstrak buah kepel tidak memberikan efek pada berbagai kelompok perlakuan. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Hayati *et al.*, (2004) yakni spermatogonia lebih tahan terhadap paparan yang dapat mengganggu proses spermatogenesis karena sel ini terletak pada kompartemen basal yang terlindung oleh barrier yang dibentuk oleh sel sertoli.

Sel spermatisis

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sel spermatisis kelompok kontrol positif memiliki susunan sel teratur, selnya rapat, dan padat (gambar 1.A2). Begitu pula dengan sel spermatisis pada kelompok kontrol negatif (gambar 1.B2). Sel spermatisis pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 susunan selnya agak renggang serta jumlah selnya sedikit menurun (gambar 1.C2, 1.D2, dan 1.E2). Hasil perhitungan jumlah sel spermatisis paling tinggi yakni pada KO- dengan rata-rata sel spermatisis 210,8 dan terendah ada pada K2 sebesar 187,4 (gambar 3).



Gambar 3. Rata-Rata Jumlah Sel Spermatisis

Tabel 2. Uji One Way ANOVA Sel Spermatisit

ANOVA					
Jumlah Sel Spermatisit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1923.760	4	480.940	0.326	0.857

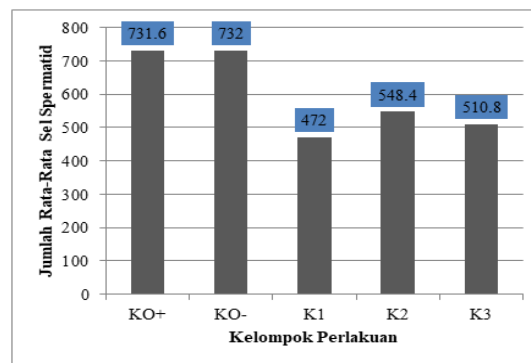
Analisis ANOVA satu arah menunjukkan bahwa meskipun terdapat kecenderungan jumlah sel yang lebih sedikit pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol, jumlah sel spermatisit pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol. Pemberian ekstrak buah kepel diduga belum bisa menyebabkan efek sitotoksik secara maksimal sehingga kandungan metabolit pada ekstrak buah kepel belum mampu meningkatkan produksi radikal bebas yang mempengaruhi produksi ATP yang diperlukan saat proses spermatogenesis, khususnya saat sel melakukan pembelahan mitosis. Alasan lain mengapa sintesis testosteron tidak berkurang oleh ekstrak kepel adalah karena ekstrak kepel tidak dapat memberikan efek sitostatik, yaitu terjadinya umpan balik negatif LH di hipofisis.

Kedua variabel ini mungkin berdampak pada spermatogenesis dan jumlah sel spermatisit, khususnya spermatisit, sehingga menyebabkan ekstrak buah kepel tidak berpengaruh pada kelompok perlakuan yang berbeda. Hal ini dibuktikan dengan tidak signifikannya penurunan jumlah sel pada tahap sebelumnya (sel spermatogonia). Menurut penelitian Hayati *et al.*, (2004), sel spermatogonia dan sel spermatisit, khususnya sel spermatisit praleptoten, lebih tahan terhadap paparan yang dapat mengganggu proses spermatogenesis karena letaknya yang berada di kompartemen basal, yang terpisah dari kompartemen adluminal, serta terlindungi oleh barrier yang dibuat oleh sel sertoli.

Sel spermatisit

Hasil pengamatan menunjukkan sel spermatisit kelompok kontrol positif memiliki susunan sel teratur, selnya rapat, dan padat (gambar 1.A3). Begitu pula dengan sel spermatisit pada kelompok kontrol negatif (gambar 1.B3). Sel spermatisit pada kelompok

perlakuan 1, 2, dan 3 susunan selnya tidak beraturan, renggang, dengan lumen tubuli seminiferus yang lebar (gambar 1.C3, 1.D3, dan 1.E3). Hasil perhitungan jumlah sel spermatisit paling tinggi yakni pada KO- dengan rata-rata sel spermatisit 732 dan terendah pada K1 sebesar 472 (gambar 4).



Gambar 4. Rata-Rata Jumlah Sel Spermatisit

Tabel 3. Uji One Way ANOVA Sel Spermatisit

ANOVA					
Jumlah Sel Spermatisit					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	308701.760	4	77175.440	9.077	0.000

Pengaruh ekstrak buah kepel terhadap jumlah sel spermatisit pada penampang melintang tubulus seminiferus dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu arah dengan tingkat signifikansi 5% dan uji LSD dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan nilai *P value* sebesar 0,000 (tabel 3).

Tabel 4. Pengaruh Ekstrak Buah Kepel Terhadap Jumlah Sel Spermatisit Mencit

Perlakuan	Mean	Notasi
KO+	731.6	A
KO-	732	A
K1	472	B
K2	548.4	B
K3	510.8	B

Keterangan: Uji One Way ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan antara angka yang diikuti huruf.

Jumlah sel spermatid pada kelompok perlakuan 1 diberikan dosis (50 mg/kg BB), 2 (100 mg/kg BB), dan 3 (150 mg/kg BB) berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol, berdasarkan hasil analisis menggunakan ANOVA satu arah (Tabel 3). Temuan analisis menunjukkan bahwa ekstrak buah kepel memiliki fungsi selama tahap terakhir produksi spermatid. Ketika spermatosit primer melakukan pembelahan meiosis pertama untuk menghasilkan spermatosit sekunder dan ketika spermatosit sekunder menjalani pembelahan meiosis kedua untuk menghasilkan spermatid, proses-proses ini kemungkinan besar akan terganggu.

Penyebab yang mungkin terjadi terhadap menurunnya jumlah sel spermatid dikarenakan zat aktif alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, saponin, triterpenoid, dan kuinon yang terkandung dalam ekstrak buah kepel yang pemberiannya disesuaikan dengan lamanya proses spermatogenesis mencit. Menurut penelitian Fatmawati *et al.*, (2016), terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan pemberian ekstrak kepal 2,6 mg/ekor dalam hal persentase motilitas sperma. Hal ini diasumsikan sebagai akibat dari kandungan alkaloid dan tanin pada ekstrak kepel yang memiliki kemampuan untuk mengganggu pembentukan ATP sehingga menyebabkan penurunan motilitas sperma yang cukup besar. Terjadinya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) diduga mengganggu keseimbangan osmotik yang dapat mengakibatkan kerusakan pada spermatozoa.

ROS juga dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada produksi ATP dan apoptosis pada sel. Menurut Celino *et al.*, (2011), spermatozoa sangat rentan terhadap tingkat ROS yang tinggi. Konsentrasi ROS yang rendah diperlukan agar sistem reproduksi dapat berfungsi dengan baik. Menurut Guerriero *et al.*, (2014), ROS sangat membantu untuk proses pertumbuhan dan pematangan sel germinal jantan yang rumit, dari spermatogonia diploid melalui meiosis menjadi spermatozoa haploid yang matang. Nurkarimah *et al.*, (2017) menyatakan bahwa peningkatan metabolisme yang berlebihan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas, yang membuat sel spermatogenik menjadi tidak stabil dan mengurangi jumlahnya.

Pertumbuhan spermatogonia dan hilangnya sel germinal selama meiosis dan spermiogenesis menentukan seberapa baik spermatogenesis terjadi. Komponen alkaloid dalam ekstrak kepel dihipotesiskan memiliki kemampuan untuk mempengaruhi sintesis ATP karena hal tersebut bersifat toksik bagi sel, terutama yang membutuhkan lebih banyak energi, seperti sel spermatosit sekunder selama pembelahan meiosis kedua menjadi sel spermatid. Hal ini diduga mengakibatkan berkurangnya energi pada sel untuk melakukan pembelahan meiosis kedua, sehingga jumlah sel spermatid yang dihasilkan menurun.

Menurut Nurlely *et al.*, (2022), zat antifertilitas saponin yang dapat menghambat spermatogenesis mungkin menjadi penyebab berkurangnya jumlah spermatozoa. Pasokan zat tersebut diperlukan untuk menghambat proses diferensiasi perubahan morfologi spermatid menjadi spermatozoa. Selain itu, bahan aktif ekstrak ini bersifat sitotoksik terhadap sel sertoli, yang mengakibatkan kerusakan sel dan degenerasi sel spermatogenik. Penurunan jumlah sel spermatid juga dimungkinkan akibat zat aktif flavonoid. Flavonoid dapat memberikan *feedback* negatif, sehingga dapat menurunkan sekresi hormon testosteron pada sel Leydig dan dapat menyebabkan gangguan pada keseimbangan hormonal dalam tubuh yang pada akhirnya mengakibatkan menurunnya jumlah sel spermatogenik (Hernawati, 2006).

Senyawa aktif ekstrak buah kepel diduga memiliki efek antifertilitas. Secara teori, obat antifertilitas dapat memiliki efek sitotoksik atau sitostatik. Apoptosis sel spermatogenik berhubungan dengan dampak sitotoksik. Sedangkan efek sitostatik melibatkan penghambatan sel spermatogenik yang secara aktif berkembang biak serta pengurangan metabolisme sel spermatogenik dengan mengganggu keseimbangan sistem hormonal (Pranadya *et al.*, 2019).

Senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, saponin, triterpenoid, dan kuinon yang ditemukan dalam ekstrak buah kepel diperkirakan memiliki efek sitotoksik dan sitostatik, yang kemungkinan besar merupakan mekanisme penurunan jumlah sel spermatid dalam penelitian ini. Selain itu, penurunan hormon FSH, LH, dan testosteron diyakini secara langsung berhubungan dengan

mekanisme penurunan jumlah sel spermatogenik.

Kesimpulan

Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak buah kepel secara signifikan menurunkan jumlah sel spermatid, tetapi tidak menurunkan jumlah sel spermatogonia atau spermatosit.

Ucapan Terima Kasih

Atas bantuan teknis dan kerjasamanya, penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala dan laboran di laboratorium biologi dan kimia Jurusan PMIPA FKIP, Universitas Mataram.

Referensi

- Angio, M. H., & Firdiana, E. Rifqi. (2021). Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thompson), buah langka khas keraton yogyakarta: sebuah koleksi kebun raya purwodadi. *Jurnal Warta Kebun Raya*. 19 (2): 7-13. ISSN: 2746 – 5225.
- Arief, Y. S. (2011). Stres dapat mengganggu proses spermatogenesis pada mencit. *Jurnal Ners*. 6 (2): 169–174. DOI: <https://doi.org/10.20473/jn.v6i2.3987>.
- Batubara, M. S., Sabri, E., & Tanjung, M. (2020). Pengaruh pemberian ekstrak daun andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* Dc.) terhadap histologis ovarium mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan*. 6(2): 196-209. DOI: 10.31289/biolink.v6i2.2409.
- Celino F. T., Yamaguchi, S., Miura, C., Ohta, T., Tozawa, Y., Iwai, T., & Miura, T. (2011). Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase. *Plos one Journal*, Vol 6 (2): e16938. DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016938>.
- Djaelani, M. A. (2010). Konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) swiss webster l. setelah pemberian serbuk rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) dengan dosis kronik. *Jurnal Buletin Anatomi Dan Fisiologi*. 18 (2): 1-10. DOI: 10.14710/baf.v18i2.2613.
- Fatmawati, D., Isradji, I., Yusuf, I., & Suparmi. (2016). Kualitas spermatozoa mencit balb/c jantan setelah pemberian ekstrak buah kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Jurnal MKB*. 48 (3): 155-159. DOI: <https://doi.org/10.15395/mkb.v48n3.845>.
- Guerrero, G., Trocchia, S., Abdel, G. F. K., & Ciarcia, G. (2014). Roles of reactive oxygen species in the spermatogenesis regulation. *Journal of Frontiers in endocrinology*, Vol 5 (56). DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00056>.
- Hafez, B., and Hafez, E. S. E. (2000). *Reproduction in farm animals 7th ed.* Philadelphia: Lea & Febiger.
- Hayati, A. B. Y., Pidada, I.B.R., Darmanto, W., & Winarni, D. (2004). Efek 2-Methoxyethanol terhadap Struktur Histologi Testis Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Berkala Penelelitian Hayati*. Vol (10): 7-12. DOI: 10.23869/371.
- Hernawati. 2006. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia* L.) sebagai Herbal Antifertilitas. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Marfu'ah, N., Kasa, I. W., & Yowani, S. C. (2014). Pengaruh steroid anabolik methandienone terhadap kuantitas spermatozoa tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Biologi*. 18 (1): 24-27. DOI: 10.24843/jbiounud.
- Nugroho, R. A. (2018). *Mengenal mencit sebagai hewan laboratorium*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- Nurkarimah, D. A., Hestianah, E. P., Wahjuni, R. S., Hariadi, M., Kuncorojakti, S., & Hermadi, H. A. (2017). Effect of Propolis on Spermatogenic Cells Number and Diameter of Seminiferous Tubules in Male Mice (*Mus musculus*). *Journal of KnE Life Sciences*, Vol 3 (6): 677-683. DOI: <https://doi.org/10.18502/cls.v3i6.1197>.
- Nurlely, Aslama, A. I., Cahaya, N., & Srikartika, V. M. (2022). Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakan Banyu (*Croton argyratus* Blume) terhadap Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa

- sebagai Antifertilitas. *Jurnal Pharmascience*. 9 (1): 29-39. DOI: <http://dx.doi.org/10.20527/jps.v9i1.11397>.
- Pranadya, N. M. E., Setyawati, I., & Yulihastuti, D. A. (2019). Jumlah sel-sel spermatogenik dan histologis testis mencit (*Mus musculus* L.) pasca pemberian ekstrak daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) dengan dosis dan interval waktu yang berbeda. *Jurnal Biologi Udayana*. 23(1): 34-41. DOI: 10.24843/JBIOUNUD.2019.v23.i01.p05.
- Putri, W. U., Dodo, & Wawangningrum, H. (2011). Struktur buah, biji, dan perkecambahan biji burahol. *Dalam Prosiding Seminar Nasional PERHORTI*. Lembang. ISBN: 978-979-25-1264-9.
- Sunardi, C., Sumiwi, S, A., & Hertati, A. (2010). Penelitian antiimplantasi ekstrak etanol daging buah burahol (*Stelechocarpus burahol* Hook F. & Thomson) pada tikus putih. *Jurnal Majalah Ilmu Kefarmasian*. 7(1): 1-8. DOI: 10.7454/psr.v7i1.3445.