

Potensi ekstrak etanol 70% akar saluang balum (*Lavanga sarmentosa blume kurz*) terhadap kualitas dan viabilitas sperma mencit

Yaumi Musfirah¹, Moch Saiful Bachri², Laela Hayu Nurani²

¹Sekolah Tinggi Farmasi Borneo Lestari

Jl. Kelapa Sawit No. 8 Bumi Berkat Banjarbaru

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H., Janturan, Yogyakarta

Submitted: 24-05-2016

Reviewed: 07-10-2016

Accepted: 03-11-2016

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa, blume kurz*) terhadap kualitas dan viabilitas sperma mencit. Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit jantan galur Swiss dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing berjumlah 5 ekor terdiri dari kelompok kontrol, kelompok ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum (EEASB) dosis 100;200;400 mg/Kg BB dan kelompok X-gra yang diberikan perlakuan satu kali sehari selama 14 hari. Pada hari ke-14, testis diambil dan ditimbang lalu diamati kualitas sperma (jumlah dan motilitas sperma) dan viabilitas sperma. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan bobot testis pada kelompok EEASB 400 mg/Kg BB ($p=0.004$) dengan jumlah sperma terbanyak (970×10^6 sel/mL). Motilitas sperma tertinggi (95%) ada pada dosis 200 mg/Kg BB dan 400 mg/Kg BB, dan viabilitas berturut-turut pada dosis 100 mg/Kg BB; 200 mg/Kg BB; 400 mg/Kg BB adalah 83,8%, 96,0% dan 87,8%. Pengamatan tersebut menunjukkan bahwa EEASB memiliki potensi meningkatkan kualitas dan viabilitas sperma mencit.

Kata Kunci: Ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum, kualitas sperma, viabilitas sperma

ABSTRACT

The present study tried to investigate potency of *L. sarmentosa* root extract on quality and viability of mice sperm. This study used 25 Swiss male mice were randomly divided into five experimental groups of 5. The ethanolic extract of *L. Sarmentosa* (100, 200, 400 mg/kg b.w/days), control and X-gra were administered orally for 14 days. The animals were evaluated for sperm quality (sperm count and sperm motility) and viability at 14 days treatment. The results showed that administration of *L. sarmentosa* roots extract significantly increasing the sperm count (970×10^6 cell/mL) at 400 mg/kg b.w/days ($P 0.0040$). The extract dose of 200 mg/Kg b.w and 400 mg/Kg b.w had the highest motility values (95%). Viability of sperm are 83.8%; 96.0%; 87.8% respectively at a dose of 100 mg/kg b.w, 200 mg/kg b.w and 400 mg/kg b.w. Present finding oral administration of *L. sarmentosa* roots extract has a potency of the quality and viability of mice sperm.

Keyword: *L. sarmentosa* roots 70% ethanolic extract, quality of sperm, viability of sperm

Penulis korespondensi:

Yaumi Musfirah

Sekolah Tinggi Farmasi Borneo Lestari

Jl. Kelapa Sawit No. 8 Bumi Berkat Banjarbaru

Email: yaumisyarif2103@yahoo.com

PENDAHULUAN

Suku Dayak Kalimantan telah mengenal akar Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa*, Blume kurz) sebagai tanaman obat tradisional yang memiliki khasiat meningkatkan stamina, gairah seksual dan kesuburan pria. Saluang Balum dikonsumsi dengan cara meminum air rebusan akar tanaman tersebut (Saparita *et al.*, 2009).

Penilaian kesuburan (fertilitas) pria dapat dilakukan dengan mengukur salah satu parameternya yaitu, kualitas sperma (Anonim, 2010). Selain untuk mengukur fertilitas, pengukuran kualitas sperma juga merupakan salah satu parameter untuk mengukur efek toksik pada organ reproduktif (Zinaman *et al.*, 2000).

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum terhadap fungsi organ penghasil sperma, maka dilakukan pengamatan terhadap bobot testis tempat produksi sperma dan kualitas sperma yang terbentuk (Yakubu *et al.*, 2007). Diharapkan dalam pemberian ekstrak tersebut tidak menyebabkan kelainan pada organ testis misalnya terjadi penyusutan bobot testis.

Berdasarkan pemeriksaan awal terhadap ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum, diketahui terdapat kandungan senyawa steroid dan flavonoid yang diketahui berkontribusi terhadap peningkatan kualitas sperma (Palupi, 2006). Bukti ilmiah tentang kemampuan Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa*, Blume kurz) dalam meningkatkan kualitas dan viabilitas sperma belum banyak dilaporkan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian secara ilmiah dengan menggunakan ekstrak etanol 70% akar tanaman Saluang Balum.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan berupa mikroskop dan optilab (Miconos, Optilab@ viewer), bilik hitung *Neubauer* dan pipet *haematocrit*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa*, Blume kurz) yang diperoleh dari hutan Kalimantan Tengah (Palangkaraya) yang diambil pada bulan April 2014, X-Gra kapsul (Phapros), larutan CMC-Na (Brataco)1%, etanol 70% (Brataco), larutan NaCl 0,9% (Sanbe), dan larutan eosin-nigrosin.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah dua puluh lima ekor mencit jantan galur *Swiss* yang berusia 2-3 bulan dengan berat 20-25 gram, pelet jenis BR-2.

Jalannya Penelitian

Mencit jantan dibagi menjadi lima kelompok yaitu, kelompok dosis ekstrak etanol akar Saluang Balum (EEASB) 100 mg/Kg BB; 200 mg/Kg BB; 400 mg/Kg BB, kelompok CMC-Na 1% dan kelompok X-Gra (61,75 mg/Kg BB, dosis konversi manusia-mencit). Perlakuan terhadap hewan uji dilakukan satu kali sehari selama 14 hari secara peroral. Mencit jantan kemudian diambil spermatozoanya pada bagian cauda epididymis menggunakan pipet *haematocrit* dan diencerkan 20X dengan NaCl 0,9% (suspensi spermatozoa) lalu diambil testisnya dan ditimbang.

Berat testis dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rasio} = \frac{\text{Berat testis (Gram)}}{\text{Berat badan hewan uji saat dikorbankan (gram)}}$$

Kualitas sperma

Motilitas

Satu tetes suspensi spermatozoa diteteskan di atas objek glass dan ditutup dengan cover glass, kemudian motilitas sperma diamati selama 1 menit di bawah mikroskop. Penilaian motilitas sperma dilakukan secara kualitatif dengan mengamati gerak sperma kemudian diberi skor menggunakan sistem scoring seperti pada Tabel I (Toelihere, 1993).

Tabel I. Persentase penilaian sperma dan skoring

Persentasi Motilitas	Skoring
0% - 25 %	1
26 % - 50 %	2
51 % - 75 %	3
75 % - 100 %	4

Persentase motilitas 0%-25% adalah sperma dengan gerakan berputar di tempat. Sperma dengan gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% yang progresif masuk dalam range 26%-50%. Persentasi motilitas 51%-75% apabila pergerakan sperma progresif dan segera membentuk gelombang. Sperma dengan motilitas 76%-100% adalah sperma dengan gerakan sangat progresif.

Jumlah sperma

Bagian *cauda epididymis* dilukai kemudian sperma yang keluar dihisap dengan menggunakan pipet hematokrit sampai tanda 0,5 lalu diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai tanda 11 yang artinya pengenceran dilakukan 20x. Pipet hematokrit digojok untuk menghomogenkan sperma, kemudian teteskan satu kali di atas bilik *neubauer*.

Satu tetes suspensi sperma ditetaskan di atas bilik hitung *Neubauer* lalu ditunggu hingga spermatozoa mati kemudian hitung jumlah kepala sperma yang masuk dalam wilayah bilik hitung (5 bilik hitung). Jumlah sperma dihitung dengan rumus :

$$\left[\frac{\text{jumlah sperma (bilik1 + bilik2 + bilik3 + bilik4 + bilik5)}}{5} \right] \times \text{faktor pengenceran} \times \text{faktor haemositometer} (10^4)$$

(Kuei-Ying *et al.*, 2008).

Viabilitas sperma

Satu tetes suspensi sperma di atas objek glass dicampur dengan dua tetes eosin-Y 1% lalu didiamkan selama 30 detik, ditetesi nigrosin 10% dan dikeringkan di udara. Setelah kering, sperma diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Jumlah spermatozoa mati (warna ungu/gelap) dan spermatozoa hidup (tidak berwarna) dihitung terhadap 100 spermatozoa (Anonim, 2010). Data berupa motilitas sperma, jumlah sperma dan viabilitas sperma dianalisis dengan menggunakan analisis parametrik atau non parametrik menggunakan SPSS 15.

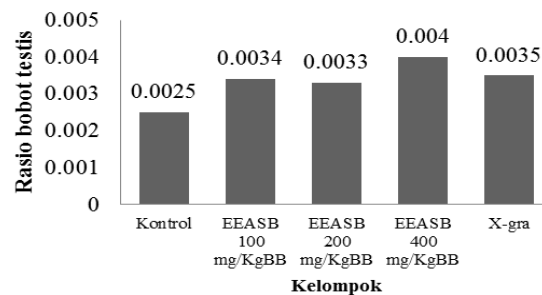
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan bobot testis

Tujuan dilakukan pengamatan ini adalah untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum tidak n sperma dan hormon reproduksi.

Dapat dilihat pada Gambar 1, bmempengaruhi testis (penyusutan bobot) karena testis adalah organ reproduksi yang memiliki fungsi untuk pembentukaahwa terjadi peningkatan bobot testis yang signifikan pada semua kelompok dosis ekstrak dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Ratio berat testis kelompok X-gra memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol ($p = 0,006$) tetapi tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok EEASB 100 mg/Kg BB dan EEASB 200 mg/Kg BB ($p = 0,537$; $p = 0,810$). Kelompok EEASB 400 mg/Kg BB memiliki ratio berat testis yang paling tinggi, secara statistik kelompok ini berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

Testis merupakan organ genital yang dapat memproduksi spermatozoa dan hormon seks. Di dalam testis terdapat *tubulus seminiferus*, jaringan ikat dan pembuluh darah. *Tubulus seminiferus* merupakan komponen penyusun testis yang terbesar. Apabila terjadi kerusakan atau atrofi sel-sel penyusun tubulus seminiferus akan terjadi penurunan berat testis (Hardiyono dan Soekanto, 2013). Testis yang mengalami kelainan akan dapat mempengaruhi proses spermatogenesis yang dapat mempengaruhi terjadinya penurunan kualitas spermatozoa (Aziz, 2013).



Gambar 1. Histogram rata-rata rasio berat testis pada berbagai perlakuan

Berdasarkan hasil pengamatan ini dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum mampu meningkatkan bobot testis, yang kemungkinan menunjukkan jumlah sperma yang terbentuk semakin banyak. Menurut Yakubu *et al* (2007) Adanya peningkatan rasio berat organ diindikasikan adanya peningkatan aktivitas sekretori. Berat testis yang berbeda-beda sebagian besar dipengaruhi oleh massa sel-sel spermatogenik yang terbentuk (Ola-Mudathir *et al.*, 2008). Pada pengamatan diketahui bahwa EEASB 400 mg/Kg BB memiliki ratio berat testis yang paling tinggi. Kemampuan pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum pada dosis 100 mg/Kg BB dan dosis 200 mg/Kg BB untuk meningkatkan berat testis setara dengan kemampuan kelompok X-gra, sedangkan dosis ekstrak 400 mg/Kg BB memiliki kemampuan meningkatkan berat testis lebih besar dibandingkan dengan kelompok X-gra. Dengan meningkatnya berat testis berarti massa sel yang terkandung semakin banyak. Namun perlu diketahui bahwa testis yang berfungsi normal tidak harus mengalami kenaikan beratnya karena yang lebih penting adalah apakah dari komponen-komponen penyusun testis tersebut, komponen yang berperan langsung terhadap spermatogenesis (sel-sel spermatogeniknya) dapat terbentuk dan berfungsi dengan baik (Hardiyono dan Soekanto, 2013).

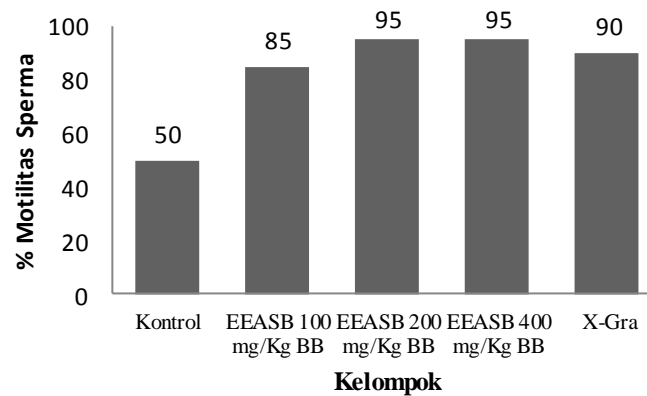
Pemeriksaan Kualitas Sperma

Motilitas sperma

Motilitas adalah gerakan progresif yang ditunjukkan oleh spermatozoa. Tanpa adanya motilitas, maka sperma tidak akan cepat bertemu dengan sel telur pada proses pembuahan. Gerakan motilitas sperma akan mempengaruhi kemandulan pria, jika gerakan sperma lamban maka pembuahan akan sulit berlangsung (Guyton dan Hall, 2007). Motilitas sperma yang baik adalah yang gerakannya lurus kedepan, lincah, cepat, dengan gerakan ekor berirama. Faktor yang mempengaruhi motilitas sperma adalah nutrisi, abnormalitas sperma dan usia sperma (muda, matang atau tua). Semakin banyak sperma yang abnormal maka motilitas sperma akan semakin rendah (Bachri, 2004).

Dari Gambar 2 terlihat bahwa terjadi peningkatan motilitas sperma pada pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum. Kelompok X-gra memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol tetapi tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok dosis pemberian ekstrak. Kelompok kontrol memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua kelompok dosis ekstrak. Motilitas tertinggi ada pada kelompok EEASB 200 mg/Kg BB dan EEASB 400 mg/Kg BB. Secara statistik, motilitas sperma akibat pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum memiliki nilai yang sama dengan kelompok X-Gra. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak mampu meningkatkan kualitas sperma berupa motilitas sperma. Berdasarkan penelitian terhadap tanaman yang berpotensi sebagai afrodisiaka, adanya kandungan flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan mampu mempertahankan motilitas sperma (Purdy *et al.*, 2004).

Motilitas sperma merupakan faktor yang paling penting dan sangat berpengaruh dibandingkan dengan faktor lainnya, sebab progresifitas gerakan spermatozoa akan sangat menentukan proses fertilisasi spermatozoa dengan ovum (sel telur) (Azis, 2013).

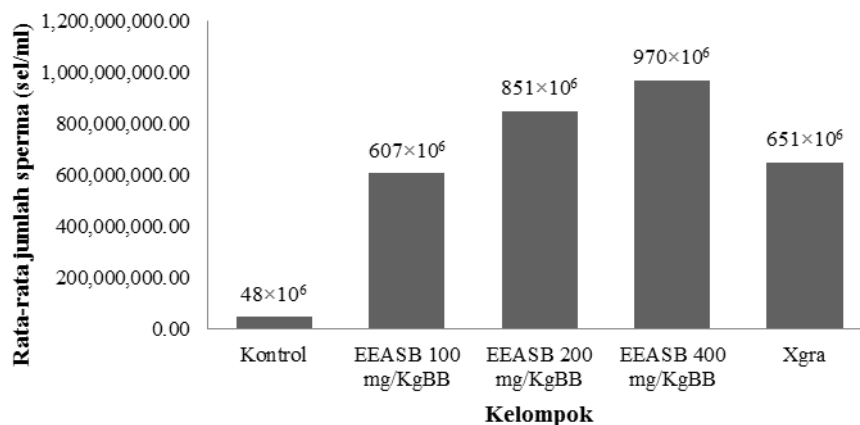


Gambar 2 Histogram persentasi (%) motilitas sperma pada berbagai

Berdasarkan kriteria WHO (Anonim, 2010) motilitas sperma yang normal adalah sperma dengan persentasi motilitas 28% dan fertil jika persentasinya lebih dari 30%. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa motilitas sperma pada kelompok EEASB 100 mg/Kg BB; EEASB 200 mg/Kg BB; EEASB 400 mg/Kg BB dan kelompok X-Gra berturut-turut adalah 85%;95%;95%;90% , maka pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum dapat meningkatkan motilitas sperma yang masuk dalam kriteria sperma yang motil dan fertil berdasarkan kriteria WHO.

Jumlah Sperma

Salah satu faktor yang mempengaruhi jumlah sperma adalah nutrisi (Guyton, 2012). Jumlah sperma normal menurut WHO (2010) adalah sebanyak 40 juta atau lebih.



Gambar 3. Histogram rata-rata jumlah sperma pada berbagai perlakuan

Gambar 3 menunjukkan hasil pengamatan terhadap jumlah sperma. Berdasarkan pengamatan terhadap bobot testis dinyatakan ada keterkaitan antara bobot testis dengan jumlah sperma. Secara statistik, kelompok X-gra memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,00$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan kelompok EEASB 100 mg/Kg BB ($P > 0,499$), artinya kelompok X-gra memiliki jumlah sperma yang sama dengan kelompok EEASB 100 mg/Kg BB. Jumlah sperma tertinggi ada pada kelompok EEASB 400 mg/Kg BB yang secara statistik tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan EEASB 200 mg/Kg BB ($P > 0,086$). Berdasarkan pengamatan terhadap berat testis, kelompok EEASB 400 mg/Kg BB adalah kelompok dengan testis yang paling berat dan terbukti memiliki jumlah sperma yang paling banyak.

Pengamatan ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum mampu meningkatkan jumlah sperma. Peningkatan jumlah sperma pada kelompok EEASB 100 mg/Kg BB sudah setara dengan jumlah sperma yang dihasilkan oleh kelompok X-gra, sedangkan EEASB 200 mg/Kg BB

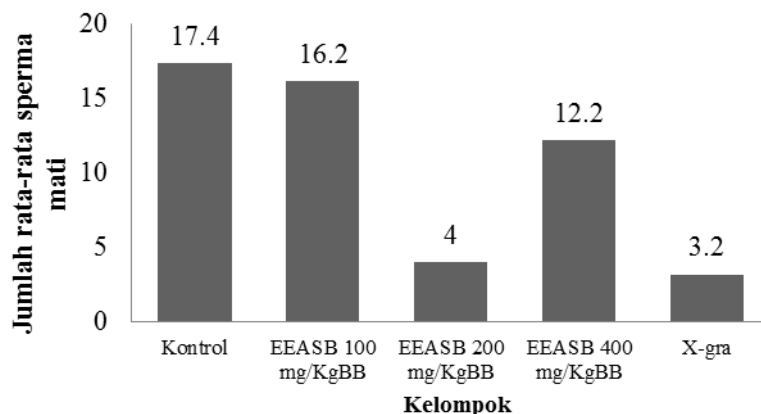
dan EEASB 400 mg/Kg BB menghasilkan sperma lebih dari kelompok X-gra. Pada tanaman Ginseng Jawa, kandungan steroid dapat meningkatkan kadar testosteron sehingga dapat meningkatkan proses spermatogenesis. Peningkatan proses spermatogenesis akan meningkatkan jumlah sperma (Rahmi, 2011). Adanya peningkatan massa sel tersebut maka akan meningkatkan berat testis pula.

Pemeriksaan Viabilitas Sperma

Viabilitas sperma menunjukkan kemampuan spermatozoa untuk hidup. Pengamatan terhadap viabilitas dilakukan dibawah mikroskop dengan bantuan pewarnaan eosin-nigrosin. Sperma yang mati akan menyerap warna karena permeabilitas membran meningkat sehingga akan berwarna ungu, sedangkan sperma yang hidup tidak berwarna di bawah mikroskop. Jumlah sperma yang mati dihitung terhadap 100 sperma (Anonim, 2010).



Gambar 4. Perbedaan antara sperma mati (a) yang seluruh bagiannya menyerap warna ungu dan sperma hidup (b) tidak menyerap warna ungu. Diamati di bawah mikroskop dengan *pembesaran 100x*



Gambar 5. Histogram jumlah sperma yang mati pada berbagai perlakuan

Dari Gambar 5 kematian sperma terendah ada pada kelompok EEASB adalah pada kelompok X-gra dan kelompok dosis 200 mg/Kg. Jumlah kematian sperma tertinggi ada pada kelompok kontrol, sedangkan yang terendah pada kelompok X-gra. Secara statistik kelompok X-gra berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Kelompok X-gra tidak berbeda signifikan dengan kelompok EEASB 200 mg/Kg BB ($p=0,142$) namun berbeda signifikan dengan kelompok EEASB 100 mg/Kg BB dan EEASB 400 mg/Kg BB. Jumlah kematian pada kelompok EEASB 100 mg/Kg BB tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol, jadi pada pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum dosis 100 mg/Kg BB tidak memiliki kemampuan meningkatkan pertahanan hidup spermatozoa. Kemampuan meningkatkan pertahanan hidup tidak berbanding lurus dengan kenaikan dosis ekstrak. Dosis ekstrak 200 mg/Kg BB memiliki kemampuan mempertahankan hidup spermatozoa paling besar dibandingkan dengan dosis 100

mg/Kg BB dan 400 mg/Kg BB. Dapat ditarik kesimpulan dari pengamatan jumlah sperma dan viabilitas sperma bahwa semakin banyak jumlah sperma yang diproduksi belum dapat dipastikan kemampuan sperma tersebut untuk bertahan hidup juga besar.

Dari hasil pengamatan di atas dapat diketahui bahwa pemberian EEASB dapat meningkatkan kualitas sperma meliputi jumlah sperma, motilitas sperma dan viabilitas sperma. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Palupi (2006), adanya kandungan flavonoid sebagai antioksidan di dalam tomat mampu meningkatkan viabilitas sperma mencit yang terpapar radikal sehingga dapat mencegah infertilitas pria. Adanya kandungan senyawa steroid diduga mampu meningkatkan spermatozoa hidup dan meningkatkan kadar testosteron (Rahmi *et al.*, 2011). Jumlah sperma merupakan alasan dasar bagi kesuburan pria. Jumlah sperma yang rendah sering dikaitkan bahwa kualitas sperma tersebut menurun (Sharpe, 2012). Faktor berupa viabilitas dan motilitas sperma termasuk bagian penentu status fertilitas (kesuburan pria) (Aziz, 2010). Berdasarkan parameter dari WHO (Anonim, 2010) kriteria morfologi ketahanan sperma normal adalah lebih dari 3% dan sperma yang termasuk klasifikasi fertil adalah yang persentasinya sperma normal lebih dari 15% maka semua kelompok perlakuan termasuk dalam sperma yang normal dan fertil. Dengan meningkatnya parameter kualitas sperma maka akan meningkatkan kesuburan atau fertilitas pria seperti yang tercantum pada Tabel II.

Tabel II. Klasifikasi fertilitas pria dinilai dari parameter sperma

Semen Parameter	Klasifikasi Potensi Fertilitas		
	Infertil	Subfertil	Fertil
Konsentrasi ($10^6/ml$)	<2,0	2,0-9,9	$\geq 10,0$
Motility (% progressive)	<10	10-29	≥ 30
Morfologipertahanan	<5	5-14	≥ 15
Semen Volume (ml)	<1,0	>6,0	1,0-6,0

Fertil : Optimal untuk kehamilan; Subfertil : Kemungkinan hamil menurun; Infertil: Kemungkinan hamil kecil

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol 70% akar Saluang Balum dapat meningkatkan kualitas sperma yang diukur dari jumlah dan motilitas sperma, serta dapat meningkatkan viabilitas sperma.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2010, *WHO Laboratory Manual For The Examination And Processing Of Human Semen, 5th edition*, WHO Press, Switzerland.
- Azis, M.L., 2013, Efek ekstrak etil asetat buah oyong (*Luffa acutangula roxb*) terhadap kualitas spermatozoa tikus jantan galur *Wistar, skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Bachri, M.S., 2004, Pengaruh pemberian fraksi etil asetat fraksi tidak larut etil asetat akar senggani (*Melastoma affine* D.Don) terhadap spermatogenesis tikus putih, *Tesis*, Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Guyton, C., 1999, *Fisiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Setiawan Irawati, EGC.
- Guyton, C. dan Hall, 2007, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*, Buku kedokteran EGC, Jakarta.
- Guyton, C., 2012, *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit Edisi 3*, Edisi Revisi, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hardiyono dan Soekanto, A., 2013, Pengaruh pemberian *royal jelly* peroral terhadap berat testis dan proporsi berat testis terhadap berat badan tikus Putih (*Rattus norvegicus strain wistar*) jantan, *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.
- Ola-Mudathir, K. F., Suru, M. S., Fafunsu, M. A., Obioha, U. E., Faremi, T., Y., 2008, Protective roles of onion and garlic extracts on cadmium-induced changes in sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3604-3611
- Palupi, H. D., 2006, Pengaruh pemberian jus buah tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill) terhadap viabilitas spermatozoa mencit *Balb/c* jantan yang diberi paparan asap rokok, *Artikel karta tulis ilmiah*, Universitas Diponegoro, Semarang.

- Purdy, P. H., Ericsson, S. A., Dodson, R. E., Sternes, K. L., Garner, D. L., 2004, Effects of the flavonoids, silibinin and catechin, on the motility of extended cooled caprine sperm, *Small Ruminant Research*, 55, 239–243.
- Rahmi, Eriani, K., Widyasari, Potency of java gingseng (*Talinum paniculatum*, Gaertn.) root extract on quality and viability of mice sperm, *Jurnal natural*, 11.
- Saparita, R., Purwanto, Y., Munawaroh, E., 2009, Indige Nous Knowledge masyarakat suku dayak di Kabupaten Malinau Kalimantan Timur, *Lokakarya Grassroot Innovaton (GRI)*, LIPI.
- Sharpe, M. R., 2012, Sperm counts and fertility in men: a rocky road ahead, *Science & Society series on Sex and Science*, European molecular biology organization.
- Toelihere, 1993, *Inseminasi Buatan Pada Ternak*, Penerbit Angkasa, Bandung.
- Yakubu, M. T., Oladiji, A. T., Akanji, M. A., 2007, Evaluation of biochemical indices of male rat reproductive function and testicular histology in wistar rats following chronic administration of aqueous extract of *Fadogia Agrestis* (Schweinf. Ex Heirn) stem, *African Journal of Biochemistry Research*, 156-163.
- Zinaman, M. J., Charles, C. B., Sherry, G. S, Eric, D. C., 2000, Semen quality and human fertility: a prospective study with healthy couples, *Journal of Andrology*, 21, 145-143.