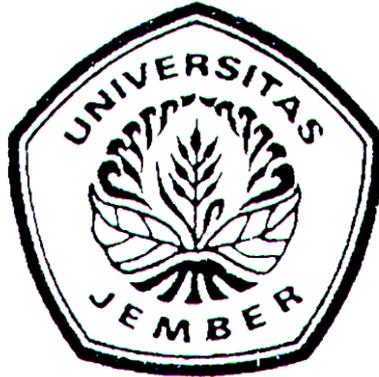


ABSTRAK DAN EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN HIBAH BERSAING



**PENGEMBANGAN FORMULA JAMU ANTIFERTILITAS PRIA dari
KOMBINASI FRAKSI AKTIF BIJI SAGA (*Abrus precatorius*) dan BIJI
PEPAYA (*Carica papaya*)**

Drs. WIRATMO, M.Sc., Apt NIDN 0027105901

SITI MUSLICHAH, S.Si., M.Sc., Apt NIDN 0013057304

**Didanai DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2013 nomor: DIPA-
023.04.2.414995/2014 tanggal 05 Desember 2013 Revisi ke-02 tanggal 24 Maret 2014**

UNIVERSITAS JEMBER

NOVEMBER 2014

**FORMULA JAMU ANTIFERTILITAS PRIA DARI KOMBINASI FRAKSI AKTIF
BIJI SAGA (*Abrus precatorius* L.) dan BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP
TIKUS JANTAN GALUR WISTAR**

Wiratmo*, Siti Muslichah*,

Sumber Dana : BOPTN/DIPA UNEJ Tahun Anggaran 2014

*Fakultas Farmasi Universitas Jember

Abstrak

Rendahnya partisipasi pria dalam program Keluarga Berencana disebabkan karena terbatasnya pilihan kontrasepsi untuk pria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kombinasi dari fraksi aktif biji saga yaitu fraksi metanol serta fraksi aktif biji pepaya yaitu fraksi kloroform. Fraksi-fraksi tersebut dikombinasikan dengan beberapa variasi dosis yaitu 75:100, 50:100; 75:50; dan 50:50 mg/kg bb yang diberikan secara oral selama 28 hari. Sebanyak 20 ekor tikus jantan dengan berat badan 200-300 g berumur 2-2,5 bulan yang di kelompokkan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan jumlah, motilitas, viabilitas serta peningkatan abnormalitas spermatozoa yang signifikan dibandingkan kontrol, namun tidak ada perbedaan antar kelompok perlakuan. Pada pemeriksaan histopatologi hati dan ginjal terdapat kerusakan pada jaringan dengan tingkat keparahan mulai 25-75 % mengikuti peningkatan dosis kombinasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ideal fraksi aktif biji saga dan biji pepaya yang memberikan efek antifertilitas optimal adalah 50:50 mg/kg bb yang juga memberikan efek kerusakan pada hati dan ginjal paling minimal yaitu 25%.

Kata kunci: biji saga, biji pepaya, motilitas sperma, jumlah sperma, antifertilitas, efek kombinasi, histopatologi

FORMULA JAMU ANTIFERTILITAS PRIA DARI KOMBINASI FRAKSI AKTIF BIJI SAGA (*Abrus precatorius* L.) dan BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP TIKUS JANTAN GALUR WISTAR

Wiratmo*, Siti Muslichah*

Sumber Dana : BOPTN/DIPA UNEJ Tahun Anggaran 2014

Kontak Email : siti.m3@gmail.com

*Fakultas Farmasi Universitas Jember

Latar Belakang

Meningkatnya populasi manusia di seluruh dunia utamanya di negara berkembang dan terbelakang akan mempengaruhi sistem kehidupan di bumi. Pengaturan kesuburan melalui kontrasepsi dan manajemen infertilitas merupakan komponen penting kesehatan reproduksi (Allag and Rangari, 2002). Program Keluarga Berencana (KB) telah dicanangkan oleh pemerintah sebagai program nasional. Salah satu usaha yang telah dilakukan dalam program KB adalah penyediaan sarana kontrasepsi.

Sarana kontrasepsi lebih banyak ditujukan pada kaum wanita, sedangkan pada pria pilihannya masih sangat terbatas. Metode kontrasepsi pria yang ada saat ini antara lain adalah pantang berkala, kondom, senggama terputus dan vasektomi (Sumaryati, 2004). Hal ini merupakan salah satu alasan rendahnya partisipasi pria dalam program KB (Wilopo, 2006). Salah satu usaha untuk meningkatkan peran pria dalam program KB adalah dengan jalan mencari metode kontrasepsi pria yang dapat diterima dan memenuhi syarat kontrasepsi yang ideal, yaitu bersifat reversibel, efektif dan tidak menimbulkan efek samping (Prajogo *et al.*, 2003; Wilopo, 2006).

Biji saga (*Abrus precatorius*) dan biji pepaya (*Carica papaya*) merupakan bahan alam yang berpotensi sebagai obat kontrasepsi pria. Dari penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa fraksi yang paling aktif dari biji saga adalah fraksi metanol, sedangkan fraksi yang paling aktif dari biji pepaya adalah fraksi kloroform. Parameter yang digunakan adalah penurunan jumlah, motilitas, viabilitas sperma serta peningkatan abnormalitas spermatozoa (Wiratmo dan Muslichah, S., 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mengkombinasikan fraksi aktif dari biji saga dan biji pepaya untuk mendapatkan sinergi efek antifertilitas serta menurunkan efek samping karena adanya penurunan dosis.

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan aktifitas kombinasi fraksi aktif dari fraksi biji pepaya dan biji saga dengan beberapa variasi dosis terhadap kualitas dan kuantitas spermatozoa
2. Menentukan kadar testosteron dan bobot organ reproduksi
3. Melihat pengaruh kombinasi fraksi aktif terhadap proses spermatogenesis.
4. Menentukan toksisitas pada organ hati dan ginjal

Metodologi Penelitian

Fraksi metanol biji saga dan fraksi kloroform biji pepaya dikombinasikan dengan berbagai perbandingan dosis yaitu 75:100; 50:100; 75:50; dan 50:50, diberikan pada 5 kelompok tikus masing masing kelompok terdapat 5 ekor tikus. Pemberian dilakukan secara oral sekali sehari selama 28 hari. Pada hari ke-21 dilakukan pengujian *sexual behaviour* tikus percobaan, lalu pada hari ke-29, tikus dianestesi dengan kloroform untuk selanjutnya dibedah, diambil organ reproduksi yaitu testis, epididimis, prostat, dan vesika seminalis,serta hati dan ginjal untuk pemeriksaan histopatologi, dan diambil darahnya melalui jantung untuk pemeriksaan kadar testosteron dan dilakukan pengujian parameter antifertilitas yang meliputi :

a. Penimbangan bobot testis, epididimis, vesika seminalis dan prostat tikus galur Wistar

Dilakukan pembedahan pada tikus dengan membuka isi perut sehingga nampak prostat dan vesika seminalis. Testis dibuka dengan cara membuka skrotum dan menariknya dari lapisan pembungkusnya. Testis, epididimis, vesika seminalis dan prostat dipisahkan dari jaringan lainnya lalu ditimbang dan dihitung persentase beratnya terhadap berat badan tikus. Pada kauda epididimis yang telah ditimbang selanjutnya disayat dan dihisap dengan pipet hematokrit untuk pengambilan dan pemeriksaan spermatozoa.

b. Prosedur perhitungan jumlah spermatozoa tikus galur Wistar

Jumlah spermatozoa dihitung dengan cara menghisap spermatozoa dari kauda epididimis memakai pipet hematokrit sampai tanda 0,5 lalu diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis sampai tanda 101 (pengenceran 200 kali), dan pipet dikocok. Beberapa tetes spermatozoa dari pipet hematokrit ditetaskan terlebih dahulu pada tisu, kemudian ditetaskan pada hemositometer yang sudah ditutup dengan kaca penutup, kemudian dilakukan

pengamatan dan perhitungan spermatozoa dengan menggunakan mikroskop (Kuel-ying, *et al.*, 2008). Jumlah spermatozoa dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah spermatozoa terhitung} \times 200 \times 10^4 = \text{juta/ml}$$

c. Pengamatan abnormalitas spermatozoa tikus galur Wistar

Melihat abnormalitas spermatozoa dengan cara 50 mikroliter cairan spermatozoa diteteskan pada kaca obyek dan ditambahkan 50 mikroliter larutan eosin-negrosin lalu ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengetahui apakah ada kelainan pada bentuk kepala dan ekor terhadap terhadap 100 sperma dengan 6 lapang pandang yang secara berurutan digeser dari kiri ke kanan, lalu dihitung persentase jumlah spermatozoa yang abnormal.

d. Pengamatan motilitas spermatozoa tikus galur Wistar

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan segera ketika spermatozoa diambil dari kauda epididimis, karena kalau terlalu lama dikhawatirkan spermatozoa akan mati. Motilitas spermatozoa diamati dan dihitung terhadap 100 sperma dengan 6 lapang pandang yang secara berurutan digeser dari kiri ke kanan lalu dihitung persentase spermatozoa yang motil. Kategori spermatozoa yang motil adalah jika spermatozoa bergerak cepat dan lurus ke depan (WHO, 2010).

e. Pengukuran kadar testosterone dengan metode ELISA

Pada akhir perlakuan darah tikus diambil sebanyak 2 ml dengan mikrohematokrit dari jantung, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel darah tersebut dibiarkan pada suhu kamar selama 1 jam. Tabung reaksi tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serumnya. Serum diambil dan ditampung dalam tabung 1,5 ml untuk pengukuran kadar testosteron. Pengukuran kadar testosteron menggunakan metode ELISA dengan prosedur mengikuti instruksi manual dari pembuat kit testosteron .

f. Pemeriksaan histologi organ testis tikus galur Wistar

Testis diambil untuk pemeriksaan histopatologi. Testis tersebut difiksasi dalam larutan Bouin Testis tersebut kemudian diproses sesuai prosedur histopatologi yaitu dibuat dalam bahan blok, lalu dipotong transversal di tengah dengan mikrotom setebal 5 mikron. Preparat diletakkan di atas *object glass*, diwarnai dengan *Haematoxilin Eosin* (HE), ditutup dengan *deck glass* kemudian ditutup dengan kanada balsem pada tepinya. Sediaan preparat irisan testis ini siap untuk dilihat dengan mikroskop (Juniarto, 2004).

1) **Prosedur pembacaan preparat testis**

Pada preparat irisan testis dilakukan pengukuran diameter tubulus seminiferus, tebal spermatosit - spermatid dan *score* spermatozoa dengan cara :

Terlebih dahulu dilakukan kalibrasi mikrometer dengan cara mikrometer okuler dipasang pada lensa okuler mikroskop lalu mikrometer objektif dipasang di meja mikroskop lalu diamati. Angka 0 dari mikrometer objektif diimpitkan pada angka 0 pada mikrometer okuler. Dari garis yang berimpitan dihitung dan dilihat ada berapa strip dari angka okuler mikrometer. Dari hasil pengamatan dengan pembesaran 10 x 10, garis yang terlihat berimpitan adalah 3 dari mikrometer objektif berimpitan dengan 16 strip dari mikrometer okuler berarti angka kalibrasinya untuk 1 skala okuler adalah : $10 \times 13/60 = 0,1875$. Setiap angka hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus dan tebal spermatosit-spermatid pada okuler mikrometer okuler dikalikan dengan 0,1875. Hasil perkalian merupakan diameter tubulus seminiferus dan tebal spermatosit yang sebenarnya.

Pengamatan dan pengukuran dilakukan dengan dibuat dua titik secara acak dalam preparat testis dengan menggunakan spidol transparan lalu diamati titik yang telah dibuat tersebut dalam mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Diukur terhadap 20 tubulus seminiferus yang terletak paling dekat dengan titik yang telah dibuat. Pengamatan *score* spermatozoa pada lumen tubulus mengikuti kriteria Johnsen.

g. Pemeriksaan histopatologi hati dan ginjal

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan melalui beberapa tahap yakni, pemilihan jaringan yang perlu diamati, fiksasi jaringan, pemrosesan jaringan (dehidrasi, *clearing*, infiltrasi dan embedding dengan parafin), pemotongan jaringan dan pewarnaan HE (Zulham, 2009). Untuk pengamatan histopatologi hati diamati kerusakan hepatosit mencakup degenerasi hidrofobik dan degenerasi lemak, hepatosit inti piknotik, karyoreksis dan karyolisis, serta sinusitis dan vena sentralis, sementara pengamatan histopatologi ginjal meliputi kerusakan tubulus dengan adanya penyempitan lumen dan nekrosis sel epitel tubulus kontortus proksimal.

Derajat kerusakan hati dikuantitatifkan menurut metode Budiono dan Herwiyanti (2000):

0 = tidak terjadi kerusakan jaringan hepar

+ = bila ditemukan salah satu kriteria, degenerasi lemak atau halo disekitar inti sel atau vena sentralis dan sinusoid tidak utuh

++ = bila ditemukan adanya halo disekitar inti sel hepar dan degenerasi lemak

+++ = bila ditemukan adanya halo disekitar inti sel, degenerasi lemak, serta vena sentralis dan sinusoid tidak utuh.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa fraksi kloroform memberikan efek antifertilitas yang paling tinggi dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi metanol, sementara fraksi metanol biji saga memberikan efek paling baik dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi kloroform (Muslichah dan Wiratmo, 2014).

Beberapa parameter yang mempengaruhi fertilitas diantaranya adalah bobot organ reproduksi, abnormalitas sperma, jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa. Pada penelitian ini pemberian kombinasi fraksi biji saga dan biji pepaya tidak memberikan perbedaan yang signifikan pada bobot organ reproduksi (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata Bobot Organ Reproduksi tikus setelah pemberian kombinasi fraksi kloroform biji pepaya dan fraksi metanol biji saga

Kelompok	N	Testis (g)	Epididimis (g)	Prostat (g)	Vesika seminalis (g)
Kontrol	5	1,96±0,73	0,68±0,15	0,24±0,09	0,77±0,55
I (75:100)	5	2,27±0,61	0,70±0,23	0,30±0,16	0,65±0,32
II (50:100)	5	2,83±0,12	0,86±0,03	0,39±0,05	1,22±0,14
III (75:50)	5	2,24±0,57	1,47±0,25	0,33±0,15	0,98±0,65
IV (50:50)	5	2,07±0,46	1,36±0,25	0,23±0,11	0,70±0,51

Hasil perhitungan rata-rata jumlah dan motilitas spermatozoa yang diambil dari kauda epididimis tikus dengan perlakuan kontrol negatif dan berbagai kombinasi fraksi biji saga dan biji pepaya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan mempunyai jumlah spermatozoa yang lebih sedikit dibanding kontrol, demikian juga terdapat penurunan motilitas sperma dibandingkan kontrol (Tabel 2).

Tabel 2. Jumlah rata-rata dan motilitas spermatozoa tikus

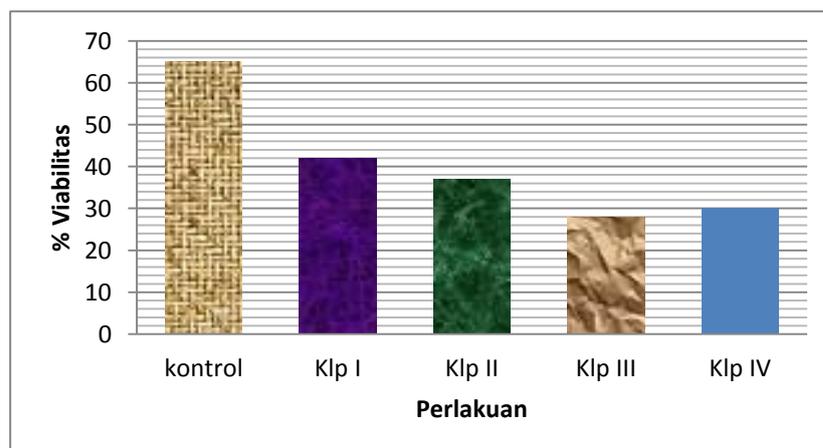
Kelompok	N	Jumlah (juta/mL)	Persentase motilitas (%)
Kontrol	5	52,62±4,92 ^a	72,68±2,72 ^a
I (75:100)	5	39,06±4,55 ^b	17,72±1,37 ^b
II (50:100)	5	43,68±2,56 ^{cb}	25,86±2,80 ^c
III (75:50)	5	29,72±2,35 ^d	21,82±1,96 ^d
IV (50:50)	5	23,18±2,98 ^e	14,45±3,38 ^{eb}

Notasi huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

Motilitas sperma menentukan kemampuan sperma bergerak masuk ke dalam membran serviks dan menembus sel telur. Perhitungan motilitas spermatozoa pada penelitian ini dengan menghitung persentase spermatozoa kategori progresif yaitu sperma yang gerakannya lurus kedepan dan cepat dalam 100 spermatozoa.

Viabilitas dan Morfologi Spermatozoa

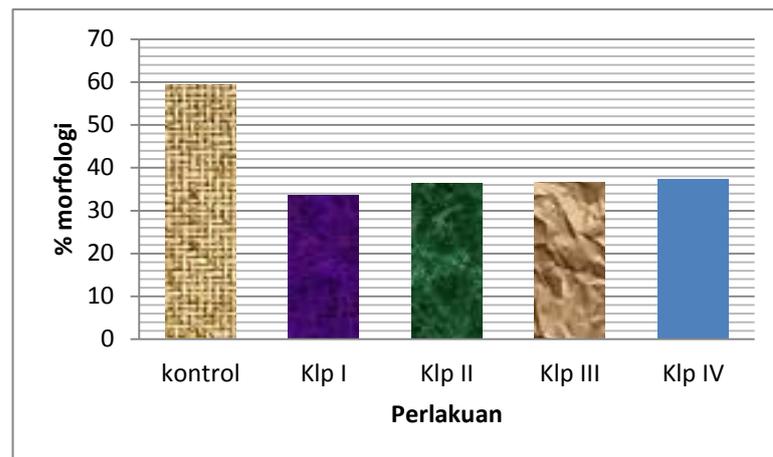
Viabilitas merupakan salah satu parameter yang penting untuk menentukan kualitas spermatozoa. Viabilitas menunjukkan daya tahan hidup spermatozoa ketika telah dikeluarkan dari saluran reproduksi hewan jantan. Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan metode pewarnaan. Pada penelitian ini pewarna yang digunakan adalah eosin 1% dengan warna merah. Viabilitas spermatozoa ditetapkan dengan menghitung jumlah spermatozoa hidup (tidak terwarnai eosin) dalam 100 spermatozoa.



Gambar 1. Grafik rata-rata viabilitas spermatozoa (%) tikus setelah perlakuan selama 28 hari

Rata-rata persen viabilitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan menunjukkan adanya penurunan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi CMC-Na 1%. Sementara antara kelompok perlakuan tidak ada perbedaan yang signifikan.

Morfologi spermatozoa merupakan salah satu parameter yang penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena dapat menentukan kemampuan spermatozoa dalam bergerak dan dalam membuahi sel telur. Persentase morfologi spermatozoa didapat dengan menghitung jumlah spermatozoa normal dalam 100 spermatozoa.



Gambar 2. Grafik rata-rata morfologi spermatozoa (%) tikus setelah perlakuan selama 28 hari

Gambar 2 menunjukkan rata-rata morfologi spermatozoa (%) pada tiap perlakuan. Data tersebut menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memiliki kemampuan dalam menurunkan jumlah spermatozoa normal dengan membandingkan data masing-masing perlakuan dengan data pada kelompok kontrol negatif yang diberi perlakuan CMC-Na 1%. Namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan.

Histopatologi pada hati dan ginjal

Data yang diperoleh dari pengamatan preparat struktur mikroanatomi hepar dianalisis secara deskriptif kemudian diklasifikasikan menurut Metode Mitchel (Guftron, 2001). Hasil dari pembacaan kerusakan jaringan hati disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan struktur mikroanatomi hepar tikus setelah pemberian kombinasi fraksi biji saga dan biji pepaya selama 28 hari.

Perlakuan	Degenerasi hidropobik	Degenerasi lemak	Piknotik	Karioreksis	Kariolisis	Konstriksi	Dilatasi sinusoid
Kontrol	+	+	-	+	-	-	-
I	+++	+++	+++	++	++	Konstriksi	Dilatasi
II	++	++	+	++	++	Konstriksi	Dilatasi
III	++	++	+	+	+	Konstriksi	Dilatasi
IV	+	++	+	++	+	Konstriksi	Dilatasi

Keterangan: - : tidak ada kerusakan/normal, + : Kerusakan hepatosit mencapai 25% dalam satu bidang pandang, ++ : Kerusakan hepatosit mencapai 50% dalam satu bidang pandang, +++: Kerusakan hepatosit mencapai 75% dalam satu bidang pandang.

Sementara itu kerusakan jaringan ginjal disajikan dalam bentuk skor pada tabel 4 yang menunjukkan kerusakan paling besar terjadi pada kombinasi dosis 75:100.

Tabel 4. Skor rata-rata kerusakan jaringan ginjal secara mikroskopik setelah pemberian kombinasi fraksi biji saga dan biji pepaya selama 28 hari

No	Kelompok	N	Skor rata-rata
1	Kontrol	5	1,0±0,0 ^a
2	I	5	3,2±1,1 ^b
3	II	5	1,0±0,0 ^a
4	III	5	1,4±0,5 ^a
5	IV	5	2,4±0,5 ^b

Keterangan: 1 = lesi kurang dari 25% total lapangan pandang, 2 = lesi 25-<50% total lapangan pandang, 3 = lesi 50-<75% total lapangan pandang, 4 = lesi lebih dari sama dengan 75% total lapangan pandang

Pembahasan

Biji pepaya mengandung protein, beberapa enzim seperti papain, karpasemin, myrosin, alkaloid caricacin, *oleanolic glycoside* (sinigrin), carpain, β -sitosterol, dan glukosinolat (Milind and Gurditta, 2011). Hasil penelitian Udoh *et al.* (2005) menyebutkan bahwa alkaloid dalam biji pepaya dapat menyebabkan degenerasi sel sperma serta menurunkan jumlah sel sperma. Biji saga mengandung golongan senyawa saponin, alkaloid abrin, flavonoid dan tanin. Dalam penelitian, tanin dapat menyebabkan sperma menggumpal, alkaloid dapat

menekan sekresi hormon reproduksi yaitu hormon testosteron sehingga proses spermatogenesis terganggu (Winarno dan Dian, 1997).

Kandungan kimia fraksi kloroform biji saga maupun biji pepaya mempunyai efek antifertiilitas, sehingga kombinasi dari kedua fraksi aktif dari tanaman ini diharapkan akan meningkatkan efeknya. Dari penelitian ini digunakan variasi dosis kombinasi 75:100, 50:100, 75:50, dan 50:50 yang menunjukkan aktivitas antifertiilitas dengan perubahan parameter kuantitas maupun kualitas yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol. Jika dilihat antar kelompok perlakuan tidak ada perbedaan bermakna dengan adanya variasi dosis tersebut, sehingga bisa disimpulkan kombinasi dosis paling optimal yang disarankan adalah perbandingan 50:50 mg/kg bb, ini terkait dengan resiko efek samping yang mungkin bisa ditimbulkan jika dengan dosis yang lebih rendah sudah bisa menimbulkan efek antifertiilitas yang sama dengan dosis di atasnya maka lebih baik digunakan dosis yang paling rendah tersebut. Seperti diketahui, abrin dalam biji saga bersifat toksik. Perbandingan dosis 50:50 terbukti memberikan hasil kerusakan yang paling minimal diantara empat kombinasi tersebut, yaitu tingkat kerusakan pada hati dan ginjal sebesar 25%.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

- a. Kombinasi fraksi aktif biji saga dan biji pepaya yang memberikan efek antifertiilitas paling optimal adalah perbandingan 50:50
- b. Semua pemberian kombinasi fraksi aktif tidak mengganggu libido
- c. Pemberian bahan uji memberikan kerusakan pada hati dan ginjal dengan keparahan 25-75% meningkat sesuai peningkatan kombinasi dosis

Saran

Penggunaan biji saga dan biji pepaya dalam bentuk kombinasi fraksi aktif menimbulkan efek aktivitas yang lebih kuat sehingga juga menimbulkan kerusakan pada organ hati dan ginjal. Oleh karena itu disarankan pengurangan dosis pada penggunaan kombinasi fraksi aktif biji saga dan biji pepaya dan juga perlu penelitian kombinasi ekstrak totalnya untuk mengurangi dosis senyawa seperti abrin atau karpain yang terdapat dalam biji saga dan biji pepaya.

Daftar Pustaka

- Anonim, 2007, *DPR Dukung BKKBN Jadi Kementrian*, Jakarta, www.bkkbn.go.id
- Budiono, B dan Herwiyanti, S. 2000. The Histological Structure of Liver of Rats after Consuming Extract of Lamtoro Leaf and Green Tea (*Leucaena leucocephala*). *Jurnal Kedokteran YARSI*. 8(2):16-24
- Hamman WO, Musa SA, Ikyembe DT, Umana UE, Adelaiye AB, Nok AJ, and Ojo SA, 2011, Ethanol Extract of *Carica papaya* Seeds Induces Reversible Contraception in Adult Male Wistar Rats, *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 2(5): 257-261
- Herrera CL, Ramos EV. & Villanueva BA. 1984, Philippine Plants as Possible Sources of Antifertility Agents. *The Philippine Journal of Science* 1984; 91 – 129.
- Kulshrestha SS, and Mathur RS, 1990. Effect of Steroidal Fraction of Seeds of *Abrus precatorius* Linn. On Rats Testis, *Indian J Exp Biol*, 28:752-756
- Lohiya NK, Kothari LK, Manivannan B, Mishra PK, & Pathak N, 2000, Human Sperm Immobilization Effect of *Carica papaya* Seed Extracts an In Vitro Study, *Asian J of Androl*, 2 : 103-109
- Lohiya NK, Manivannan B, Mishra PK, Pathak N, Sriram S, Bhande SS, Panerdoss, S., 2002 Chloroform Extrac of *Carica Papaya* Seeds Induces Long-Term Reversible Azoospermia In Langur Monkey. *Asian J of Androl*, 4 (1): 17- 26,
- Lohiya, N.K., Pradyumna, K., Mishra, N., Pathak, B., Manivannan, S., Bhande, S., Panneerdoss and Sriram, S. 2005. “Efficacy Trial on The Purified Compound of The *Carica Papaya* for Male Contraception In Albino Rat”. *Reproductive Toxicology*. Vol. 20 : 135-148
- Meles, D.K., dan Sastrowardoyo, W., 2001, *Efek Infusa Impatiens balsamina* Linn pada Stadium Pembelahan Sel dalam Upaya Pencarian Obat Antifertilitas, PPOT, Lemlit, Unair, Surabaya
- Moeloek N. *Perkembangan Kontrasepsi Pria*, Pertemuan Ilmiah Tahunan XIV Perkumpulan Andrologi Indonesia. Denpasar 2002; 11-14

Prajogo, B., Widjiati dan Tandjung, M., 2003, Pengaruh Fraksi Polifenol *Gendarussa vulgaris* Nees pada Penurunan Aktivitas Hialuronidase Spermatozoa Mencit melalui Uji Fertilisasi in Vitro, *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*; 4 (1)

Ratnasooriya WD, Amarasekera AS, Perera NSD, and Premakumara GAS, 1991, Sperm Antimotility Properties of a Seed Extract of *Abrus precatorius*, *J Ethnopharmacology*, 38:85-90

Satriyasa, BK., tanpa tahun, Fraksi Heksan dan Fraksi Metanol Biji Pepaya Muda dapat menghambat Spermatisit Primer Pakhiten Mencit Jantan (*Mus musculus*), Laporan Penelitian

Sinha R, 1990, Post Testicular Antifertility Effects of *Abrus precatorius* Seed Extract in Albino Rats, *J Ethnopharmacology*, 28(2), 173-181

Sumaryati A. Tahun Ini KB Pria Mulai Digalakkan. Badan Koordinator Keluarga Berencana Nasional 2004. Available from: http://www.bkkbn.go.id/article_detail.php.

Sutyarso, Soeradi, Suhana, Nur Asikin. 1992, Pengaruh Fraksi Buah Pare Terhadap Perkembangan Sel-sel Spermatogenik Tubulus Seminiferus Mencit Jantan dan Masa Pemulihannya. *Maj. Kedok Indonesia*. 1992; Vol. 42. No. 7.

Wilopo SA. Perkembangan Teknologi Kontrasepsi Pria Terkini. Gema Pria 2006. Available from: <http://pikas.bkkbn.go.id/gemapria/articledetail.php>

Zulham, 2009. *Histoteknik*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan