

PENGARUH PEMBERIAN AIR PERASAN BUAH BLUSTRU (*Luffa cylindrica*) TERHADAP MORFOLOGI SPERMATOZOA

Studi eksperimental pada mencit *Mus musculus jantan* dengan dosis konsentrasi bertingkat

Saeful Anwar*, Taufiq R Nasikhun[^], Eni Widayati#

* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

[^] Bagian Andrologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

Bagian Kimia Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

Saeful Anwar, Brebes, uchox_full@yahoo.com/zaef_full89@gmail.com

ABSTRAK

Program KB yang dilaksanakan belum sepenuhnya berhasil, maka berbagai penelitian telah dilakukan untuk menemukan alternative lain, misalnya menggunakan biji buah blustru (*Luffa cylindrica*). Buah blustru mempunyai kandungan saponin triterpen, tetapi belum terbukti mempunyai efek pada kualitas morfologi spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya pengaruh pemberian air perasan buah blustru terhadap morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) jantan.

Penelitian eksperimental *Post test only control group design* ini menggunakan 20 ekor mencit yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dosis konsentrasi I (25%), II (50%), III (100%), dan 1 kelompok kontrol IV (aquadest), diberi 1 cc /hari tiap kelompok selama 35 hari. Hari ke 36 mencit dibedah selanjutnya diperiksa morfologi spermatozoanya. Data yang diperoleh, diuji dengan *One way anova* dan dilanjutkan *uji Post hoc test*. Sebelum diuji dengan *One way anova* lebih dulu diuji distribusi normalitas data dengan *Shapiro wilk* dan homogenitas varians dengan *Levene test*.

Hasil rerata morfologi normal spermatozoa pada kelompok IV (76,40%), I (49,60%), II (41,00%), dan III (30,60%). Hasil uji *One way anova* menunjukkan ada beda signifikan morfologi spermatozoa antara keempat kelompok dengan nilai $p < 0,05$ yaitu $p = 0,000$. Hasil *Post hoc test* didapatkan perbedaan rerata morfologi normal spermatozoa yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$ yaitu kelompok I $>>$ II (0,002) dan kelompok II $>>$ III (0,000).

Kesimpulannya bahwa air perasan buah blustru dapat menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa, dan dosis 100% adalah dosis yang paling efektif menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa sehingga bisa dijadikan alternatif KB.

Kata kunci : Morfologi Spermatozoa, Saponin triterpen, Air Perasan Buah Blustru (*Luffa cylindrica*).

ABSTRACT

Implemented family planning program has not been fully successful, then many studies have been conducted to find other alternatives, such as using blustru fruit seeds (*Luffa cylindrica*). Blustru fruit have content triterpene saponins, but has not been shown to have an effect on the quality of sperm morphology. This study aims to prove the effect of giving blustru fruit juice to the morphology of mice spermatozoa (*Mus musculus*) males.

Post experimental research test only control group design was used 20 tails of mice were divided into 3 treatment groups I dose concentration (25%), II (50%), III (100%), and a control group IV (distilled water), given 1 cc / day for 35 days each group. Day 36th mice were dissected further examined the morphology of spermatozoa. The data obtained are tested by *One way ANOVA* and *post hoc test* trials followed. Before being tested by *One way ANOVA* first tested for normality distribution of data with the *Shapiro Wilk* and homogeneity of variances with *Levene test*. The results mean normal morphology of spermatozoa in group IV (76.40%), I (49.60%), II (41.00%), and III (30.60%). *One way ANOVA* test results showed no significant difference between the four groups of sperm morphology with p value <0.05 is $p = 0.000$. *Post hoc test* results obtained mean differences in morphological normal spermatozoa with a significant p value <0.05 that group I $>$ $<$ II (0.002) and group II $>$ $<$ III (0.000). The conclusion that blustru fruit juice can decrease the number of normal sperm morphology, and a dose of 100% is the most effective dose decreases the amount of normal morphology of spermatozoa that can be used as an alternative KB.

Key words: Sperm Morphology, Triterpene Saponin, Blustru Fruit Juice (*Luffa cylindrica*).

PENDAHULUAN

Pada tahun 2010 telah dilakukan sensus penduduk, dan Indonesia menjadi Negara dengan penduduk terbesar keempat setelah RRC, Amerika dan India. Pemerintah telah menggalakkan program Keluarga Berencana (KB) untuk menekan laju pertumbuhan penduduk dengan menggunakan berbagai macam alat kontrasepsi, dari yang paling sederhana sampai ke metode modern, akan tetapi belum sepenuhnya

berhasil (Budioro, 2007). Sampai saat ini bahan atau alat kontrasepsi pria masih sangat terbatas yakni, kondom dan vasektomi. Berbagai upaya telah dilakukan oleh para peneliti obat antifertilitas untuk menemukan alternatif lain, misalnya dengan menggunakan biji dari buah blustru (*Luffa cylindrica*) seperti yang dilakukan oleh Dhian Bhagawati (1998). Selain bijinya, buah blustru juga mempunyai kandungan yang sama yaitu mempunyai saponin triterpen, tetapi buah blustru belum terbukti mempunyai efek yang sama terhadap morfologi spermatozoa, sehingga penelitian mengenai buah blustru masih perlu dilakukan.

Biji buah blustru yang digunakan sebagai alternatif KB bagi pria sampai saat ini masih sulit diterapkan, karena masyarakat kesulitan untuk memisahkan biji dari buahnya. Sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang khasiat dari buah blustru untuk konterasepsi pria. Hal ini akan lebih mudah dikonsumsi oleh masyarakat sebagai alternatif dari kontrasepsi bagi pria dan akan lebih menekan angka fertilitas serta menurunkan pertumbuhan penduduk.

Khasiat buah blustru yang telah diketahui antara lain adalah daunnya dapat digunakan untuk meluruhkan kencing dan menurunkan panas. Akarnya dapat menghilangkan bengkak dan memperlancar sirkulasi darah. Bunganya dapat menyembuhkan batuk dan sakit tenggorokan dan batangnya bisa digunakan untuk membunuh cacing perut (Santoso, 2008). Sedangkan biji buah blustru berpengaruh dalam proses terhambatnya pembentukan sperma (Mulyani, 1992). Begitu banyak

khasiat buah blustru dan bisa digunakan untuk pengobatan alternatif, oleh karena itu penelitian mengenai air perasan buah blustru yang diduga dapat menurunkan kualitas spermatozoa perlu dibuktikan, karena sampai saat ini belum ada penelitian yang membuktikan bahwa buah blustru mempunyai efek yang sama dengan bijimya.

Pada buah blustru terdapat kandungan saponin triterpen yang mempunyai potensi untuk dijadikan bahan kontrasepsi alami. Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang mempunyai struktur steroid dan mempunyai sifat-sifat khas dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membuih bila dikocok dan mampu menurunkan tegangan permukaan membran sel (Nadapdap, 2011). Struktur alkaloid steroid pada saponin ini dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase pada membran sel spermatozoa di bagian midd piece. Fungsi dari ATP-ase adalah untuk mempertahankan homeostasis internal ion natrium dan kalium. Jika aktifitas enzim ATP-ase terganggu, maka permeabilitas akan terganggu sehingga sel akan membengkak, hal ini karena membran sel memiliki permeabilitas lebih rendah terhadap ion natrium dibandingkan ion kalium, sehingga begitu ion natrium berada di luar, ion ini memiliki kecenderungan masuk ke dalam membran sel (Guyton, 2008). Sehingga sel spermatozoa dapat membengkak dan akan mempengaruhi perubahan morfologi normal dari spermatozoa. Dalam hal ini diharapkan saponin triterpen pada buah blustru dapat mempengaruhi morfologi dari spermatozoa.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental* laboratorium dengan *Post test only control group design*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah air perasan buah blustru dan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah morfologi spermatozoa. Air perasan buah blustru adalah air yang diperoleh dari hasil perasan buah blustru yang di haluskan atau di blender, dengan menggunakan skala rasio. Morfologi spermatozoa adalah bentuk dari spermatozoa yang dinyatakan dalam persen, merupakan hasil dari perhitungan dan penjumlahan spermatozoa normal dalam 100 spermatozoa pada berbagai lapang pandang preparat hapus yang dicari secara zig-zag, serta dikalikan dengan 100%, skala yang digunakan adalah interval. Populasi pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jenis kelamin jantan di Laboratorium biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang (UNISSULA), dengan kriteria inklusi Jenis kelamin mencit jantan berumur ± 3 bulan, sehat, makan dan minum normal, berat badan $\pm 20-30$ g. Kriteria eksklusi mencit yang sakit, cacat, luka dan untuk kriteria drop out adalah mencit yang mati selama penelitian.

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan penelitian eksperimental *Post Test Only Control Group Design*, menggunakan sampel sebanyak 24 ekor mencit *Mus musculus* jantan dengan usia ± 3 bulan. Sampel dibagi dalam 4 kelompok secara *Simple random* yaitu kelompok I, II, III, kelompok kontrol, dan tiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit, tetapi selama

perlakuan mencit mati 3 ekor yaitu pada kelompok 100% ada 1ekor, kelompok 50% ada 1 ekor, kelompok kontrol ada 1 ekor. Mencit yang mati dimungkinkan karena keadaan dalam tubuh mencit sendiri yang membuat mencit tidak dapat bertahan hidup. Sehingga hanya tersisa 21 ekor mencit, tetapi yang sesuai dengan kriteria inklusi ada 20 ekor mencit, karena 1 ekor pada kelompok 25% sakit, jadi tiap kelompok ada 5 ekor mencit jantan yang masuk kriteria inklusi.. Masing-masing kelompok diberi perlakuan selama 35 hari, kemudian dilakukan pemeriksaan morfologi spermatozoa pada hari ke 36 dengan memeriksa morfologi normal spermatozoa dalam 100 spermatozoa di berbagai lapang pandang preparat hapus, sehingga menghasilkan persentase setiap kategori morfologi normal. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran UNISSULA pada bulan Januari 2012.

Seluruh data yang diperoleh kemudian dilakukan analisa dengan *SPSS 16.0 for Windows*, dilihat data normal atau tidak dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* dan uji homogenitasnya of varians menggunakan *Levene test*. Data yang peroleh normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *One way ANOVA*, dan terdapat perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc test*.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Rerata Morfologi Spermatozoa Normal dan Normalitasnya

Kelompok	Rerata Morfologi Spermatozoa Normal (%)	± Standar Deviasi	Sig.
I (25%)	49,60	± 3,130	0,065
II (50%)	41,00	± 3,162	0,482
III (100%)	30,60	± 3,847	0,928
IV (kontrol)	76,40	± 4,561	0,124

Berdasarkan tabel 2, dapat diketahui bahwa rerata morfologi normal spermatozoa terendah terdapat pada kelompok III yaitu 30,60%, kemudian diikuti oleh kelompok II yaitu 41,00% dan kelompok I yaitu 49,60%, sedangkan rerata morfologi normal spermatozoa tertinggi terdapat pada kelompok IV yaitu sebesar 76,40%.

Pada variabel morfologi spermatozoa dilakukan uji distribusi normalitas data menggunakan *Shapiro-wilk* dan hasilnya kelompok I yaitu 0,065, kelompok II yaitu 0,482, kelompok III yaitu 0,928, sedangkan kelompok IV yaitu 0,124 kemudian diuji homogenitasnya dengan menggunakan *Levene test*, dan hasil yang diperoleh adalah distribusi data normal dan varian data homogen dengan besar nilai $p > 0,05$ yaitu 0,847.

Setelah diketahui distribusi data normal dan varian data homogen maka dilakukan uji statistik analisis varian satu arah (*One way anova*), dan hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan morfologi normal spermatozoa yang bermakna diantara keempat kelompok dengan nilai p sebesar 0,000 (Lampiran 4). Kemudian untuk melihat perbedaan morfologi normal

spermatozoa di antara 2 kelompok, dilakukan uji *Post Hoc test (Least Significant Difference (LSD))*. Hasil uji LSD disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji LSD Morfologi Spermatozoa antar Kelompok

Kelompok	Rerata	Selisih Rerata	<i>p</i> (Sig.)
IV><I	76,40><49,60	26,80	.000(*)
IV><II	76,40>< 41,00	35,40	.000(*)
IV><III	76,40><30,60	45,80	.000(*)
I><II	49,60>< 41,00	8,60	.002(*)
I><III	49,60><30,60	19,00	.000(*)
II><III	41,00>< 30,60	10,40	.000(*)

* : signifikan

Dari tabel 3. hasil uji LSD diatas menunjukkan bahwa pada kelompok I, II, dan III dibandingkan dengan kelompok IV (kontrol) terdapat perbedaan rerata jumlah morfologi spermatozoa yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$, sehingga pemberian air perasan buah blustru pada kelompok I,II, dan III dapat menurunkan morfologi normal spermatozoa secara bermakna, dan hasil uji beda rerata antar kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, II dan III, II dan IV, serta kelompok III dan IV juga menunjukkan rerata morfologi spermatozoa yang berbeda secara bermakna dengan nilai p antara kelompok I dan II (0,002), I dan III (0,000) I dan IV (0,000), II dan III (0,000), II dan IV (0,000) serta kelompok III dan IV (0,000).

Berdasarkan analisis diatas dapat dinyatakan bahwa ada pengaruh pemberian air perasan buah blustru terhadap morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) jantan, sehingga hipotesis pada penelitian ini diterima

PEMBAHASAN

Pengaruh pemberian air perasan buah blustru terhadap morfologi spermatozoa terlihat jelas dengan adanya penurunan jumlah morfologi normal pada kelompok mencit jantan I, II dan III yang diberikan dengan variasi dosis yang berbeda selama 35 hari perlakuan. Rerata morfologi normal spermatozoa masing-masing kelompok sebagai berikut : kelompok I (air perasan blustru dosis konsentrasi 25%) yaitu 49,6%, kelompok II (air perasan blustru dosis konsentrasi 50%) yaitu 41,00%, kelompok III (air perasan blustru dosis konsentrasi 100%) yaitu 30,60%, dan pada kelompok IV (kelompok kontrol) yaitu 76,40 %. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis air perasan buah blustru paling efektif berpengaruh terhadap morfologi spermatozoa adalah pada pemberian dosis konsentersasi 100% (kelompok III).

Selain itu juga ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok I dan II (0,002) serta kelompok II dan III (0,000). Hal ini menunjukkan bahwa dosis konsentrasi air perasan buah blustru bila semakin dinaikan dapat lebih mempunyai efek dalam mempengaruhi morfologi normal spermatozoa.

Hal diatas menunjukkan bahwa pemberian air perasan buah blustru dapat mempengaruhi morfologi normal spermatozoa, yaitu dengan berbagai cara, salah satunya dengan cara mempengaruhi membran sel di mid piece sel spermatozoa menjadi bengkak dan akhirnya pecah sehingga sel sperma abnormal. Kandungan saponin dalam buah blustru

mempunyai efek biologis dapat berinteraksi dengan komponen membrane celluler yang mengganggu mitokondria dalam menghasilkan ATPase (Harinder, 2007). Mekanisme aksi efek spermatisida dari saponin triterpen buah blustru melibatkan gangguan dari membrane plasma sel spermatozoa (Hoffmann, 2003). Di dalam membran sel spermatozoa terdapat sejumlah besar protein dan molekul organik lain yang tidak dapat keluar sel yang kebanyakan bermuatan negatif, dan karena itu akan menarik sejumlah ion kalium, natrium dan ion positif lainnya. Apabila hal ini tidak dikendalikan maka sel akan membengkak dan pecah. Mekanisme yang mencegah hal itu adalah ATPase, yaitu suatu pompa Na^+ dan K^+ (Guyton, 2008). Sedangkan saponin triterpen dapat merusak kerja dari ATPase tersebut, maka apabila terjadi gangguan pada ATPase dapat mengganggu pembentukan sel spermatozoa (Mulyani, 1992). Oleh karena itu saponin yang terkandung dalam buah blustru dapat mempengaruhi morfologi sel spermatozoa menjadi abnormal dan banyak yang mati karena pecahnya sel spermatozoa dibagian mid piece. Penelitian ini sesuai hasil penelitian yang dilakukan Mulyani (1992). Dalam penelitiannya yang menggunakan isolat biji buah blustru sebanyak 25 mg/gbb pada mencit strain Thailand 3 bulan yang diberi 0,5 ml/hari, dapat menghambat spermatogenesis mencit jantan, penelitian lain yang dilakukan oleh Dhian Bhagawati, dkk (1998) yang menggunakan ekstrak biji buah blustru (*Luffa cylindrica*) pada mencit Balb C sebanyak 270 mg/25 gbb, dosis perhari 0,5 ml selama 10 hari. Pada hasil penelitian

menunjukkan bahwa adanya penurunan kebuntingan mencit betina (antifertilitas) dengan aktivitas positif tercermin dari rendahnya angka kebuntingan. Ekstrak biji blustru 270 mg/25 g BB mencit dapat menurunkan tapak implantasi, jumlah fetus yang dikandung dan jumlah korpus luteum oleh karena kualitas sperma yang menurun. Penelitian lain tentang manfaat saponin triterpen sebagai alternatif kontrasepsi adalah ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*). Menurut Chinoy (1985), ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*) yang mengandung saponin triterpen dapat menurunkan angka motilitas dan fertilisasi pada tikus albino jantan. Dikatakan setelah penyuntikan selama 60 hari, motilitas dan laju fertilisasi menurun hingga 0%. Efek tersebut bersifat sementara dan akan kembali normal setelah tiga bulan kemudian. Disamping itu ekstrak biji pepaya dapat sebagai pengatur fertilitas secara posteskuler pada tikus jantan karena ekstrak tersebut memiliki efek spermisidal terhadap sperma matang di epididimis.

Kriteria spermatozoa dikatakan fertil oleh WHO (1992) yaitu dengan jumlah sperma normal > 30%, dan pada hasil penelitian ini yang menggunakan dosis 100% dapat menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa sampai dengan rerata morfologi normal 30,60% untuk pemberian 1ml/hari selama 35 hari. Hal ini berarti air perasan buah blustru yang mengandung saponin triterpen dapat menjadi alternatif KB bagi laki-laki yang tidak menggunakan metode kontrasepsi alat maupun paten, sehingga dapat mengurangi angka fertilitas di masyarakat. Terlepas dari

hal itu, ada beberapa hal yang menjadi keterbatasan dalam penelitian ini. Salah satunya yaitu apabila dosis perhari yang diberikan pada mencit ditambahkan dan lama perlakuan ditambahkan kemungkinan akan lebih menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa hingga mencapai rerata morfologi normal < 30%, hal ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Chinoy (1985). Selain itu juga variabel bebas yang digunakan adalah sediaan air perasan, sehingga masih banyak zat yang terkandung didalamnya selain saponin triterpen yang dapat berpengaruh pada morfologi mencit. Hal ini berbeda dengan sediaan ekstrak yang lebih tersaring zat-zat yang diperlukan, jadi zat lain selain saponin dapat dikendalikan, sehingga saponin dapat bekerja maksimal seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Mulyani (1992). Keterbatasan lainnya adalah tidak dilakukannya pengukuran suhu dan ph pada saat perhitungan morfologi spermatozoa mencit. Serta dosis air perasan buah blustru yang diberikan sesuai dengan dosis yang dikonsumsi untuk mencit. Agar dapat diterapkan pada manusia masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan dosis konversi dari mencit ke manusia, yang selanjutnya dilakukan uji preklinik yaitu dengan uji efektifitas dan uji toksisitas, dan juga uji klinik dengan metode *Randomized Control Trial (RCT)*.

KESIMPULAN

Berdasarkan data hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa pemberian air perasan buah blustru pada mencit *Mus musculus*

jantan dewasa berpengaruh terhadap penurunan jumlah spermatozoa yang memiliki morfologi normal.

Terdapat perbedaan prosentase morfologi antar kelompok yang mendapat perlakuan dengan variasi dosis yang berbeda. Semakin ditambah dosisnya semakin berpengaruh terhadap morfologi normal spermatozoa. Dosis air perasan buah blustru paling efektif berpengaruh terhadap morfologi spermatozoa adalah pada pemberian dosis konsentrasi 100% (kelompok III).

SARAN

Untuk mencapai hasil yang lebih maksimal dalam menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa dapat dengan meningkatkan dosis yang diberikan untuk perharinya dan lama perlakuan terhadap sample.

Penelitian tentang efek ekstrak biji blustru sudah pernah dilakukan, namun penelitian tentang efek ekstrak buah blustru belum pernah dilakukan. Untuk membandingkan efektivitas dari biji blustru maupun buah blustru, maka diperlukan penelitian lanjutan.

Penggunaan air perasan buah blustru sebagai antifertilitas pada manusia masih perlu dilakukan uji selanjutnya untuk kemudian dapat dikonsumsi oleh manusia, yaitu uji preklinik dengan uji toksisitas, dan uji klinik dengan metode *Randomized Control Trial (RCT)*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhagawati, Dhian., Ismudiono., 1998. *Uji Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Biji Blustru (Luffa aegyptiaca Mill) pada Mencit Betina*. Biosfer Majalah Ilmiah Biologi. Fak. Biologi UNSOED, Purwokerto
- Budioro, B., 2007. *Pengantar Pendidikan (Penyuluhan) Kesehatan Masyarakat* cetakan ke-2, edisi 2, Badan penerbit Universitas Diponegoro, Semarang, 1004-1007.
- Damayanti, D., 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat 431 jenis tanaman penggempur aneka penyakit*, Penerbit PT agromedia Pustaka, Jakarta Selatan 12630.
- Dorland, W.A.N., 2002, *Kamus kedokteran Dorland*, edisi 29, EGC, Jakarta
- Guyton, A, C. and Hall, J, E., 2008, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, EGC, Jakarta
- Harinder, P, S., 2007. *Plant Secondary Metabolites*, Humana press, a division of springer and + bussines media, Totowa, New jersey 07512.
- Hermawanto, H., 2008. *Analisis Sperma pada Infertilitas Pria*, Bagian patologi klinik, RSUD Dr. Saeful Anwar, Malang.
- Hoffmann, D., 2003. *Medical Herbalism, The science and practice of herbal medicine*, Healing art press, Rochester, Vermont 05767.
- Johnson, M., Everitt, B., 1990. *Essential in Reproduction*. London: Blackwell Science Pub Oxford.
- Kusumawati, D., 2004, *Bersahabat dengan Hewan Coba*, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya, 5-8.
- Moeloek, N., 2009, *Analisa Semen Manusia*, Balai Penerbit FKUI Jakarta. Dalam: <http://www.kalbe.co.id/printed-cdk/146/diagnosis-laboratorium.html>. Diakses tanggal 15 Agustus 2011.
- Mulyani, H.R., 1992. *Pengaruh isolat biji blustru (Luffa cylindrica Roem.) pada spermatogenesis mencit*, JBF FF Universitas Erlangga, Surabaya.
- Nadapdap,. Y. P., 2011. *Departemen ilmu nutrisi dan teknologi pakan*, Fakultas Peternakan Institut Pertanian .Bogor.
- Oakberg, E.P., 1956. *A Description of Spermatogenesis in the Mouse and Its Use in Analysis of the Cycle of Seminiferous Epithellium and Germ Cell Renewal*, American Jurnal of Anatomy, Messachuset.

- Rukmana, R., 2010. *Budi Daya Oyong dan Blustru*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Santoso, B. H., 2008. *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*, cetakan pertama. PT Agromedia Pustaka. Jakarta Selatan 12630.
- Setiawan ,B., Sulaeman, A., Giraud, D., 2005. *Sperma dan Masalahnya*, Dalam: <http://stopmerook.blogspot.com/2005/07//sperma-dan-masalahnya.html>.Diakses tanggal 14 November 2008.
- Tijpto B, W., 2008. *Kajian Infertil Pria Di Laboratorium Infertil – Andrologi*. Puslitbang Sistem Dan Kebijakan Kesehatan Surabaya.
- Washington, W., Murthy, A., Doye K, Eugene., 1983. *Induction of Morphology Cell Abnormal Sperm in Rats exposed to oxylene*. Arch. Androl. 11: 233-237
- WHO, 1992, *WHO Laboratory Manual for the Standardized Investigation and Diagnostic of The Infertile Couple*, Lambridge University Press, New York, 1-45
- Wyrobek A, J., Bruce W, R., 1975. *Chemical Induction of Sperm Abnormalities in Mice*. Proc Natl Acad Sci USA. hal. 4425-9.