

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf11nk319>

## Pengaruh Variasi Dosis Ekstrak Terong Belanda Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Pada *Mus Musculus* Yang Dipapar Timbal Asetat

Abadiyah Zakiah Kustantina

Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga;  
AbadiyahZakiah@yahoo.com (koresponden)

Reny I'tishom

Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; ritishom@fk.unair.ac.id

Siti Khaerunnisa

Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; st.khaerunnisa@fk.unair.ac.id

### ABSTRACT

*Infertility is a 10-15% problem experienced by men around the world. One of the causes of infertility in men is caused by an increase in reactive oxygen species (ROS) by toxic substances such as heavy metal lead (Pb). This research was conducted to find the potential of Dutch eggplant fruit (Solanum betaceum) in various doses to increase the concentration of mice spermatozoa (Mus musculus) exposed to lead acetate. Dutch eggplant has a good phenolic content as an antioxidant to prevent free radicals. The study design used was Posttest only control group design with a sample of 40 male mice. The treatment time in all groups is 35 days. Mice were divided into 5 groups that were given oral treatment. The control group was given 75 mg/kgBW of lead acetate treatment. The treatment group was given lead acetate 75mg / KgBB and Dutch eggplant extract at various doses of 100 mg/kgBW (P1), 200 mg/kgBW (P2), and 400 mg/kgBW (P3). The results showed that Dutch eggplant extract (Solanum betaceum) with various doses could significantly increase spermatozoa concentration. The optimal dose of Dutch eggplant extract (Solanum betaceum) in mice exposed to lead is 100 mg/kg/day in the treatment group (P1).*

**Keywords:** tamarillo; spermatozoa concentration

### ABSTRAK

Infertilitas merupakan masalah 10-15% yang dialami pria di seluruh dunia. salah satu penyebab infertilitas pada pria disebabkan oleh peningkatan *reactive oxygen species (ROS)* oleh bahan toksik seperti logam berat timbal (Pb). Penelitian ini dilakukan untuk menemukan potensi buah terong belanda (*Solanum betaceum*) dalam berbagai dosis terhadap peningkatan konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal asetat. Terong belanda mempunyai kandungan fenolik yang baik sebagai antioksidan untuk mencegah radikal bebas. Desain penelitian yang digunakan *Posttest only control group design* dengan sampel 40 mencit jantan. Waktu perlakuan pada semua kelompok yaitu 35 hari. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok yang diberikan perlakuan secara oral. Kelompok kontrol diberikan perlakuan timbal asetat 75mg/KgBB. Kelompok perlakuan diberikan timbal asetat 75mg/KgBB dan ekstrak terong belanda dengan berbagai dosis 100mg/KgBB (P1), 200mg/KgBB (P2), dan 400mg/KgBB (P3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan berbagai dosis mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa secara signifikan. Dosis optimal pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) pada mencit yang dipapar timbal adalah 100 mg/kgBB/hari pada kelompok perlakuan (P1).

**Kata kunci:** terong belanda; konsentrasi spermatozoa

### PENDAHULUAN

Infertilitas merupakan masalah di seluruh dunia yang dialami oleh 10-15% pasangan suami istri. berdasarkan organisasi kesehatan dunia (WHO), 11-15% pasangan sulit memiliki keturunan disebabkan oleh faktor infertilitas pria.<sup>(1)</sup> salah satu penyebab infertilitas pada pria disebabkan oleh peningkatan *reactive oxygen species (ROS)* yang menyebabkan peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Salah satu penyebab tingginya ROS yaitu terkontaminasinya tubuh oleh bahan toksik yang disebabkan pencemaran lingkungan. Salah satu bahan toksik yang berpotensi sebagai sumber pencemar lingkungan adalah logam berat timbal (Pb).<sup>(2)</sup> Menurut WHO kandungan timbal <10µg/dL mengakibatkan berbagai gangguan pada sistem reproduksi pria, seperti penurunan motilitas, jumlah spermatozoa, perubahan morfologi dan fungsi spermatozoa.<sup>(3)</sup> Subani<sup>(4)</sup> juga menjelaskan kerusakan spermatozoa yang disebabkan ROS pada kasus infertilitas pria ditemukan sebanyak 30%-80%.

Penelitian di Indonesia pada tahun 2008-2011 melaporkan bahwa pria yang terpapar emisi gas buang kendaraan bermotor mengalami penurunan morfologi dan konsentrasi spermatozoa.<sup>(5)</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Wijesekara<sup>(6)</sup>, pada 300 pasangan infertil di Srilanka terdapat kandungan logam berat (Pb) yang cukup tinggi pada seminal plasma. Timbal yang diserap dalam tubuh, 99% akan mengikat sel darah merah dan menyebabkan terhambatnya *Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase* (ALAD) yang selanjutnya akan meningkatkan *Aminolevulinic* (ALA). Terjadinya gangguan tersebut menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) meningkat sehingga juga akan meningkatkan stress oksidatif di dalam tubuh.<sup>(7)</sup> Pada hipotalamus tingginya stress oksidatif akan memengaruhi pulsatil GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) dan menyebabkan terganggunya sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*). Terganggunya regulasi hormon berpengaruh pada tingkat testiskular dimana mengakibatkan produksi hormon testosteron menurun. Hormon testosteron adalah hormon penting dalam proses spermatogenesis, Jika proses spermatogenesis terganggu maka jumlah sel spermatogenik yang diproduksi akan berkurang.<sup>(8,2)</sup>

Timbal yang bersirkulasi di dalam aliran darah juga dapat memengaruhi sel interstitial testis. Radikal bebas pada interstitial testis akan mendegradasi sel dengan cara merusak membran lipid dengan menginisiasi lipid peroksidasi pada membran sel, merusak protein, merusak asam nukleat dan menghambat DNA repair pada sel. Kerusakan struktur ini ditandai oleh hilangnya sel germinal akibat dari efek gonadotoksik timbal.<sup>(9)</sup> Keberadaan ROS dalam testis juga akan menyebabkan apoptosis sel leydig dan steroidogenesis terganggu sehingga produksi testosteron menurun. Menurunnya kadar testosteron menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis sehingga jumlah dan kualitas spermatozoa yang dihasilkan akan menurun.<sup>(10)</sup> Penelitian yang dilakukan pada hewan coba yang diberi paparan timbal dilaporkan dapat menurunkan kadar konsentrasi spermatozoa, penurunan berat testis, diameter serta tebal epitel tubulus semineferus secara signifikan.<sup>(7)</sup>

Penelitian tentang tanaman sebagai sumber antioksidan dalam penurunan radikal bebas sudah banyak dilakukan. Antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan dapat digunakan untuk menekan stres oksidatif.<sup>(11)</sup> Salah satu tanaman sumber antioksidan adalah terong belanda. Terong belanda mengandung sumber vitamin C, E, A, karoten, fenol, polifenol dan flavonoid.<sup>(12)</sup> Terong belanda (*Solanum betaceum*) merupakan buah mengandung fenolik, semakin tinggi kadar fenolik maka semakin tinggi pula aktivitas pengikatan radikal bebas.<sup>(13)</sup> Kandungan antioksidan pada terong belanda juga bersifat lipofilik yang berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasi dengan menangkap radikal bebas.<sup>(14)</sup>

Tujuan penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh terong belanda (*Solanum betaceum*) pada berbagai dosis terhadap konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar Timbal asetat (Pb). Pemberian ekstrak terong belanda dengan berbagai dosis diharapkan mampu meningkatkan konsentrasi spermatozoa pada mencit yang dipapar Timbal asetat (Pb). Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan tumbuhan terong belanda yang mengandung flavonoid Antosianin sebagai antioksidan yang mampu menurunkan radikal bebas dan meningkatkan enzim antioksidan intra cell yang disebabkan paparan timbal (Pb) dalam kehidupan sehari-hari. Penelitian dengan menggunakan terong belanda (*Solanum betaceum*) diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lanjutan untuk menjadi pengobatan herbal pada infertilitas pria yang disebabkan paparan timbal.

## METODE

Jenis penelitian ini adalah *eksperimental murni laboratorik (true eksperimen)*. Rancangan penelitian menggunakan *Posttest only control group design*. Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat kelaikan etik dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Variabel pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak terong belanda dan konsentrasi spermatozoa. Penelitian ini dilakukan di laboratorium hewan coba Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga untuk pemeliharaan. Pemeriksaan konsentrasi spermatozoa dilakukan di-Laboratorium Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Besar sampel pada penelitian ini 40 mencit jantan (*Mus musculus*) Balb/c yang di ambil secara acak dengan teknik *simple random sampling* yang sebelumnya populasi di homogenkan. Perlakuan pada semua kelompok dilakukan pada jam 08.00 selama 35 hari setelah aklimatisasi 1 minggu.

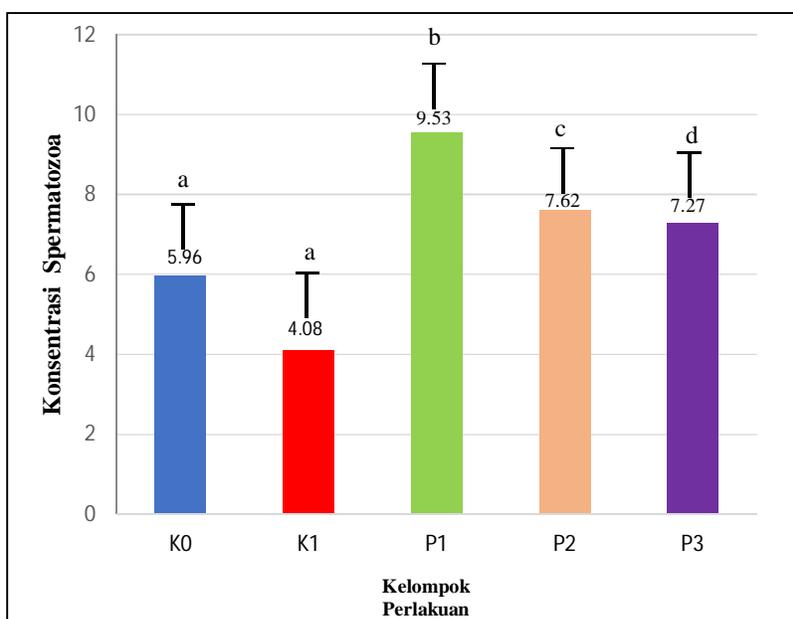
Pembagian kelompok dibagi menjadi Kelompok kontrol negatif (K0) yaitu pemberian aquadest selama 35 hari. Kelompok kontrol positif (K1) yaitu pemberian aquadest pada hari 1 sampai 3, dilanjutkan pemberian timbal dosis 75 mg/kgBB/hari pada hari ke 4 sampai 35. Kelompok perlakuan (P1) yaitu pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan dosis 100 mg/kgBB/hari pada hari 1 sampai ke 3, dilanjutkan pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan dosis 100 mg/kgBB/hari dan timbal dosis 75 mg/kgBB/hari pada hari ke 4 sampai 35. Kelompok perlakuan (P2) yaitu pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan dosis 200 mg/kgBB/hari pada hari 1 sampai ke 3, dilanjutkan pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan dosis 200 mg/kgBB/hari dan timbal dosis 75 mg/kgBB/hari pada hari ke 4 sampai 35. Kelompok perlakuan (P3), pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan dosis 400 mg/kgBB/hari pada hari 1 sampai ke 3, dilanjutkan pemberian ekstrak terong belanda

(*Solanum betaceum*) dengan dosis 100 mg/kgBB/hari dan timbal dosis 75 mg/kgBB/hari pada hari ke 4 sampai 35.

Pada hari ke 36 mencit dikorbankan dan dilakukan pengambilan sampel. Pengambilan sampel testis mencit dengan cara pembedahan melalui insisi pada dinding abdomen. Pemeriksaan konsentrasi spermatozoa semen diambil dari kauda epididimis diencerkan dengan pelarut dan dimasukkan ke dalam kamar hitung (Neubauer) selanjutnya, sampel diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Hasil pemeriksaan konsentrasi spermatozoa selanjutnya dilakukan analisis deskriptif dilanjutkan dengan uji normalitas dan uji homogenitas. Analisis data menggunakan uji statistik dengan menggunakan *Kruskal Wallis*. Apabila ada perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan dan kontrol maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dan *T-test*. Semua data dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Product for the Service Solutions* (SPSS) versi 23.0.

## HASIL

Hasil analisis deskriptif rerata konsentrasi spermatozoa pada mencit (*Mus musculus*) dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Variasi dosis ekstrak Terong Belanda (*Solanum betaceum*) terhadap konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus musculus*) yang dipapar timbal Asetat. Kontrol Negatif (K0); Kontrol positif (K1); P1 ekstrak Terong Belanda dosis 100mg/kgBB; P2 ekstrak Terong Belanda dosis 200 mg/kgBB; ekstrak Terong Belanda dosis 40 mg/kgBB.

Gambar 1 menunjukkan terdapat perbedaan rerata konsentrasi spermatozoa pada berbagai dosis kelompok perlakuan. Hasil statistik uji *Kruskal Wallis*, menunjukkan terdapat perbedaan signifikan konsentrasi spermatozoa ( $p= 0.005$ ) dengan nilai ( $p<0,05$ ). Uji statistik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dan *T-test*. Pada penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan konsentrasi spermatozoa yang signifikan ( $p<0,05$ ) pada berbagai dosis kelompok perlakuan. Tetapi, pada kelompok perlakuan P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub> menunjukkan penurunan konsentrasi spermatozoa signifikan terhadap P<sub>1</sub>.

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini konsentrasi spermatozoa menunjukkan penurunan yang signifikan pada kelompok kontrol (K<sub>1</sub>), Hal ini menunjukkan timbal yang bersifat toksis menyebabkan peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan menyebabkan radikal bebas di dalam tubuh. Pada dasarnya tubuh memiliki antioksidan endogen namun aktivitas terhambat karena adanya timbal yang terikat dengan gugus sulfhidril (S-H). Aktivitas

antioksidan endogen yang berkurang menyebabkan peningkatan ROS. ROS yang berinteraksi dengan lipid pada membran sel menyebabkan peroksidasi lipid dan stress oksidatif.<sup>(15)</sup>

Stress oksidatif yang terjadi pada Hipotalamus dapat menyebabkan terganggunya pulsatile GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*), sehingga menyebabkan sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) terganggu. Pada tingkat testiskuler regulasi hormon yang terganggu menyebabkan penurunan produksi hormon testosterone. Testosterone merupakan hormon yang penting dalam proses spermatogenesis, Hal ini menyebabkan konsentrasi spermatozoa akan menurun<sup>(8,2)</sup> penelitian sebelumnya juga menjelaskan, Pria yang terpapar timbal menyebabkan penurunan konsentrasi Testosterone.<sup>(7)</sup> Kandeil<sup>(16)</sup> dalam penelitiannya juga menyatakan paparan timbal dengan dosis 20 mg/KgBB yang diberikan selama 8 minggu menyebabkan penurunan yang signifikan pada kadar testosterone.

Pada semua kelompok perlakuan dengan berbagai dosis menunjukkan jumlah konsentrasi spermatozoa yang meningkat signifikan, hal ini membuktikan bahwa kandungan antioksidan pada terong belanda (*Solanum betaceum*) mampu menangkal radikal bebas yang disebabkan paparan timbal. Flavonoid pada terong belanda (*Solanum betaceum*) mempunyai kemampuan antioksidan yang dapat menghambat stress oksidatif.<sup>(17)</sup> Antosianin pada terong belanda juga merupakan senyawa turunan flavonoid yang aktivitas antioksidannya lebih tinggi dari pada vitamin C dan E.<sup>(18)</sup>

Kemampuan antioksidan pada terong belanda ini juga dapat memperbaiki stress oksidatif pada hipotalamus sehingga regulasi hormon yang sebelumnya terganggu akibat paparan timbal dapat kembali normal. Pada tingkat testiskuler antioksidan juga dapat meredam stress oksidatif pada sel Leydig dan Sertoli. Sel Leydig dan Sertoli menghasilkan hormon androgen yang sangat penting dalam proses spermatogenesis. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan pada mencit yang dipapar asap rokok bahwa senyawa flavonoid dapat menstabilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dengan bereaksi dengan senyawa yang bersifat radikal sehingga stress oksidatif dapat menurun dan fungsi sel Leydig dalam memproduksi hormon testosterone kembali normal. Penelitian lainnya juga menyatakan aktivitas antioksidan terong belanda dengan nilai IC50 1162,608 ppm yang mampu menghambat reaksi peroksidasi lipid yang disebabkan peningkatan ROS akibat paparan timbal asetat.<sup>(20)</sup>

Pada penelitian ini juga menunjukkan, kelompok perlakuan (P2) dan (P3) menunjukkan penurunan rerata konsentrasi spermatozoa dibandingkan kelompok perlakuan (P1). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan dosis 200mg/KgBB dan 400mg/KgBB masih berpotensi mengkap radikal bebas yang disebabkan paparan timbal tetapi efeknya berkurang. Hal ini disebabkan pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) mengandung senyawa flavonoid bertindak sebagai prooksidan dimana semakin tinggi kandungan flavonoid semakin berkurang efektifitasnya.<sup>(21)</sup>

Kandungan flavonoid yang tinggi mampu menghambat kerja enzim aromatase, yaitu enzim yang merubah testosterone perifer menjadi estradiol.<sup>(22)</sup> Penghambatan enzim aromatase menyebabkan kadar testosterone bebas dalam darah meningkat sehingga mengakibatkan *negative feedback* pada *hipotalamus* dan menyebabkan terganggunya pulsatile *Gonadotrophin Releasing Hormone* (GnRH). Terganggunya pulsatile GnRH menyebabkan sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) pada hipofisis menurun, dan selanjutnya menyebabkan fungsi sel Ledyg pada tingkat testiskuler terganggu. Fungsi sel leydig yang terganggu dapat menurunkan kadar hormon androgen yaitu testosterone.

Testosterone merupakan androgen yang penting pada proses spermatogenesis, jika spermatogenesis terganggu maka produksi spermatozoa juga akan menurun. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Rafiq<sup>(21)</sup>, pemberian terong belanda pada konsentrasi tinggi dapat bertindak sebagai prooksidan. Penelitian lainnya juga menjelaskan flavonoid dapat mengganggu spermatogenesis dengan mengganggu umpan balik pada hipotalamus yang disebabkan peningkatan hormone estrogen yang tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Mugniati<sup>(23)</sup> juga menjelaskan flavonoid dapat menurunkan kadar LH sehingga fungsi sel Leydig untuk menghasilkan testosterone juga akan menurun. Penurunan kadar testosterone akan mengakibatkan terjadinya gangguan proses spermatogenesis dan kan berpengaruh terhadap spermatozoa yang dihasilkan.

## KESIMPULAN

Pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum betaceum*) dengan berbagai dosis mampu meningkatkan secara signifikan konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus Musculus*) yang dipapar timbal asetat. Konsentrasi spermatozoa paling tinggi terdapat pada kelompok P1 dengan pemberian ekstrak terong belanda (*Solanum Betaceum*) dosis 100 mg/kgBB/hari. Pembuatan suplemen untuk manusia dengan ekstrak Terong Belanda (*Solanum betaceum*) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek jangka panjang.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Suryatini K, Yuniari I, Gusti AR. Logam berat timbal (pb) dan efeknya pada sistem reproduksi. Jurnal edukasi matematika dan sains. 2018;7(1):1-6.

2. Syarif S, Kosman R, Inayah N. Uji aktivitas antioksidan terong belanda (*solanum betaceum cav.*) Dengan metode frap. *Jurnal As-Syifaa*. 2015;07(01):26-33.
3. Khatoon, Fahmida, Pervez, Ahmad, Ahmed, Humayun, Sadia M. Effect of lead toxicity and its correlation with different variables of dna damage. *Jurnal Of Islamabad Medical And Dental College*. 2018;7(2):102-107.
4. Subani, Natalia D. Effect of skin extract mangosteen (*garcinia mangostana l.*) Against sperm quality and malondialdehyde levels of mice (*mus musculus*) exposed with 2-methoxyethanol. *Jurnal Info Kesehatan*. 2014;2(1):670-686.
5. I'thisom R, Lunardi H, Lubis HS, Sono OP. Perubahan konsentrasi spermatozoa pada pria terpapar emisi gas buang kendaraan bermotor di surabaya tahun 2007. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*. 2011;1(2): 67-72.
6. Tarigan RVBR, M Pandapotan N, Sry SW. The activities of antifertility ethanol extract guava leaves (*psidium guajava l.*) Based on the analysis of cement and display of immunohistochemistry cyclooxygenase-2 in testis of mice (*mus musculus*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2016;14(2): 219-225.
7. Diana D, I'thisom R, Sudjarwo S. *Nigella sativa* extract improves seminiferous tubule epithelial thickness in lead acetate-exposed balb/c mice. *Folia Medica Indonesiana*. 2017;53(3):180-184.
8. Barkur, Rajashekar R, Laxminarayana KB. Assessment of oxidative stress in hippocampus, cerebellum and frontal cortex in rat pups exposed to lead (pb) during specific periods of initial brain development. *Biological Trace Element Research*. 2015;164(2):212-218.
9. Primiani C, Novi, Lestari U, Mohamad A. Potensi genistein pada sistem reproduksi mencit jantan (*mus musculus*). *Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi*. 2011;8(1):102-104.
10. Wati WK, Wurlina, Sarmanu. Potensi vitamin e terhadap jumlah sel spermatogenik pada mencit yang terpapar 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (tcdd). *Veterina medika*. 2014;14(4):410-411.
11. Wijesekara G, DMS Fernando, S Wijerathna N, Bandara. Environmental and occupational exposures as a cause of male infertility. *Ceylon Medical Journal*. 2015;60:6-52.
12. Wahyuningsih S, Gibson V, Hayati A. Pengaruh polisakarida krestin dari ekstrak jamur *coriolus versicolor* terhadap profil protein testikuler dan kadar testosteron *mus musculus*. *Jurnal El-Hayah*. 2016;5(4):169-175.
13. Khaerunnisa S. Mekanisme preventif ekstrak etanol *solanum betaceum* terhadap penurunan memori, jumlah sel neuron dan glia, nmdar, creb, bdnf pada hipokampus *rattus norvegicus*, yang dipapar asap rokok. *Fakultas kedokteran Universitas Airlangga*;2018.
14. Priska M, Natalia P, Ludovicus C, Yulius DN. Review: antosianin dan pemanfaatannya. *Jurnal Cakra Kimia*. 2018;6(2):79-97.
15. Diana N. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*nigella sativa*) terhadap hormon testosteron, jumlah sel spermatogenik dan tebal tubulus semineferus pada mencit (*mus musculus*) balb/c yang dipapar timbal (pb) asetat. *Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga*;2017.
16. Kandeil MA, Kamel MA, Hasanin, Mohamed A, AE Tawab, Ghada M, Safwat. Antioxidant role of vitamin c in alleviating the reproductive toxicity of lead acetate in male rats. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2020;10(1):9-12.
17. Khaerunnisa S, Kurnia K, Mustika A, Aminah S, Suhartati. Mechanism of *solanum betaceum* to prevent memory impairment in cigarette smoke-exposed rat. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019;11(3): 25-29.
18. Riaz M, Muhammad Z, Bashar S. *Anthocyanins and human health: biomolecular and therapeutic aspects*. Springer Briefs in Food, health, and Nutrition. Switzerland. 2016.
19. Anggi AR, Eka CH. Pengaruh pemberian dark chocolate terhadap jumlah spermatozoa mencit balb/c jantan yang dipapar asap rokok. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 2016;5(4):475-484.
20. Dewi N, Puspawati N, Swantara D, Asih A, Rita W. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid ekstrak etanol biji terong belanda (*solanum betaceum, syn*) dalam menghambat reaksi peroksidasi lemak pada plasma darah tikus wistar. *Journal of Applied Chemistry*. 2014;2(1).
21. Rafiq A. Ramadhan, Dewi T. Pengaruh pemberian ekstrak buah terong belanda (*solanum bataceum*) terhadap morfologi dan motilitas spermatozoa mencit (*mus musculus*) galur ddy. *e-Jipbiol*. 2013;1:50-56.
22. Laili NDH. Penurunan pergerakan spermatozoa tikus putih jantan (*rattus norvegicus*) yang diinduksi ekstrak etanol daun pepaya (*carica papaya l.*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 2017;17(2):393.
23. Mughniati S, Dwi KS, Dedy R, Lellah R. Pengaruh ekstrak biji kapuk (*ceiba pentandra gaertn*) sebagai obat kontrasepsi terhadap kualitas spermatozoa pada kucing lokal (*felis domestica*) (effects of kapok seed extract(*ceiba pentandra gaertn*) as contraceptive agent to the quality of the spermatozoain domestic cat (*felis domestica*)). *Jurnal Riset Veteriner Indonesia Journal of The Indonesian Veterinary Research*. 2018;2(1):27-34.