

Efek Pemberian Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum Nigrum L*) Secara Oral Terhadap Penurunan Jumlah Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus Norvegicus L*) Galur *sprague dawley*

Tesia Iryani¹, Novita Carolia², Fitria Saftarina³

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Ilmu Kedokteran Okupasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Terdapat beberapa faktor penyebab rendahnya partisipasi pria dalam melaksanakan program KB dan kesehatan reproduksi, salah satunya adalah terbatasnya jangkauan pelayanan kontrasepsi pria. Maka dilakukan penelitian ini untuk menambah metode kontrasepsi pada pria. Karena banyaknya tersebar tanaman leunca (*solanum nigrum l*) di Indonesia dan mempunyai kandungan antifertilitas, maka buah leunca dipilih dalam penelitian ini. Penelitian ini adalah eksperimental dengan desain penelitian *Randomized Post Test Control Group Design*. Sampel tikus putih galur *Sprague dawley* sebanyak 28 ekor, yang dibagi menjadi 4 kelompok. Pada kelompok 1 tidak diberi ekstrak leunca, kelompok 2 dosis 100 mg/kgBB, kelompok 3 dosis 200 mg/kgBB, dan kelompok 4 dosis 400 mg/kgBB, dengan pemberian satu kali sehari sebanyak 1 ml, selama 28 hari. Alat ukur yang dipakai adalah neraca analitik dan *Haemocytometer Neubauer*. Analisis data yang dipakai adalah *one-way anova* yang dilanjutkan uji *post-hoc*. Didapatkan hasil rata-rata jumlah sperma pada kelompok 1 (kelompok kontrol) adalah 67 juta/ml, kelompok 2 (dosis 100 mg/kgBB) adalah 56,35 juta/ml, kelompok 3 (dosis 200 mg/kgBB) adalah 45,71 juta/ml, dan kelompok 4 (dosis 400 mg/kgBB) adalah 31,85 juta/ml. Hasil uji bivariat dengan *one-way anova* diperoleh nilai $p=0,001$ ($p<0,05$). Yang berarti terdapat pengaruh pemberian ekstrak buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa pada tikus putih. Simpulan dari penelitian terdapat pengaruh ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa pada tikus putih galur *Sprague dawley* ($p=0,001$).

Kata Kunci : Infertilitas, Leunca (*Solanum nigrum l*), Spermatozoa

The Effect Of Oral Leunca Fruit (*Solanum Nigrum L*) Ethanol Extract To Decrease Sperma Count Of White Rats (*Rattus Norvegicus L*) *Sprague Dawley* Strain

Abstract

There are several factors causing the low participation of men in carrying out the program family planning and reproductive health, one of which is a limited range of services of male contraception. This study was conducted to add a method of contraception for men. Because of many spread plants of leunca in Indonesia and it has antifertility, so leunca fruit are chosen in this research. This study is an experimental research with *Randomized Post Test Control Group Design*. Samples of this study 28 *Sprague dawley* rats. which were divided into 4 groups. In the first group were given aquades, second group with dose of 100 mg/kgBB, third group with doses of 200 mg/kgBB, and fourth group with dose of 400 mg/kgBB, given once a day 1 ml, for 28 days. Measuring instrument used is the analytical balance and *Haemocytometer Neubauer*. Analysis of the data used is *one-way anova* and the next test is *post-hoc test*. The average number of sperm in group 1 (control group) was 67 million/ml, group 2 (with dose 100 mg/kgBB) is 56.35 million/ml, group 3 (with dose 200 mg/kgBB) is 45.71 million/ml, and group 4 (with dose 400 mg/kgBB) is 31.85 million/ml. Bivariate test results with *one-way anova* obtained value of $p = 0.001$. It means there is the effect of the leunca fruit ethanol extract decrease sperma count of white rats. Conclusion from the experiment there is the effect of the leunca fruit ethanol extract to decrease the number of spermatozoa in *Sprague dawley* rats ($p = 0.001$)

Keywords: Infertility, Leunca (*Solanum nigrum l*), Spermatozoa

Korespondensi : Tesia Iryani, alamat Jl. Kulit Gg. Kelana No.72 Langkapura Bandar Lampung, HP 082186934642, email tesiairyani@gmail.com.

Pendahuluan

Ada empat faktor yang menyebabkan rendahnya partisipasi pria dalam program KB yaitu yang pertama kondisi lingkungan sosial,

budaya, masyarakat dan keluarga yang masih menganggap partisipasi pria tidak penting dilakukan dalam program KB.¹ Faktor yang kedua adalah pengetahuan dan kesadaran

yang rendah pada pria serta keluarga dalam program KB. Faktor yang ketiga adalah terbatasnya jangkauan pelayanan kontrasepsi pria. Faktor yang keempat yaitu Adanya suatu anggapan, kebiasaan serta persepsi dan pemikiran yang salah pada pria yang masih cenderung menyerahkan tanggung jawab KB sepenuhnya kepada para istri atau perempuan.¹ Dari beberapa faktor tersebut maka upaya meningkatkan keikutsertaan laki-laki dalam KB adalah melalui bahan maupun zat dari tumbuhan, yang diduga mengandung bahan antifertilitas, dan dianggap aman, efektif dan dapat diterima masyarakat. Keuntungan dari pemanfaatan bahan alami (tumbuhan) yaitu efek sampingnya rendah, toksisitas rendah, mudah diperoleh dan murah.

Salah satu tumbuhan yang diduga memiliki efek antifertilitas adalah *Solanum Nigrum Linn* atau yang dikenal dengan leunca dalam bahasa sunda. Buah leunca atau *Solanum nigrum* diketahui memiliki efek antifertilitas, namun belum terungkap dengan jelas apa yang dapat ditimbulkan jika buah leunca diberikan secara oral dalam bentuk ekstrak. *Solanum nigrum* mengandung tanin, saponin, solasodin dan flavonoid pada buahnya. Solasodin adalah senyawa alkaloida steroid yang dapat mempengaruhi spermatogenesis karena dapat menekan sekresi hormon reproduksi yang diperlukan untuk berlangsungnya spermatogenesis. Sedangkan saponin termasuk ke dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis.²

Alkaloid *solanum* (solasodin) adalah senyawa alkaloid steroid yang mengandung satu atom nitrogen dalam siklik dan bersifat basa. Solasodin mempunyai inti berkerangka perhidroksiklopentanofentaren. Solasodin memiliki rumus molekul $C_{27}H_{43}O_2N$ dengan berat molekul 413,65, dan bersifat kompetitif terhadap reseptor *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), sehingga pelepasan FSH dari hipofisis terganggu. Akibat dari gangguan tersebut menyebabkan keseimbangan hormonal pada sumbu hipotalamus-hipofisis-testis menjadi tidak stabil. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berperan memacu sintesis androgen binding protein pada sertoli. Protein

ini akan berikatan dengan testosteron di dalam lumen tubulus seminiferus testis guna menunjang keberlangsungan spermatogenesis. Untuk keberlangsungan proses spermatogenesis diperlukan keseimbangan hormonal pada poros hipotalamus-hipofisis-testis.³



Gambar 1. Buah Leunca.⁵

Spermatogenesis adalah suatu proses pembentukan dan pematangan spermatozoa yang mencakup semua peristiwa perubahan spermatogonia menjadi spermatozoa, yang berlangsung di epitel tubulus seminiferus. Spermatogenesis dipengaruhi hormon testosteron, LH (*Luteinizing Hormone*), FSH (*Folikel Stimulating Hormone*), estrogen, dan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*).⁴

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental dengan desain penelitian *Randomized Post Test Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan di *Animal House* Fakultas kedokteran Universitas Lampung, pembedahan di Laboratorium Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan pembuatan ekstraksi di Fakultas MIPA Universitas Lampung, dilakukan pada bulan November sampai Desember 2016. Populasi target dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Sampel pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan umur 2-3 bulan dan memiliki bobot 150-300 gram sebanyak 28 ekor, yang dibagi menjadi kelompok kontrol, kelompok 2 dengan dosis 100 mg/kgBB, kelompok 3 dengan 200 mg/kgBB, kelompok 4 dengan 400 mg/kgBB yang diberikan masing-masing 1ml. Variabel bebas berupa pemberian ekstrak buah leunca sebanyak 1 ml dengan dosis 100

mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB secara peroral. Variabel terikat berupa penurunan jumlah sperma. Kriteria Inklusi yang ditetapkan untuk penelitian adalah Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan umur 2-3 bulan, Bobot tikus 150-300 gram, Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang sehat. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah Tikus mati saat eksperimen sedang berlangsung, Tikus sakit saat eksperimen sedang berlangsung

Parameter yang digunakan adalah jumlah spermatozoa tikus putih *Sprague dawley*, untuk menentukan tingkat fertilitas tikus putih jantan. Data yang diperoleh setelah di teliti, dikoding, dan di *entry* dalam file komputer dengan menggunakan *software* statistik. Uji *shapiro wilk* untuk melihat normalitas distribusi data. Bila dijumpai $p > 0,05$ maka distribusi normal, dan digunakan uji parametrik *one-way* Anova. Sedangkan apabila data tidak terdistribusi normal maka analisis menggunakan uji non-parametrik *kruskal-wallis* untuk melihat beda rata-rata jumlah sperma antar kelompok. Jika $p < 0,05$ dilanjutkan dengan uji *posthoc* untuk mengetahui dosis yang mana yang paling efektif menurunkan kadar sperma, dengan melihat nilai $p < 0,05$ dan melihat nilai *confidence interval* 95% yang tidak melewati angka 0, maka dinyatakan terdapat perbedaan yang signifikan antara dosis-dosis tersebut.

Hasil

Pada penelitian ini didapatkan hasil jumlah rata-rata spermatozoa pada setiap

kelompok perlakuan adalah seperti tabel berikut. Berdasarkan data pada tabel 1 diatas telah menunjukkan perbedaan jumlah spermatozoa yang telah diberi ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum l*). Kelompok 1 adalah 67 juta/ml. Kelompok 2 adalah 56,35 juta/ml Kelompok 3 adalah 45,71 juta/ml. Kelompok 4 adalah 31,85 juta/ml.

Berdasarkan tabel 2 diatas, didapatkan data terdistribusi normal yaitu $p > 0,05$. Setelah itu dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Leven's*, dan didapatkan hasil jumlah spermatozoa homogen dengan nilai $p = 0,100$. Setelah itu dilanjutkan dengan uji *One Way* Anova, Hasil yang diperoleh nilai signifikan $p = 0,001$ yang memiliki arti bahwa terdapat efek pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa. Lalu dilanjutkan dengan melakukan analisis data menggunakan uji *post-hoc* bonferroni untuk dapat mengetahui perbedaan antar kelompok lebih detail dan rinci sehingga didapatkan kelompok perlakuan mana yang mempunyai efektivitas lebih baik terhadap pemberian ekstrak etanol buah leunca antara dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB.

Berdasarkan uji *post-hoc* bonferroni terdapat efek pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa tikus putih, yang ditunjukkan dengan keterangan bermakna. Dosis 400 mg/kgBB yang lebih efektif terhadap penurunan jumlah spermatozoa tikus putih.

Tabel 1. Rata-Rata Jumlah Spermatozoa

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah rata-rata \pm SD	95% CI
1	0	67,00 \pm 5,16	62,22-71,77
2	100	56,35 \pm 1,43	55,02-57,68
3	200	45,71 \pm 3,68	42,30-49,12
4	400	31,85 \pm 3,89	28,25-35,45

Tabel 2. Hasil uji normalitas dengan saphiro wilk

Kelompok	p	Keterangan
1	0,918	Data terdistribusi normal
2	0,556	Data terdistribusi normal
3	0,691	Data terdistribusi normal
4	0,914	Data terdistribusi normal

Keterangan : $p > 0,05$ yaitu data terdistribusi normal

Tabel 3. Uji post Hoc bonferroni

Variabel Dependen	Kelompok Perlakuan (I)	Kelompok Perlakuan (J)	p	Ket.
Jumlah spermatozoa (Juta/ml)	1 (tidak diberi perlakuan)	2	0,001	Bermakna
		3	0,001	Bermakna
		4	0,001	Bermakna
	2 (100 Mg/KgBB)	1	0,001	Bermakna
		3	0,001	Bermakna
		4	0,001	Bermakna
	3 (200 Mg/KgBB)	1	0,001	Bermakna
		2	0,001	Bermakna
		4	0,001	Bermakna
	4 (400 Mg/KgBB)	1	0,001	Bermakna
		2	0,001	Bermakna
		3	0,001	Bermakna

Keterangan : Kelompok perlakuan bermakna secara statistik ($p < 0,05$)

Pembahasan

Penelitian ini mengenai efek pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap jumlah spermatozoa tikus putih *Sprague dawley* yang dilakukan pada November sampai Desember 2016. Di beri ekstrak etanol buah leunca sebanyak 1 ml selama 28 hari, dengan dosis yang berbeda-beda di setiap kelompok. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat efek pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa yang dibuktikan secara statistik seperti tercantum pada tabel 1. Pada penelitian ini didapatkan jumlah rata-rata spermatozoa paling rendah pada kelompok dosis 400 mg/kgBB, yang berarti terjadi penurunan jumlah spermatozoa dengan semakin tingginya dosis ekstrak leunca yang diberikan.

Pada penelitian Marinda (2007) yang meneliti tentang infusa buah leunca dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% secara oral terhadap spermatozoa mencit, dari hasil jumlah rata-rata spermatozoa menunjukkan

pada konsentrasi 15% yang mengalami penurunan jumlah spermatozoa yang paling banyak yaitu sebanyak $9,058 \times 10^6$ /ml. Pada uji anova dihasilkan $p=0,001$, yang berarti terdapat pengaruh pemberian infusa buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Dilihat dari rata-rata jumlah spermatozoa yaitu semakin besar dosis yang dipakai maka semakin besar pula penurunan jumlah spermatozoa.⁵

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kurnia di Universitas Lambung Mangkurat (2005) terhadap pemberian ekstrak buah leunca dengan dosis rendah yaitu 2 gram dan 4 gram setiap satuan berat badan hewan uji telah memperlihatkan adanya gangguan pada jumlah sperma, dengan lama percobaan hanya 10 hari, dan memperlihatkan berat testis hewan uji turun sangat nyata dibanding hewan yang tidak diberi ekstrak leunca.⁵ Berdasarkan penelitian Setia (2012) tentang pengaruh pemberian infusa buah leunca yang

juga menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 15% terhadap penurunan jumlah spermatozoa mencit galur *Swiss webster*, didapatkan nilai $p=0,05$, yang berarti terdapat pengaruh pemberian infusa buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa. Semakin besar konsentrasi, maka semakin besar pula penurunan jumlah spermatozoa.⁶

Leunca (*Solanum americanum miller* atau *Solanum nigrum l.*) adalah salah satu sayuran *indigenous* yang berasal dari Amerika Selatan. Di Indonesia, leunca menyebar di Pulau Jawa dan Sumatera yang tersebar di lahan kering, baik di kebun atau di pekarangan rumah.⁷ Bagian yang dikonsumsi adalah buah dan daun. Setiap 100 gram buah leunca segar mengandung 90 g air, 1,9 g protein, 0,1 g lemak, 7,4 g karbohidrat, 274 mg Ca, 4,0 g Fe, 0,5 g karoten, 0,1 mg vitamin B1, dan 17 mg vitamin C. Selain dikonsumsi sebagai sayur, leunca dimanfaatkan sebagai obat tradisional.⁸

Diantara zat-zat aktif yang dikandung oleh leunca (*Solanum nigrum l.*), ada beberapa kandungan yang dapat berpengaruh pada proses spermatogenesis yaitu saponin yang termasuk ke dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis.^{4,8} Solasodin yang bersifat kompetitif terhadap reseptor *Follicle Stimulating Hormone* (FSH), sehingga pelepasan FSH dari hipofisis terganggu. Akibat dari gangguan tersebut menyebabkan keseimbangan hormonal pada sumbu hipotalamus-hipofisis-testis menjadi tidak stabil. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berperan memacu sintesis androgen binding protein pada sertoli. Protein ini akan berikatan dengan testosteron di dalam lumen tubulus seminiferus testis guna menunjang keberlangsungan spermatogenesis. Untuk keberlangsungan proses spermatogenesis diperlukan keseimbangan hormonal pada poros hipotalamus-hipofisis-testis, sehingga terjadi infertilitas.^{4,9}

Mekanisme pengaturan poros hipotalamus-hipofisis-testis adalah yang pertama *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) dari hipotalamus menstimulasi hipofisis anterior untuk mensekresi FSH dan LH. Lalu kedua adalah *Follicle Stimulating*

Hormone (FSH) menstimulasi sel sertoli untuk memproduksi *Androgen Binding Protein* (ABP). Fase ketiga adalah ketika *Luteinizing Hormone* (LH) menstimulasi sel leydig untuk memproduksi testosteron. Kemudian fase keempat yaitu dengan adanya ABP, testosteron dapat mendukung spermatogenesis. Lalu yang kelima adalah testosteron meningkatkan libido dan perkembangan organ dan karakteristik seks sekunder. Fase keenam yaitu *feedback* negatif testosteron mengurangi sekresi GnRH dan sensitivitas hipofisis. Kemudian pada fase ketujuh sel sertoli juga mensekresi inhibin yang secara selektif menginhibisi sekresi FSH.^{10,11}

Sehingga pada pemberian ekstrak etanol buah leunca terdapat penurunan jumlah spermatozoa dibanding dengan kelompok kontrol atau yang tidak diberikan ekstrak etanol buah leunca.

Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi infertilitas pada pria selain leunca adalah berupa gangguan spermatogenesis yang bisa terjadi pratestis (misalnya hipo-gonadisme, kelebihan estrogen, kelebihan androgen, kelebihan glukokortikoid, dan hipotiroidisme), atau pada testis (misalnya gangguan maturasi, hipospermatogenesis, sindroma sel sertoli, dan lain-lain). Kelainan di luar organ testis, seperti varikokel dan hidrokkel, dapat menyebabkan gangguan produksi sperma.¹²

Faktor dari luar tubuh seperti paparan radiasi, logam berat, obesitas, rokok, dan obat-obatan. Pada paparan radiasi terjadi peningkatan suhu tubuh yang berlebihan sehingga tidak dapat di hilangkan, sehingga terjadi kerusakan jaringan. Sedangkan pada merokok dapat menyebabkan gangguan pada vaskularisasi di testis, sehingga dapat mengurangi kualitas sperma. Faktor yang terakhir adalah obat-obatan misalnya sulfasalazine yang digunakan dalam pengobatan *ulcerative colitis* dapat menyebabkan penurunan motilitas dan densitas sperma melalui mekanisme gangguan proses spermatogenesis tetapi *reversibel*. Sedangkan Fenitoin dapat menyebabkan

infertilitas karena mempengaruhi hipofisis dalam mensintesis FSH.¹³

Simpulan

Dari hasil penelitian dan pengolahan data mengenai peningkatan dosis ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa pada kauda epididimis tikus jantan dengan menggunakan tabulasi *one-way* anova dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* bonferroni, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat efek pemberian ekstrak etanol buah leunca terhadap penurunan jumlah spermatozoa pada tikus putih galur *Sprague dawley*, dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB ($p=0,001$).
2. Dari hasil penelitian di dapatkan rata-rata jumlah spermatozoa semakin menurun seiring dengan peningkatan dosis yaitu pada kelompok kontrol didapatkan rata-rata jumlah spermatozoa 60 juta/ml, kelompok dosis 100 mg/kgBB di dapatkan rata-rata jumlah spermatozoa 56 juta/ml, kelompok dosis 200 mg/kgBB rata-rata jumlah spermatozoa 45,7 juta/ml, dan kelompok dosis 400 mg/kgBB rata-rata jumlah spermatozoa 31,8 juta/ml.

Daftar Pustaka

1. Budisantoso. Partisipasi pria dalam keluarga berencana di kecamatan jetis kabupaten bantul. *Jurnal Promosi Kesehatan Indonesia*. 2009; Vol. 4(2):1-12.
2. Pranasita T. *Solanum nigrum L*. 2007. tersedia di: http://toiusd.multiply.com/journal/item/177.Solanum_nigrum_L.
3. Hariana HA. Leunca (*solanum nigrum l.*). Dalam: tumbuhan obat berkhasiatnya seri agrisehat. Cetakan kedua, seri kedua. Jakarta : penebar swadaya; 2006. Zahrina AD. Uji aktivitas antifertilitas ekstrak etanol 96% daun sambiloto (*Andrographis paniculata Nees.*) pada tikus jantan galur *Sprague dawley* secara in vivo. [Tesis]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2015.

4. Marinda MA. Efek pemberian infusa buah leunca (*solanum nigrum l*) dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% secara oral terhadap jumlah spermatozoa mencit (*mus musculus*). [skripsi]. Jatinangor: Universitas Padjajaran; 2007.
5. Setia TR. Pengaruh infusa buah leunca (*solanum nigrum l*) terhadap jumlah spermatozoa mencit swiss webster jantan. [tesis]. Bandung: Universitas Kristen Maranatha; 2012.
6. Pratiwi U. Evaluasi beberapa karakter agronomi, nilai gizi dan persepsi masyarakat terhadap tanaman indigenous di Jawa Barat. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2011
7. Putriantari M, Santosa E. Pertumbuhan dan kadar alkaloid tanaman leunca (*Solanum americanum miller*) pada beberapa dosis nitrogen. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 2014; Vol. 5(3):175-182
8. Rikenawaty IR. Efek antiosteoklastogenesis ekstrak etanol 96% leunca (*Solanum nigrum l.*) terhadap sel raw 264 secara in vitro. [tesis]. Depok: Universitas Indonesia; 2012.
9. Azhar F. Uji antifertilitas ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana l.*) pada tikus jantan. [tesis]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2013.
10. Sumiati. Sistem reproduksi manusia. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2013; Vol. 53(9):1689-1699.
11. Panggabean P, Soeng S, Ivone J. Efek pajanan timbal terhadap infertilitas pria. *Jurnal kesehatan masyarakat*. 2008; Vol. 8(1):87-94.
12. Idris R, Bhanu, Hartanto H. Logam berat, radiasi, diet, rokok, alkohol, dan obat-obatan sebagai penyebab infertilitas pria. *Jurnal keperawatan indonesia*. 2006; Vol. 10(2):70-7