

Bisphenol-a (BPA) Menurunkan Diameter Tubulus Seminiferus Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

Arina Muti Amaliah¹, Sutyarso², dan Soraya Rahmanisa³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Biokimia, Biologi Molekuler dan Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Plastik merupakan bahan yang banyak dijumpai dalam kehidupan sehari-hari, baik untuk keperluan rumah tangga, perkantoran, pertanian/ perkebunan, perindustrian, dan sebagainya. Salah satu jenis plastik yang umum digunakan adalah plastik polikarbonat (*polycarbonate/PC*). Bahan utama pada pembuatan plastik polikarbonat adalah senyawa 2,2-bis (4-hidroksifenil) propan atau yang dikenal dengan nama *bisphenol-a* (BPA). *Bisphenol-a* dapat berpindah/bermigrasi ke dalam makanan atau minuman, jika suhunya dinaikkan karena pemanasan. Apabila terpapar, BPA dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan, salah satunya kesehatan reproduksi. Penelitian bersifat eksperimental selama 21hari. Sampel 24 tikus *Rattus norvegicus* jantan galur *Sprague dawley* dibagi ke dalam 4 kelompok, yaitu K1 yang tidak diberi perlakuan, P1, P2 dan P3 diinduksi dengan BPA, dengan dosis 100 mg/kgBB (P1), 200 mg/kgBB (P2), dan 400 mg/kgBB (P3). Parameter yang diamati adalah histologi tubulus seminiferus. Data diuji dengan *One Way Anova*. Analisis menggunakan *One Way ANOVA* menunjukkan terdapat pengaruh pemberian BPA, terhadap rerata jumlah spermatosit primer, rerata jumlah spermatid, dan diameter tubulus seminiferus ($p<0,05$). Pemberian dosis 100 mg/kgBB BPA, memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan jumlah sel spermatosit primer dan diameter tubulus seminiferus, serta dosis 200 mg/kgBB BPA, memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan jumlah sel spermatid.

Kata kunci: *bisphenol-a*, kesehatan, reproduksi.

Bisphenol-a (BPA) Decrease the Diameter of Seminiferus Tubules of *Rattus norvegicus* in the *Sprague dawley* Strain

Abstract

Plastic is a material that is often found in everyday life, both for household needs, offices, agriculture / plantations, industry, and so on. One type of plastic commonly used is polycarbonate plastic (*polycarbonate /PC*). The main ingredient in the manufacture of polycarbonate plastic is 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propan or known as *bisphenol-a* (BPA). *Bisphenol-a* can move /migrate into food or drink if the temperature is raised due to heating. If exposed, BPA can cause various health problems, one of which is reproductive health. Experimental research was done for 21 days. Samples of 24 *Sprague dawley* male *Rattus norvegicus* rats were divided into 4 groups: untreated K1, P1, P2 and P3 induced with BPA dose of 100 mg/kgBW (P1), 200 mg/kgBW (P2), and 400 mg/kgBW (P3). The parameters observed were histology of seminiferous tubules. Data was tested with *One Way Anova*. Analysis using *One Way ANOVA* showed that there was an effect of giving BPA to the average number of primary spermatocytes, the average number of spermatids, and the diameter of seminiferous tubules ($p<0.05$). Giving a dose of 100 mg/kgBW of BPA had a significant effect on the decrease in the number of primary spermatocyte cells and the diameter of seminiferous tubules, and a dose of 200 mg/kgBW BPA had a significant effect on decreasing the number of spermatid cells.

Keywords: *bisphenol-a*, health, reproduction.

Korespondensi: Arina Muti Amaliah, Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1, Unila, Bandar Lampung, HP 082174499742, e-mail: arinamuti697@gmail.com

Pendahuluan

Pada zaman modern ini, masyarakat lebih mengutamakan pola hidup yang praktis. Salah satunya dalam hal konsumsi makanan dan minuman. Wadah yang sering digunakan untuk kemasan makanan dan minuman adalah plastik karena lebih fleksibel, kuat, praktis, murah dan ringan. Selain sebagai kemasan makanan, plastik juga digunakan untuk pembuatan botol susu bayi, lensaacamata,

sikat gigi, perlengkapan rumah tangga, perlengkapan kosmetik dan sebagainya.¹

Bahan plastik yang dijumpai untuk keperluan sehari-hari tersebut, merupakan plastik bikarbonat adalah senyawa 2,2 bis (4-hidroksifenil) propan yang dikenal dengan *bisphenol-a* (BPA). Hasil pemeriksaan pada lebih dari 90% sampel urin, yang diperoleh dari peserta *National Health and Nutrition*

Examination Survey (NHANES) tahun 2011-2012 di Amerika Serikat, memiliki konsentrasi BPA di atas batas normal.² Penelitian terhadap konsentrasi BPA di negara-negara di Asia, menunjukkan BPA terdeteksi pada 94,3% sampel yang dianalisis, dengan konsentrasi berkisar antara <0,1 sampai 30,1 ng/mL. Hasil ini, menunjukkan keterpaparan manusia secara luas terhadap BPA, di negara-negara Asia.³

Penelitian yang dilakukan di Jepang terhadap peralatan makanan, terdapat sepuluh produk komersial mengandung residu BPA di polikarbonat sekitar 5-80 mg/kg, tetapi migrasi hanya terdeteksi pada tiga sampel, yaitu di bawah 5 µg/kg. Empat sampel dengan tingkat yang sangat tinggi (mangkuk nasi, mug, mangkuk, piring sup), mengandung 370-599 mg/kg residu BPA dalam plastik. Di dalam produk-produk ini, migrasi ke dalam simultan makanan yang berbeda bervariasi.⁴

Bisphenol-a merupakan salah satu senyawa kimia sintesis yang paling banyak diproduksi saat ini, lebih dari tiga juta ton diproduksi per tahun. Tingginya penggunaan BPA sebagai bahan tambahan, karena memiliki sifat keras, bening dan ringan. Namun, dibalik keunggulan penggunaan BPA sebagai bahan dasar pengemasan, terdapat bahaya bagi kesehatan. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa kehadiran BPA di lingkungan dan di tubuh manusia, telah menyebabkan kekhawatiran lain tentang efek kesehatan yang merugikan. Penelitian pada hewan dan manusia, telah memperlihatkan hubungan BPA dengan banyak masalah kesehatan, termasuk infertilitas, penambahan berat badan, perubahan perilaku, percepatan masa puber, kanker prostat dan kelenjar susu, efek kardiovaskular, dan diabetes.⁵

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa paparan BPA, bahkan dalam dosis rendah, dapat mengganggu fisiologi reproduksi. Penelitian pada tikus dewasa, paparan BPA dapat mengurangi jumlah sperma dan mengganggu spermatogenesis. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa BPA dapat mengganggu *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) di hipotalamus, yang menyebabkan penurunan *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan testosteron yang dapat mempengaruhi spermatogenesis dan fungsi reproduksi. *Bisphenol-a* mengganggu spermatogenesis, tidak hanya melalui

penurunan hormon reproduksi, tetapi juga menginduksi apoptosis sel germinal.⁶ Penelitian lain menunjukkan bahwa paparan BPA pada laki-laki, juga terbukti mempengaruhi kesuburan dan berpotensi menimbulkan gangguan dalam protein *junctional* sel Sertoli. Sel ini memiliki peran penting dalam spermatogenesis. Meskipun demikian, ada juga bukti yang menunjukkan bahwa paparan BPA, tidak mempengaruhi kesuburan tikus betina dan tidak menurunkan jumlah sperma epididimis. Oleh karena itu, kemungkinan gangguan reproduksi akibat paparan BPA tetap kontroversial.⁷

Berdasarkan penelitian sebelumnya, BPA mempengaruhi fungsi reproduksi, salah satunya mengganggu produksi hormon dan spermatogenesis. Untuk itu, peneliti ingin mengetahui apakah pengaruh BPA terhadap histologi tubulus seminiferus tikus putih (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan pendekatan *post test only control group design* dan metode rancangan acak lengkap. Pemberian perlakuan pada hewan coba dilakukan di *Pet House* Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Lampung (Unila) selama 21 hari pada bulan November 2018-Januari 2019. Pembuatan preparat histologi, dilakukan pada hari ke-22 di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi FK Unila.

Sampel penelitian ini adalah tikus putih. Tikus putih yang digunakan, *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* yang didapat dari Palembang Tikus Center. Kriteria inklusi adalah jantan, berusia 10-12 minggu, berat badan 200-300 gram. Kriteria eksklusi adalah tikus mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi, sakit (tikus berambut kusam, rontok dan tidak bergerak aktif) serta mati selama perlakuan. Berdasarkan rumus Frederer, diperoleh 24 tikus sebagai sampel dan 4 sebagai cadangan *drop out*. Tikus kemudian dibagi ke dalam 8 kandang perlakuan, sehingga satu kandang ditempati 3 ekor tikus. Untuk melakukan perlakuan tersebut diperlukan beberapa alat dan bahan.

Alat-alat yang digunakan adalah delapan kandang tikus, tempat makan dan botol minum tikus, sonde lambung, *smoking*

chamber, neraca, mikroskop, *cover* dan *object glass*, bilik hitung *improve neubauer*, *minorset*, pipet, pot, spuit 1 cc dan 10 cc, *handschone*, dan masker. Bahan-bahan yang digunakan adalah NaCl 0,9%, eosin 2%, serta BPA, etanol dan aquades.

Tikus diberi perlakuan selama 21 hari dengan memberikan BPA yang dilarutkan dalam minyak jagung secara peroral, menggunakan sonde lambung. Setelah diberi perlakuan selama 21 hari, tikus kemudian diterminasi. Terminasi tikus dilakukan dengan metode *cervical dislocation* pada hari ke-22. Setelahnya, organ testis tikus diambil, dan selanjutnya dibuat preparat histologi tubulus seminiferus.

Pengamatan histologi testis (jumlah sel spermatosit primer dan sel spermatid) diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan diameter tubulus semiferus diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 200x, lalu diukur jarak terpanjang dan jarak terpendek pada tubulus semiferus dan dibagi dua. Sediaan histologi testis kemudian difoto dengan kamera mikroskopis digital (Optilab®) dengan *software* Optilab Viewer (Micronos®). Pengukuran diameter tubulus seminiferus testis ini dilakukan pada tubulus seminiferus yang utuh dan bundar secara acak dengan *software Image Raster* (Micronos®).

Penelitian ini menggunakan 28 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, dibagi *random* dalam 4 kelompok sampel, masing-masing 7 ekor di tiap kelompok dengan nama kontrol, P1, P2, dan P3. Kelompok kontrol (K) adalah kelompok tikus yang tidak diinduksi oleh BPA dan diberi 1 mL minyak jagung. Kelompok perlakuan 1 (P1) adalah kelompok tikus yang diinduksi oleh BPA sebanyak 100 mg/kgBB per hari. Kelompok perlakuan 2 (P2) adalah kelompok tikus yang diinduksi oleh BPA sebanyak 200 mg/kgBB per hari. Kelompok perlakuan 3 (P3) adalah kelompok tikus yang diinduksi oleh BPA sebanyak 400 mg/kgBB per hari.

Hasil

Hasil perhitungan rerata dan uji *One Way Anova* jumlah sel spermatosit primer dilihat pada tabel 1. Rerata tertinggi didapatkan pada kelompok K, yaitu kelompok

tikus yang tidak diinduksi BPA dan diberi 1 mL minyak jagung. Sementara, rerata terendah didapatkan pada kelompok P3 yang merupakan kelompok tikus yang diinduksi BPA sebanyak 400 mg/kgBB per hari. Terdapat penurunan secara klinis jumlah rerata spermatosit primer setelah diinduksi BPA dengan dosis bertingkat. Hasil uji *One Way Anova*, menunjukkan pemberian BPA berpengaruh terhadap rerata jumlah sel spermatosit primer. Setelah dilakukan uji statistik, diketahui terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok tikus kontrol dengan kelompok tikus yang diberi perlakuan. Hasil tersebut ditunjukkan dari hasil uji *Post Hoc* antar kelompok tersebut, yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Rerata Jumlah Spermatosit Primer

Kelompok	Rerata ±SD	p
K	49,6 ± 5,1	0,000
P1	43,3 ± 6,3	
P2	33,9 ± 4,0	
P3	28,4 ± 2,9	

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc* LSD pada Jumlah Rerata Spermatosit Primer

Kelompok	K	P1	P2	P3
K	-	0,034*	0,000*	0,000*
P1	0,034*	-	0,003*	0,000*
P2	0,000*	0,003*	-	0,060
P3	0,000*	0,000*	0,060	-

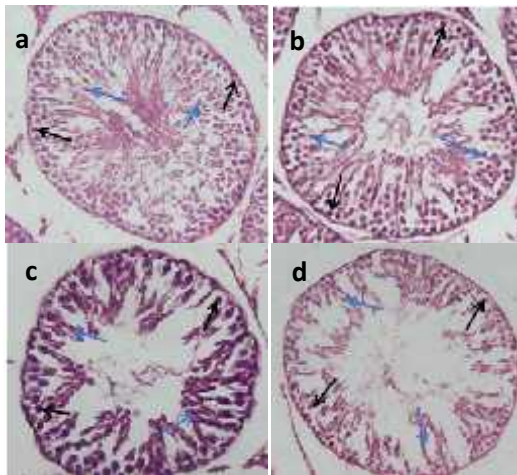
Hasil yang sama, juga didapatkan dari pengamatan jumlah spermatid pada penelitian ini. Tabel 3 menunjukkan rerata jumlah sel spermatid terendah, juga didapatkan pada kelompok tikus yang diinduksi BPA, dengan dosis 400 mg/kgBB per hari, yaitu P3. Rerata tertinggi pada kelompok tikus yang tidak diinduksi BPA dan hanya diberi 1 mL minyak jagung, yaitu K. Pemberian BPA, juga terbukti berpengaruh terhadap jumlah sel spermatid tikus, karena nilai *p* pada uji *One way Anova* <0,05. Hasil uji *Post Hoc* pada tabel 4, menunjukkan terdapat beda signifikan rerata jumlah spermatid secara statistik, pada kelompok kontrol dengan kelompok P2 dan P3.

Tabel 3. Rerata Jumlah Spermatisit Primer

Kelompok	Rerata ±SD	p
K	38,2 ± 3,4	
P1	36,8 ± 3,8	0,001
P2	32,2 ± 6,5	
P3	27,6 ± 1,8	

Tabel 4. Hasil Uji Post Hoc LSD pada Jumlah Rerata Spermatid

Kelompok	K	P1	P2	P3
K	-	0,571	0,025*	0,000*
P1	0,571	-	0,079	0,001*
P2	0,025*	0,079	-	0,074
P3	0,000*	0,001*	0,074	-



Gambar 1. Gambaran Tubulus Seminiferus pada Tiap Kelompok Perlakuan dengan Perbesaran 200x dengan Pewarnaan H.E . Ket.: a. Kontrol, b. P1, c. P2, d. P3; () menunjukkan sel spermatisit primer dan () spermatid.

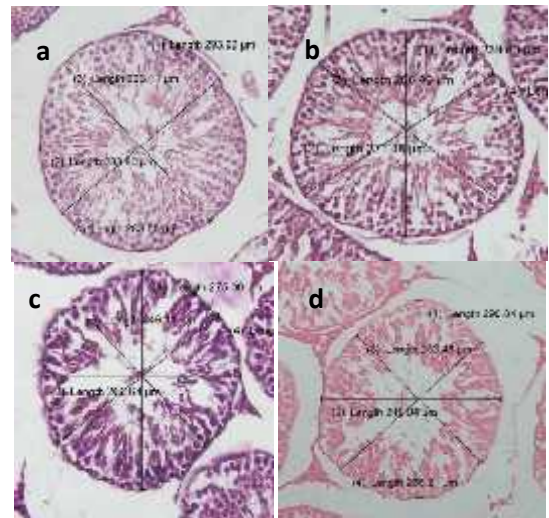
Hasil pengamatan menunjukkan, BPA menyebabkan diameter tubulus seminiferus mengecil. Rerata diameter tubulus seminiferus kelompok tikus yang tidak diinduksi oleh BPA dan diberi 1 mL minyak jagung memiliki diameter tubulus seminiferus tertinggi dibandingkan kelompok P1, P2 dan P3 (Tabel 5). Pemberian BPA, terbukti berpengaruh terhadap diameter tubulus seminiferus tikus yang diinduksi BPA karena nilai *p* pada uji *One Way Anova* <0,05. Hasil uji *Post Hoc* pada tabel 6 menunjukkan adanya beda yang signifikan rerata diameter tubulus seminiferus secara statistik pada kelompok kontrol dengan kelompok P1, P2 dan P3.

Tabel 5. Rerata Diameter Tubulus Seminiferus

Kelompok	Rerata ±SD	p
K	324,7 ± 23,1	
P1	258,4 ± 15,8	0,000
P2	237,8 ± 29,8	
P3	166,8 ± 19,3	

Tabel 6. Hasil Uji Post Hoc LSD pada Jumlah Rerata Diameter Tubulus Seminiferus

Kelompok	K	P1	P2	P3
K	-	0,002*	0,000*	0,000*
P1	0,002*	-	0,267	0,000*
P2	0,000*	0,267	-	0,001*
P3	0,000*	0,000*	0,001*	-



Gambar 2. Gambaran Diameter Tubulus Seminiferus pada Tiap Kelompok Perlakuan dengan Perbesaran 200x dengan Pewarnaan H.E. Ket.: a. Kontrol, b. P1, c. P2, d. P3.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan kelompok tikus yang tidak diinduksi oleh BPA dan diberi 1 mL minyak jagung, memiliki jumlah rerata spermatisit primer tertinggi dibandingkan kelompok lain. Hal ini dikarenakan K merupakan kelompok tikus yang tidak diberi perlakuan apapun, sehingga jumlah rerata spermatisit primer dalam batas normal.

Jumlah rerata spermatisit primer pada kelompok tikus yang diinduksi oleh BPA selama 21 hari menurun, baik secara statistik maupun klinis, dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Susunan sel

spermatisit dalam tubulus tampak tidak penuh. Hasil penelitian menunjukkan BPA menyebabkan penurunan jumlah sel spermatisit primer. Hal ini disebabkan oleh karena BPA dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh.⁸

Menurunnya jumlah sel spermatisit primer, diakibatkan oleh perubahan hormonal dan kerusakan sel-sel spermatogenik akibat dari BPA yang memicu sel menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS merupakan kondisi terjadinya peningkatan kerusakan seluler terkait oksigen. Pada sel yang diberi BPA, terjadi kerusakan berupa sitotoksitas maupun genotoksitas.⁸ ROS melebihi ambang batas pertahanan tubuh, sehingga akan terjadi kerusakan dan apoptosis sel, jaringan dan organ.⁹ Radikal bebas juga dapat mengakibatkan kerusakan DNA spermatozoa pada integritas DNA dalam inti, kemudian terjadi kematian sel.¹⁰

Peretz *et al.* (2011) mengungkapkan bahwa, BPA mengurangi produksi estrogen dan penyebab utama infertilitas pria dan stres oksidatif.¹¹ Hal yang sama diungkapkan oleh Ghazzawy (2011), bahwa BPA merupakan pengganggu endokrin yang bertanggung jawab menginduksi stres oksidatif.¹² BPA dapat menurunkan secara signifikan level H_2O_2 , glutathione, *superoxide dismutase* (SOD), dan sintesis peroksidasi lipid, yang pada akhirnya mendorong stres oksidatif yang terkait dengan infertilitas pria.¹³ Peroksidase lipid mengakibatkan gangguan sintesis dan sekresi GnRH hipotalamus. Kegagalan ini, menyebabkan kegagalan hipofisis melakukan sintesis dan sekresi FSH maupun LH. Selanjutnya, diikuti oleh kegagalan sel Leydig mensintesis testosteron dan sel Sertoli tidak mampu melakukan fungsinya.⁸

Menurut Nanjappa (2012), pemberian BPA dapat menyebabkan penurunan hormon FSH dan LH yang kemudian disusul oleh menurunnya testosteron.¹⁴ Testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel spermatisit. Testosteron berperan pada pembelahan profase meiosis pertama, tahap diakinesis, yaitu pada saat dimulainya pembelahan metaphase. Bila spermatisit mengalami kerusakan, maka akan mengalami degenerasi dan difagositosis oleh sel Sertoli, sehingga jumlah spermatisit menjadi berkurang.¹⁴

Penurunan testosteron ini, menyebabkan turunnya libido seksual, spermatogenesis dan diameter tubulus seminiferus. Penurunan jumlah spermatisit, menyebabkan jumlah spermatid juga menurun karena spermatisit yang mengalami meiosis kedua menjadi spermatid menurun. Hambatan pada satu tahapan spermatogenesis akan berpengaruh terhadap tahapan berikutnya.

Penelitian lain menunjukkan bukti bahwa BPA dapat mengganggu sistem endokrin. Pada penelitian tikus jantan dewasa yang terpajan oral, menunjukkan hilangnya spermatid pada tubulus seminiferus.¹⁵ Penelitian selanjutnya, juga telah mengamati berbagai jenis kelainan pada BPA yang diberikan pada jaringan testis tikus seperti vakuolisasi, degenerasi sel dan pengurangan jumlah spermatid dan spermatozoa.¹⁶

Penelitian lain tentang gambaran histopatologi testis pada tikus yang diberi BPA, didapatkan penurunan jumlah sel Leydig akibat lipid peroksidase sehingga spermatogenesis terhambat. Terhambatnya spermatogenesis menurunkan jumlah sel yang terdapat dalam tubulus seminiferus sehingga ketebalan tubulus seminiferus berkurang.⁸

Sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa penurunan yang terjadi pada diameter tubulus seminiferus diduga dikarenakan terhambatnya sekresi LH di hipofisis anterior yang berfungsi untuk menstimulus pertumbuhan dan jumlah sel Leydig. Sehingga sekresi testosteron berkurang dan menghambat sel Leydig untuk memproduksi hormon testosteron, sehingga terjadi penurunan kadar hormon testosteron. Kurangnya kadar hormon testosteron dan FSH inilah, yang diduga dapat menyebabkan atrofi-atropi tubulus seminiferus.¹⁷

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan hasil yang serupa dengan hasil penelitian ini. Pemberian BPA dan E2 pada tikus wistar jantan prepubertas, dengan dosis 100 mg/kgBB/hari dan 200 mg/kgBB/hari selama 6 minggu secara subkutan, dapat menurunkan kadar hormon testosteron plasma dan testis, LH plasma, dan juga menyebabkan morfologi abnormal, seperti penurunan jumlah sel Leydig. Penelitian lainnya yang menunjukkan bahwa pemberian BPA pada mencit jantan, dengan dosis 100

mg/kgBB/hari selama 21 hari secara intraperitoneal, dapat menurunkan kadar hormon testosteron secara bermakna.¹⁸

Simpulan

Pemberian BPA dapat mempengaruhi histologi tubulus seminiferus tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Peningkatan secara klinis sudah bisa ditemukan pada dosis 100 mg/kgBB dan paling baik pada dosis 400 mg/kgBB. Pemberian BPA berpengaruh terhadap jumlah rerata spermatosit primer dan diameter tubulus seminiferous pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley*, dimulai pada dosis 100 mg/kgBB dan berpengaruh juga terhadap jumlah spermatid yang dimulai dari dosis 200 mg/kgBB.

Daftar Pustaka

1. PPLH. Pendidikan Lingkungan serial global warming. Seloliman: Divisi Penerbitan dan Dokumentasi Pusat Pendidikan Latihan Hidup (PPLH); 2007.
2. Hauser R, Gaskins AJ, Hospital MG, Medical H. Effects of bisphenol-a on male and couple reproductive health. *JHHS*. 2017; 106(4):864–70.
3. Zhang Z, Alomirah H, Cho HS, Li YF, Liao C, Minh TB, et al. Urinary bisphenol-a concentrations and their implications for human exposure in several Asian countries. *J Environmental Science and Technology*. 2011; 45(16):7044–50.
4. Salter E. Bisphenol A. Bisphenol a a known endocrine disruptor, WWF europe. Weyside Park: Head of European Toxics Programme; 2000.
5. Birnbaum LS, Bucher JR, Collman GW, Zeldin DC, Johnson AF, Schug TT, et al. Consortium-based science: The NIEHS's multipronged, collaborative approach to assessing the health effects of bisphenol A. *J Environmental Health Perspectives*. 2012; 120(12):1640–44.
6. Jin P, Wang X, Chang F, Bai Y, Li Y, Zhou R, et al. Low dose bisphenol A impairs spermatogenesis by suppressing reproductive hormone production and promoting germ cell apoptosis in adult rats. *J of Biomedical Research*. 2013; 27(2):135–44.
7. Liu C, Duan W, Li R, Xu S, Zhang L, Chen C, et al. Exposure to bisphenol A disrupts meiotic progression during spermatogenesis in adult rats through estrogen-like activity. *J Cell Death and Disease*. 2013; 4(6):13–44.
8. Gurmeet, I Rosnah, MK Normadiyah, Srijit Das AM. Detrimental effects bisphenol-a on development and functions of the male reproductive system in experimental rats. *JEXCLI Journal*. 2014; 13:151–60.
9. Sikka S. Role of oxidative stress and antioxidant in andrology. *Journal of Andrology*. 2004; 25 (1):2699–722.
10. Tremellen K. Oxidatif stress and male infertility-a clinical perspective. *J Oxford Journal*; 14(3):243–58.
11. Peretz J, Gupta RK, Singh J, Hernandez-Ochoa I, Flaws JA. Bisphenol A impairs follicle growth inhibits steroidogenesis and downregulates rate-limiting enzymes in the estradiol biosynthesis pathway. *Toxicol Sc*. 2011; 119(1):209–17.
12. Ghazzawy IFE, Meleis AE, Farghaly EF, Solamain A. Histological study of the possible protective effect of pomegranate juice on bisphenol-A induced changes of the caput epididymal epithelium and sperms of adult albino rats. *J Alexandria Med*. 2011; 47(2):125–37.
13. Munir B, Qadir A, Tahir M. Negative effects of bisphenol-A on testicular functions in albino rats and their abolitions with *Tribulus terrestris* L. *Brazilian J Pharmaceutical Sciences*. 2017; 53(3):1-19.
14. Nanjappa MK, Simon L, Akingbemi BT. The industrial chemical bisphenol-A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cell. *J Biomol Reproduction*. 2012; 2(3):1-12.
15. Yang Y, Lee S, Kim K, Hong Y. Acute testis toxicity of bisphenol-A diglycidyl ether in *Sprague dawley* Rats. *J Preventive Medicine and Public Health*. 2010; 43(2): 131–37.
16. Qiu Z, Wang L, Zhou Q. Effects of bisphenol A on growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in above-ground organs of soybean seedlings. *Chemosphere*. 2013; 90:1274–80.

17. Yama OE. Sperm qoutient in *Sprague dawley* rats fed graded doses of seed extract of *Momordica charantia*. J Middle East Fertility Society. 2011; 16:151–8.
18. Zang Z, Ji S, Xia T, Huang S. Effects of bisphenol-A on testosterone Levels and Sexual Behaviors of Male Mice. *Advances in Sexual Medicine*. 2016; 06(04):41–9.