

KUALITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus* L.) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper Betle* L.)

Cynthia Wuwungan¹⁾, Edwin de Queljoe¹⁾, Defny S. Wewengkang¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Family planning (KB) programs implemented by the government are still not able to run optimally due to the very low participation of men in contraception. This is due to the unavailability of family planning facilities, which are completely safe and comfortable for men. Betel leaf (*Piper betle* L.) contains alkaloids, flavonoids, triterpenoids or steroids, saponins, and terpenes, which can be benefited as natural antifertility drugs. The purpose of this study was to test the quality of spermatozoa of male white rats wistar strain after giving ethanol extract of betel leaf. This research is experimental with complete randomized design. The subjects were 24 male white rats divided into 4 groups, Group 1 was not treated and act as negative control and Group 2-4 were treated with different doses of 200, 400 and 800 mg, respectively. The treatment was performed for 50 days according to the spermatogenesis cycle. Spermatozoa quality measurements include motility, spermatozoa and morphology. The results showed that giving of betel leaf extract had an influence on the quality of spermatozoa. Based on the results of this study can be concluded that the provision of ethanol extract of betel leaves leads to decreased of spermatozoa quality.

Keywords: Quality of spermatozoa, antifertility, betel leaf (*Piper betle* L.), white rat (*Rattus norvegicus* L.).

ABSTRAK

Program keluarga berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam ber-KB masih sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang benar-benar aman dan nyaman bagi pria. Daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, dan terpen bisa digunakan sebagai obat antifertilitas alami. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji kualitas spermatozoa tikus putih jantan galur wistar setelah pemberian ekstrak etanol daun Sirih. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Subyek penelitian sebanyak 24 ekor tikus putih jantan galur wistar yang terbagi menjadi 4, Kelompok 1 tidak diberi perlakuan dan sebagai kontrol negatif dan Kelompok 2-4 diberi perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 200, 400 dan 800 mg. Perlakuan dilakukan selama 50 hari sesuai siklus spermatogenesis. Pengukuran kualitas spermatozoa meliputi motilitas, jumlah spermatozoa dan morfologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih memiliki pengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirih menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa.

Kata kunci: Kualitas spermatozoa, antifertilitas, Daun Sirih (*Piper betle* L.), Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.)

PENDAHULUAN

Kepadatan penduduk di Indonesia merupakan salah satu permasalahan yang dihadapi oleh pemerintah. Peningkatan jumlah penduduk menunjukkan permasalahan yang mengkhawatirkan, karena tidak diimbangi dengan peningkatan kesejahteraan. Pertambahan jumlah penduduk tidak saja mempersulit usaha peningkatan dan pemerataan kesejahteraan rakyat dibidang pangan, tetapi juga lapangan kerja, pendidikan, kesehatan dan perumahan (Hardjowijoto, 1992).

Program keluarga berencana (KB) yang dilaksanakan oleh pemerintah masih belum dapat berjalan optimal akibat keikutsertaan pria dalam ber-KB masih sangat rendah. Hal ini disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang benar-benar aman dan nyaman bagi pria. Upaya peningkatan keikutsertaan pria dalam ber-KB perlu dilakukan melalui penelitian obat antifertilitas yang dapat digunakan oleh kaum pria. Oleh karena itu, penelitian yang bertujuan untuk eksplorasi bahan alam berasal dari tanaman yang berkhasiat sebagai antifertilitas pria hendaknya mendapat dukungan dana dari pemerintah (Rina, 2014).

Sirih adalah tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis dan telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi potensi tanaman ini, dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa tanaman ini bermanfaat sebagai antifungi, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan antifertilitas (Moeljanto, Mulyono, 2003).

Hal yang melatarbelakangi peneliti untuk melakukan penelitian dengan menggunakan ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle* L.) adalah untuk melihat kualitas spermatozoa. Berbagai penelitian tentang daun Sirih (*Piper betle* L.) telah

dilakukan dan untuk penelitian tentang kualitas spermatozoa setelah pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) peneliti hanya menemukan satu jurnal mengenai penelitian tersebut dengan ekstraksi menggunakan aquades. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian kualitas spermatozoa setelah pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang mencakup motilitas spermatozoa, jumlah spermatozoa, dan morfologi spermatozoa pada tikus jantan.

Daun Sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung 4,2% minyak atsiri yang komponen utamanya terdiri dari *bethel phenol* dan beberapa derivatnya diantaranya *Euganol allypyrocatechine* 26.8 – 42.5%, *Cineol* 2.4 – 4.8%, *methyl euganol* 4.2 – 15.8%, *Caryophyllen* (*Siskuiterpene*) 3 – 9.8%, *hidroksi kavikol*, *kavikol* 7.2 – 16.7%, *Kavibetol* 2.7 – 6.2%, *estragol*, *ilypyrokatekol* 0 – 9.6%, *karvakol* 2.2 – 5.6%, *alkaloid*, *flavonoid*, *triterpenoid* atau *steroid*, *saponin*, *terpen*, *fenilpropan*, *terpinen*, *diastase* 0.8 – 1.8% dan *tannin* 1 – 1.3% (Sastroamidjojo, 2001).

TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR

Tikus adalah salah satu hewan penelitian yang paling banyak digunakan dalam fisiologi reproduksi. Testis dari tikus jantan terdapat pada dua kantung skortum yang dipisahkan, oleh membran tipis yang terletak antara anus dan preputium (Suckow, 2006).

Spermatozoa pada tikus lebih panjang dibandingkan dengan spesies mamalia lainnya, termasuk manusia dan hewan domestik lainnya dan biasa panjangnya sekitar 150-200 mm. Kepala sperma pada tikus berbentuk kail hal ini

sama seperti hewan pengerat lainnya (Krinke, 2000).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado dan Laboratorium Penelitian Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado yang dimulai pada Agustus 2016 – Januari 2017. Jenis penelitian ini ialah eksperimen laboratorium menggunakan tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) berjumlah 24 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdapat 6 ekor tikus. Kelompok 1 tidak diberi perlakuan dan sebagai kontrol. Kelompok 2-4 diberi perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 200, 400 dan 800 mg. Dosis terlebih dahulu dikonversikan dengan menggunakan faktor konversi Laurence. Kelompok I : Tikus putih tidak diberikan perlakuan (Kontrol); Kelompok II : Tikus putih diberi dosis I (200 mg dikonversikan dalam dosis tikus menjadi 3,6 mg) ekstrak daun sirih sebanyak 1 mL setiap hari; Kelompok III: Tikus putih diberi dosis II (400 mg dikonversikan dalam dosis tikus menjadi 7,2 mg) ekstrak daun sirih sebanyak 1 mL setiap hari; dan Kelompok IV : Tikus putih diberi dosis III (800 mg dikonversikan dalam dosis tikus menjadi 14,4 mg) ekstrak daun sirih sebanyak 1 mL setiap hari.

Daun Sirih yang digunakan diambil di Perumahan Minanga, Minahasa. Daun sirih sebanyak 1500 g berat basah dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan dan ditimbang berat basahnya. Daun yang telah dibersihkan dikering anginkan didalam ruangan selama 5 hari. Sampel

kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 200 dan didapatkan serbuk simplisia halus. Daun sirih yang telah menjadi serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan dalam beker gelas kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara serbuk simplisia direndam dalam pelarut etanol 96%, proses maserasi menggunakan etanol sebanyak 2500 mL dan dibiarkan selama 3 hari dengan 3 kali penggantian pelarut. kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang peroleh dievporasi menggunakan rotary evaporator dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 61,12 g.

Pemberian perlakuan pada penelitian ini dilakukan selama 50 hari sesuai dengan siklus spermatogenesis tikus. Masing-masing konsentrasi menggunakan 6 hewan uji. Ekstrak daun sirih diberikan sesuai dosis perlakuan secara oral menggunakan sonde dengan *disposable syringe* satu hari sekali sebanyak 1 mL untuk satu ekor tikus. Setelah 50 hari, masing-masing hewan uji di korbakan untuk diambil organ testisnya. Tikus dibius dengan eter, kemudian dibedah. Diambil testis dan kauda epididimisnya. Tiap tikus diambil testis kanan dan kiri, masing-masing testis dibuat tiga preparat yaitu preparat untuk motilitas, preparat untuk jumlah, dan preparat untuk morfologi spermatozoa.

Pengukuran Parameter

a. Motilitas Spermatozoa

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan dengan segera ketika spermatozoa diambil dari kauda epididimis. Dengan meneteskan setetes sperma pada gelas obyek. Tetesan diusahakan sama besarnya untuk setiap pemeriksaan. Pengamatan dilakukan

dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

b. Jumlah Spermatozoa

Perhitungan jumlah spermatozoa dilakukan dengan cara memipet sperma menggunakan pipet eritrosit sampai skala 0,5. Kemudian sperma diencerkan dengan larutan pengencer sampai tanda 101 (Pengenceran 200x) lalu dikocok menurut angka 8 selama 15-20 menit. Kemudian buang 3 tetes pertama, sebelum ditetaskan ke kamar hitung Neubauer improved. Selanjutnya hitung jumlah spermatozoa. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

c. Morfologi Spermatozoa

Morfologi spermatozoa dapat diamati pada sediaan apusan yang dibuat dengan cara sperma dikering anginkan pada objek gelas kemudian difiksasi dengan dicelupkan ke dalam larutan metanol selama 5 menit kemudian di keringkan. Setelah itu dicelupkan ke dalam larutan safranin 1% selama 5 menit. Kemudian dibilas dengan aquades dan dikering anginkan.

Hasil percobaan yang dianalisis untuk melihat perbedaan yang nyata pada, motilitas spermatozoa, jumlah spermatozoa, dan morfologi spermatozoa dari masing-masing kelompok perlakuan. Analisis data menggunakan SPSS yang meliputi uji normalitas, uji homogenitas, uji parametrik (*one-way ANOVA*) atau non parametrik (Kruskal Wallis).

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Motilitas Spermatozoa

Data hasil perhitungan motilitas spermatozoa pada tikus dihitung dari preparat hewan coba. Perhitungan preparat dilakukan dengan menentukan jumlah spermatozoa yang motil dan non motil pada saat menghitung kepadatan spermatozoa, dan dinyatakan dalam %. Kemudian dihitung rerata motilitas spermatozoa setiap dalam tiap kelompok. Berikut hasil perhitungan motilitas spermatozoa pada setiap kelompok perlakuan.

Tabel 2. Nilai Rata-Rata Motilitas Spermatozoa Tikus Dari Setiap Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Motilitas Spermatozoa (%)
Kontrol	53.33
PS ₂	30.83
PS ₄	30
PS ₈	20

Data perhitungan motilitas spermatozoa tersebut kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan uji parametrik (*one-way ANOVA*) untuk

melihat apakah data rata-rata hasil yang didapatkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol.

ANOVA

Tabel 3. *One Way ANOVA* Hasil Perhitungan Motilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	3569.792	3	1189.931	
Within Groups	12804.167	20	640.208	
Total	16373.958	23		

1.859 .169

Dari hasil pengujian ANOVA pada perhitungan motilitas spermatozoa menunjukkan nilai Sig 0.169 ($p > 0.05$) artinya tidak ada perbedaan secara statistik. Tidak ada perbedaan secara statistik menunjukkan bahwa variasi atau keragaman diantara kontrol, PS₂, PS₄, dan PS₈. Sehingga dari hasil uji statistik ini, tidak ada perbedaan yang bermakna pada motilitas spermatozoa yang diberi perlakuan terhadap motilitas spermatozoa kontrol.

b. Jumlah Spermatozoa

Data hasil perhitungan jumlah spermatozoa pada tikus dihitung dari preparat hewan coba. Perhitungan preparat dilakukan dengan menggunakan kamar hitung neubauer improved. Kemudian dihitung rerata jumlah spermatozoa setiap dalam tiap kelompok. Berikut hasil perhitungan motilitas spermatozoa pada tikus kelompok kontrol, kelompok PS₂, kelompok PS₄, dan kelompok PS₈ dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai Rata – Rata Jumlah Spermatozoa Tikus Dari Setiap Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Jumlah Spermatozoa
Kontrol	156.33
PS ₂	119.67
PS ₄	128
PS ₈	85.33

Dilihat dari perubahan penurunan jumlah spermatozoa pada tikus wistar yang mendapat perlakuan tidak begitu berbeda, bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, untuk itu data penurunan jumlah spermatozoa yang didapat belum bisa

memberikan hasil yang pasti, maka perlu dilakukan pengujian secara statistik untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol.

ANOVA

Tabel 5. *One Way ANOVA* Hasil Perhitungan Jumlah Spermatozoa

	Sum of Squares F	Df	Mean Square
Between Groups	15385.333	3	5128.444
Within Groups	155720.000	20	7786.000
Total	171105.333	23	

Pada uji parametrik (*One Way ANOVA*) diperoleh hasil bahwa data yang diperoleh dapat dilihat dari nilai Sig 0,587 ($p > 0.05$) artinya tidak ada perbedaan secara statistik. Sehingga dari hasil uji ini, tidak ada perbedaan secara bermakna pada

jumlah spermatozoa yang diberi perlakuan dengan jumlah spermatozoa kontrol.

c. Motilitas Spermatozoa

Data hasil pengamatan morfologi spermatozoa pada tikus kelompok kontrol, perlakuan PS₂, perlakuan PS₄, dan perlakuan PS₈ dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai Rata – Rata Morfologi Spermatozoa Tikus Dari Setiap Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Morfologi Spermatozoa (%)
Kontrol	61.67
PS ₂	35.83
PS ₄	25
PS ₈	26.67

Data pengamatan tersebut kemudian diolah secara statistik dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*). Hal ini dilihat dari perubahan penurunan jumlah spermatozoa pada tikus wistar pada kelompok perlakuan tidak begitu berbeda, bila dibandingkan dengan kelompok

kontrol, untuk itu data penurunan jumlah spermatozoa yang didapat belum bisa memberikan hasil yang pasti, maka perlu dilakukan pengujian secara statistik untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol.

ANOVA

Tabel 7. *One Way ANOVA* Hasil Perhitungan Morfologi Spermatozoa

	Sum of Squares	df	Mean Square
	F	Sig.	
Between Groups	5161.458	3	1720.486
3.048	.052		
Within Groups	11287.500	20	564.375
Total	16448.958	23	

Hasil analisis uji parametrik (*One Way ANOVA*) menunjukkan hal yang sama seperti pada motilitas dan jumlah spermatozoa yaitu penurunan morfologi spermatozoa yang terjadi tidak berbeda nyata dengan hasil 0.052 ($p > 0.05$), baik antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

triterpenoid atau steroid, saponin, terpen, fenilpropan, terpinen, diastase 0.8 – 1.8% dan tannin 1 – 1.3% (Sastroamidjojo, 2001).

PEMBAHASAN

Spermatozoa yang dilepaskan dari testis masuk ke dalam epididimis belum dapat dikatakan matang oleh karena belum motil dan belum dapat dipergunakan untuk membuahi ovum (fertil). Proses pemasakan spermatozoa terjadi dalam epididimis melalui tahap konsentrasi dan pematangan.

Menurut Akbar (2010) senyawa antifertilitas meliputi senyawa golongan steroid, alkaloid, isoflavonoid, triterpenoid dan xanton. Sumastuti (1994) dalam penelitiannya mengatakan golongan terpen dan minyak atsiri bekerjanya tidak pada proses spermatogenesisnya, tetapi pada proses transportasi sperma dapat menggumpalkan sperma sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup sperma, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat tercegah. Hal ini yang dapat menjadi penyebab menurunnya motilitas spermatozoa.

Motilitas spermatozoa tikus dalam penelitian ini rata-rata mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan oleh kandungan pada daun Sirih yaitu alkaloid, flavonoid,

Parameter selanjutnya adalah perhitungan jumlah spermatozoa dan morfologi spermatozoa. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa terjadinya penurunan

namun jika diuji statistik tidak berbeda nyata ($p > 0.05$). Penurunan ini terjadi dikarenakan kandungan senyawa dari daun Sirih yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, terpen, fenilpropan, terpinen, diastase 0.8 – 1.8% dan tannin 1 – 1.3% (Sastroamidjojo, 2001). Menurut Kellis dan Vickery (1984) mengatakan bahwa, flavonoid yang disintesis oleh hampir seluruh dunia tumbuhan, dapat menghambat enzim aromatase. Dengan dihambatnya enzim tersebut yaitu yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen, maka jumlah androgen (testosteron) akan meningkat. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis tidak melepaskan FSH (Follicle Stimulating Hormone) dan atau LH (Luteinizing Hormone); dengan demikian akan menghambat spermatogenesis.

Saponin yang terdapat dalam ekstrak daun belimbing waluh (Nandari, 2006), ekstrak buah pare (Muchtarmah, 2009) serta ekstrak daun pudding (Elya *et al*, 2011) dilaporkan dapat meningkatkan kadar testostosterone dalam darah. Meningkatnya kadar testostosterone menyebabkan terjadinya mekanisme umpan balik terhadap hipotalamus dan hipofisis. Testosteron akan menghambat hipotalamus untuk menghasilkan GnRh (Gonadotropin Releasing Hormone) dan menghambat hipofisis anterior untuk menghasilkan LH, penurunan LH menyebabkan menurunnya kadar testostosterone dan penurunan testostosterone dapat menyebabkan atrofi epididimis.

Dari penjelasan diatas, terlihat bahwa senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak daun sirih berpengaruh baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap keseimbangan hormonal tubuh, khususnya yang bertanggung jawab dalam

menstimulasi proses spermatogenesis yaitu testosteron, Luteinizing Hormone, Follicle Stimulating Hormone, estrogen dan Growth Hormone (Guyton, Hall, 2006).

Ketidakseimbangan hormon-hormon ini dapat menurunkan bahkan dapat membuat sampai terjadinya proses spermatogenesis, sehingga infertilitas (Guyton, Hall, 2006). Terganggunya proses spermatogenesis juga akan berpengaruh terhadap motilitas, jumlah dan morfologi spermatozoa.

Dari hasil dan pembahasan diatas, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun sirih berpotensi sebagai agen kontrasepsi pria karena dapat menekan produksi sperma dan dapat menurunkan kualitas dari spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle* L.) memiliki pengaruh terhadap motilitas, morfologi, dan jumlah spermatozoa dari tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) meskipun secara statistik dengan menggunakan uji *One way ANOVA*, hasil pengujian tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada taraf uji 0,05 antara kelompok kontrol, dosis PS2, dosis PS4 dan dosis PS8.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press, Jakarta.
- Elya B., Kusmana D., Krinalawaty N. 2010. Kualitas Spermatozoa dari Tanaman Polycias Guifoylei. *Makara Sains*. **14 (1): 51-56**

- Guyton AC., Hall J E. 2006. *Textbook of Medical Physiology 11th Edition*. Elsevier, Philadelphia.
- Hardjowijoto S. 1992. *Kontrasepsi Mantap Pria*. Seminar KB Mutakhir, Surabaya.
- Ilyas S. 2007. *Azoospermia dan Pemulihannya Melalui Regulasi Apoptosis Sel Spermatogenik Tikus (Rattus sp) Pada Penyuntikan Kombinasi TU & MPA*. Disertasi
- Krinke G. 2000. *The Laboratory Rat*. Academic Press, San Diego
- Muchtaromah B. 2009. *Potensi Ekstrak Buah Pare (Momordica charantia L) Terhadap Spermatogenesis Mencit (Mus musculus)*. Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus. **3D (57-60)**.
- Moeljanto RD., Mulyono. 2003. *Khasiat & manfaat daun sirih (obat mujarab dari masa ke masa)*. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Nandari R. 2006. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap Kadar Testosteron Bebas dan Libido Tikus Jantan Galur Wistar*. Prodi Magister Ilmu Biomedik, UNDIP.
- Novi P, Siti M, M. Amrun. 2015. Pengaruh Ekstrak Metanol, Fraksi N-Heksana dan Fraksi Metanol Biji Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. **3 (1) : 39-43**.
- Rina D. 2014. Potensi Antifertilitas Ekstrak Teh Hitam Pada Mencit (*Mus musculus*L.) Jantan. *Jurnal Sainstek*. **6 (2) : 181-188**.
- Sastroamidjojo, S. A. *Obat Asli Indonesia*. PT. Dian Rakyat, Jakarta.
- Suckow, M. A., Steven, H. W., Craig, L. F. 2006. *The Laboratory Rat*. Academic Press, London.