



**UJI AKTIVITAS SPERMATOGENESIS EKSTRAK ETANOL  
JAHE GAJAH (*Zingiber officinale* Rosc. Var. *officinarum*) ASAL  
KABUPATEN ENREKANG TERHADAP MENCIT (*Mus  
musculus*) JANTAN**

***SPERMATOGENESIS ACTIVITY TEST OF ETANOL RIMPANG  
JAHE GAJAH (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) FROM  
ENREKANG DISTRICT AGAINST MENCITES (*Mus musculus*)***

**Rizki Amalia<sup>1</sup>, Hasyim Bariun<sup>1</sup>, Sitti Fauziah Noer<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>) Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar  
Email: ohrizki09@gmail.com

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) dosis 22,4 mg/20 g BB asal kabupaten Enrekang terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan. Ekstrak etanol rimpang jahe gajah diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah dilakukan dengan menghitung nilai motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoid mencit jantan. Hasil penelitian aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah dengan dosis 22,4 mg/20 g BB menunjukkan nilai rata-rata motilitas spermatozoid mencit jantan dengan kategori 0, 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 33,914%; 26,54%; 22,982% dan 16,564%, sedangkan setelah pemberian Na.CMC 1% berturut-turut adalah 7,99%; 7,71%; 35,06% dan 49,24%. Nilai viabilitas spermatozoid hidup pada mencit yang diberi ekstrak rata-rata 33,86%, sedangkan kelompok kontrol sebesar 90,58%. Nilai morfologi spermatozoid mencit yang diberi ekstrak memiliki nilai morfologi abnormal yaitu rata-rata 71,38%, sedangkan kelompok kontrol yaitu rata-rata 31,694%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah dengan dosis 22,4 mg/20 g BB asal Kabupaten Enrekang berpengaruh dalam menurunkan aktivitas spermatogenesis berdasarkan nilai motilitas (gerakan) spermatozoid kategori 3 diperoleh 16,564% lebih kecil dari normal fertil ( $\geq 40\%$ ); viabilitas spermatozoid (hidup) sebesar 15,10% yang masih kurang dari normal fertil (28,57%); dan morfologi spermatozoid abnormal yaitu 71,38% jauh lebih besar dari 20% menunjukkan infertil.

**Kata kunci :** Mencit; Morfologi; Motilitas; Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*); Spermatozoid; Viabilitas.

**ABSTRACT**

The aim of this research is to determine the spermatogenesis activity of ethanol extract of elephant ginger rhizomes (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) at dose 22,4 mg/20 g BB from Enrekang Regency againts male mice (*Mus musculus*). Ethanol extract of elephant ginger rhizomes was extracted by maceration using 96% ethanol solvent. Testing the spermatogenesis activity of ethanol extract of elephant ginger rhizomes was carried out by calculating the motility, viability and morphological values of male mice spermatozoids. The results of the research on the activity of spermatogenesis of ethanol extract of elephant ginger rhizomes at dose 22,4 mg/20 g BB showed that the average motility value of male mice spermatozoids with categories 0, 1, 2 and 3 respectively was 33,914%; 26,54%; 22,982% and 16,564%, while after the administration of Na.CMC 1%

respectively was 7,99%; 7,71%; 35,06% and 49,24%. The viability value of live spermatozoids in mice given the extract averaged 33,86%, while the control group was 90,58%. The morphological value of mice spermatozoids given the extract had an abnormal morphological value of 71,38% on average, while the control group was an average of 31,694%. This shows that the administration of ethanol extract of elephant ginger rhizomes at dose 22,4 mg/20 g BB from Enrekang Regency has an effect in reducing spermatogenesis activity based on the motility (movement) value of category 3 spermatozoids obtained 16,564% smaller than normal fertile ( $\geq 40\%$ ); spermatozoids (live) viability of 15,10% which is still less than normal fertile (28,57%); and the morphology of abnormal spermatozoids which is 71,38% much greater than 20% indicating infertile.

**Keywords:** Mice; Morphology; Motility; Elephant Ginger Rhizome (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*); Spermatozoids; Viability.

## PENDAHULUAN

Jahe gajah merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat. Rimpang jahe gajah banyak digunakan pada pengolahan makanan sebagai bumbu masak. Selain digunakan sebagai bumbu masak, rimpang jahe juga digunakan dalam pengobatan tradisional. Rimpang jahe di Indonesia digunakan secara tradisional untuk mengobati bengkak, iritasi, muntah, flu, sebagai peluruh kentut, stimulan, peluruh haid, dan peluruh air liur (Badan POM RI, 2010).

Rimpang jahe banyak digunakan sebagai obat tradisional karena banyak mengandung 1-2% minyak atsiri, 5-8% zat resin, tepung dan getah. Kandungan kimia jahe merah bervariasi, ditentukan oleh lokasi penanaman. Komposisi minyak atsiri dalam rimpang jahe dikarakterisasi dengan tingginya persentasi kandungan hidrokarbon sesquiterpen seperti  $\alpha$ -zingiberen, ar-curcumene  $\beta$ -bisabolene dan  $\beta$ -sesquiphellandrene (Evans, 2009).

Senyawa arginin yang terkandung dalam jahe gajah sangat berpengaruh terhadap aktivitas reproduksi. Arginin adalah senyawa yang berupa asam amino non-esensial berperan dalam sistem ketahanan tubuh dan imunitas sel. Selain itu, arginin juga berperan aktif dalam proses metabolisme dan pembentukan spermatozoid (spermatogenesis) (Srivastava *et al.*, 2006).

Pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah dengan dosis 22,4 mg/20 g BB memberikan efek terhadap fertilitas mencit (*Mus musculus*) jantan dan betina yaitu menurunkan jumlah anak sepelahiran (Wahdania, 2018). Berdasarkan hasil penelitian Mukarrama (2019), menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) dengan dosis 22,4 mg/20 g BB terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan dan betina menunjukkan efek antifertilitas. Berdasarkan hasil penelitian Syafira (2019), menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) dengan dosis 22,4 mg/20 g BB terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan menunjukkan efek penurunan kesuburan atau efek antifertilitas.

Spermatogenesis merupakan suatu proses perkembangan sel-sel spermatogenik yang akan membelah beberapa kali dan akhirnya berdiferensiasi menghasilkan spermatozoa. Sel-sel spermatogenik terdiri atas spermatogonium, spermatosit primer, spermatosit sekunder, dan spermatid yang tersebar dalam empat sampai delapan lapisan yang menempati ruangan antara lamina basalis dan lumen tubulus (Hess *et al.*, 2008).

Secara umum uji efek fertilitas dilakukan menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus*). Penggunaan mencit sebagai hewan uji karena memiliki banyak keunggulan khususnya digunakan dalam penelitian biologi, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penangannya (Malole, dkk., 1989).

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa jahe gajah berpengaruh terhadap aktivitas reproduksi hewan uji mencit. Oleh karena itu, perlu dilakukannya penelitian untuk mengetahui aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah yaitu apakah rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) dengan dosis 22,4 mg/20 g BB asal kabupaten Enrekang memiliki aktivitas spermatogenesis terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) dengan dosis 22,4 mg/20 g BB asal kabupaten Enrekang terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan.

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan.

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain, ayakan mesh 44, alumunium foil, bejana maserasi, blender kering, cawan porselin, cotton bud, Erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, kamar hitung Improved Neubauer, labu tentukur (Iwaki), lumpang dan alu, mikroskop digital, oven, pipet leukosit, *rotary evaporator* (Ika®), spoit 1 cc, timbangan gram (Ohaus), dan timbangan hewan (Barkel).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain aquades (H<sub>2</sub>O), etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 96%, larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%, larutan natrium karboksimetil selulosa (Na.CMC) 1%, larutan Eosin, mencit (*Mus musculus*) jantan, dan rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*).

### **B. Penyiapan Sampel**

#### **1. Pengambilan Sampel**

Sampel Rimpang Jahe gajah diperoleh dari (*Zingiber officinale* Rosc. var. *rubrum*) diperoleh dari Desa Belalang Kecamatan Baraka, Kabupaten Enrekang, Provinsi Sulawesi Selatan, Lintang Selatan (LS) 3° 34' 53. 4792" Bujur Timur (BT) 119° 48' 22.6476", 583 mdpl.

#### **2. Pengolahan Sampel**

Sampel rimpang jahe gajah yang telah dikumpulkan, dicuci bersih dari pasir dan kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air bersih yang mengalir dan ditiriskan. Sampel yang telah disortasi basah ditimbang, kemudian diiris tipis-tipis dan dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven selama 30 jam pada suhu 40°C. Sampel kering, ditimbang kemudian diserbukkan menggunakan blender, lalu diayak dengan ayakan mesh 44 sehingga diperoleh serbuk simplisia rimpang jahe gajah.

#### **3. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah Secara Maserasi**

Proses pembuatan ekstrak etanol rimpang jahe gajah di dalam penelitian ini dilakukan secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia rimpang jahe gajah ditimbang 500 mg, dimasukkan ke dalam bejana maserasi, dibasahi dengan pelarut etanol 96%, dibiarkan selama ±15 menit, ditambahkan pelarut etanol 96% hingga simplisia terendam sebanyak 3000 mL. Bejana maserasi ditutup dan disimpan selama 3 x 24 jam di tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung sambil sesekali diaduk. Setelah 3 x 24 jam, disaring untuk memisahkan ekstrak dari ampasnya, kemudian ampas dimaserasi sebanyak dua kali dengan menggunakan cairan penyari etanol 96% (1000 mL). Ekstrak cair yang diperoleh dikumpulkan lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental lalu ditimbang untuk menghitung rendemen.

#### **4. Pembuatan Larutan Koloidal Na.CMC 1% b/v**

Na.CMC ditimbang sebanyak 1 g lalu dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam lumpang yang berisi 10 mL aquades panas (suhu 70°C), sambil diaduk hingga terbentuk larutan koloid yang homogen, kemudian dimasukkan dalam labu tentukur dan dicukupkan volumenya dengan aquades hingga 100 mL.

## 5. Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah

Ekstrak etanol rimpang jahe gajah ditimbang sesuai dosis 22,4 mg/20 g BB mencit yaitu 3360 mg atau 3,36 g, dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan larutan koloidal Na.CMC 1% sedikit demi sedikit sampai 50 mL, diaduk hingga homogen dan dipindahkan ke dalam labu tentukur 100 mL. Kemudian lumpang dibilas dengan larutan koloidal Na.CMC 1% dimasukkan ke labu tentukur dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas.

### C. Pemilihan, Penyiapan dan Perlakuan Hewan Uji

#### 1. Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan 10 ekor dengan bobot 20-30 g, berbadan sehat dan diadaptasikan selama 7 hari untuk penyesuaian fisiologi dari suatu organisme terhadap suatu lingkungan baru yang akan dimasukinya.

#### 2. Penyiapan Hewan Uji

Disiapkan 10 ekor mencit jantan dan dibagi 2 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok hewan uji terdiri dari 5 ekor mencit jantan.

#### 3. Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Sebelum perlakuan, mencit jantan tidak diberi pakan selama 8 jam, kecuali air. Perlakuan diberikan secara oral ekstrak etanol rimpang jahe gajah menggunakan sonde lambung tiap hari selama 14 hari. Setiap kelompok mempunyai perlakuan yang berbeda yaitu:

- Kelompok 1 :
  - 5 ekor mencit jantan.
  - Mencit jantan diberikan suspensi ekstrak etanol rimpang jahe gajah secara oral dosis 22,4 mg / 20 g BB atau 3,36 g/30 g BB/1 mL tiap hari selama 14 hari.
- Kelompok 2 :
  - 5 ekor mencit jantan
  - Mencit jantan diberikan Na.CMC 1 % secara oral 1 mL/30 g BB tiap hari selama 14 hari sebagai kontrol negatif.

#### 4. Pengambilan Sperma Mencit

Mencit jantan pada masing-masing kelompok dieuthanasia nyawanya dengan cara dislokasi leher dan dibedah. Sperma diambil dari 2 (dua) buah testes dan diletakkan di cawan petri yang telah berisi 2 ml NaCl 0,9% atau 1 buah testis/1 mL NaCl 0,9%, kemudian testes dicacah menjadi potongan-potongan kecil, diaduk hingga homogen, dibuat sediaan dan siap untuk diamati.

#### 5. Pengamatan dibawah mikroskop (pengujian kualitas Sperma)

##### a) Motilitas (Gerakan) Spermatozoid

Suspensi spermatozoid dalam NaCl 0,9% dipipet sebanyak 2  $\mu$ L dan diletakkan di atas kamar hitung Neubauer yang di tutup dengan gelas objek, diamati di bawah mikroskop digital dengan pembesaran 10x40 dan direkam dengan kamera optilab yang dihubungkan dengan laptop. Jumlah spermatozoid yang motil dihitung berdasarkan kriteria yang dikeluarkan WHO ada 4 kategori (WHO, 1988).

##### b) Viabilitas Spermatozoid (Hidup)

Suspensi spermatozoid dalam NaCl 0,9% dipipet sebanyak satu tetes, kemudian diletakkan pada gelas objek, spermatozoid tersebut difiksasi dengan formalin 2% dalam aquades selama 10 menit lalu dibuat apusan. Setelah kering lalu diberi pewarna Eosin 2% dalam aquades selama 15 menit kemudian dibilas dengan aquades dan diamati mikroskop dengan pembesaran (10 x 40) dan difoto dengan kamera optilab yang dihubungkan dengan laptop. Kriteria spermatozoid yang hidup tidak berwarna sedangkan spermatozoid yang mati berwarna, hasilnya dinyatakan dalam persen.

Dianggap abnormal bila jumlah yang mati  $\geq 28,5\%$

n = Jumlah spermatozoid mati atau hidup

N = Jumlah Spermatozoid mati + hidup (total hitung)

$$\% \text{ mati atau hidup} = \frac{n}{N} \times 100\%$$

c) Morfologi Spermatozoid

Pengamatan morfologi spermatozoid dilakukan dengan sediaan apusan spermatozoid yang diwarnai dengan Eosin 2% dan pengamatan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x10 dan difoto dengan kamera optilab yang dihubungkan dengan laptop.

Kriteria morfologi abnormal:

1. Kepala apabila terlalu besar, terlalu kecil, terlalu panjang, dibandingkan dengan normal.
2. Ekor apabila tidak ada, ada 2 ekor, ekor pendek, ekor tergulung.

Dianggap abnormal bila memenuhi kriteria 1 atau 2, artinya apabila ada spermatozoid yang memiliki ke-2 kriteria dihitung 1 saja.

n = Jumlah spermatozoid abnormal

N = Jumlah total spermatozoid (normal + abnormal)

$$\% \text{ spermatozoid abnormal} = \frac{n}{N} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Penimbangan Sebelum dan Sesudah Dikeringkan serta % Susut Pengerangan Sampel Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*)

Sampel	Dikeringkan		Susut Pengerangan (%)
	Sebelum (g)	Sesudah (g)	
Rimpang Jahe Gajah	5.200	2.800	46,15

Simplisia rimpang jahe gajah sebanyak 500 g diekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan ekstrak sebanyak 47,21 g. Hasil rendamen ekstrak etanol rimpang jahe gajah yang diperoleh dapat di lihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*)

Sampel	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Rendamen Ekstrak (%)
Rimpang Jahe Gajah	500	47,21	9,44

Penelitian ini menggunakan mencit jantan yang diberi ekstrak etanol rimpang jahe gajah secara per oral, setelah diberi perlakuan dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 3. Data Motilitas Spermatozoid Mencit (*Mus musculus*) Jantan dengan Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*)

Ekstrak Jahe Gajah 22.4 mg/20 g BB	Motilitas								Σ Hitung	...../mL NaCl 0,9%
	0		1		2		3			
	Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%		
I	25	36,77	18	26,5	15	22,06	10	14,71	68	13.600.000
II	28	36,84	21	27,6	17	22,37	10	13,16	76	15.200.000
III	21	26,58	22	27,8	20	25,32	16	20,25	79	15.800.000

IV	30	35,29	19	22,4	21	24,71	15	17,65	85	17.000.000
V	30	34,09	25	28,4	18	20,45	15	17,05	88	17.600.000
<b>Rata-rata</b>	<b>26,8</b>	<b>33,914</b>	<b>21</b>	<b>26,54</b>	<b>18,2</b>	<b>22,982</b>	<b>13,2</b>	<b>16,564</b>	<b>79,2</b>	<b>15.840.000</b>

Tabel 4. Data Motilitas Spermatozoid Mencit (*Mus musculus*) Jantan dengan Pemberian Kontrol Negatif Na.CMC 1%

Kontrol (-) Na.CMC 1%	Motilitas								Σ Hitung	...../mL NaCl 0,9%
	0		1		2		3			
	Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%		
I	14	9,15	10	6,54	45	29,41	84	54,9	153	30.600.000
II	11	7,28	15	9,93	55	36,42	70	46,36	151	30.200.000
III	7	4,49	14	8,97	55	35,26	80	51,28	156	31.200.000
IV	15	10	10	6,67	60	40	65	43,33	150	30.000.000
V	14	9,03	10	6,45	53	34,19	78	50,32	155	31.000.000
<b>Rata-rata</b>	<b>12,2</b>	<b>7,99</b>	<b>11,8</b>	<b>7,71</b>	<b>53,6</b>	<b>35,06</b>	<b>75,4</b>	<b>49,24</b>	<b>153</b>	<b>30.600.000</b>

Keterangan :

Kategori 0 : Spermatozoid tidak bergerak sama sekali

Kategori 1 : Spermatozoid bergerak lambat

Kategori 2 : Spermatozoid bergerak ke depan dengan kecepatan sedang atau berputar-putar

Kategori 3 : Spermatozoid bergerak lurus ke depan

Tabel 5. Data Viabilitas Spermatozoid Mencit (*Mus musculus*) Jantan dengan Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*)

Ekstrak Jahe Gajah 22.4 mg/20 g BB	Viabilitas				Σ M + H	...../mL NaCl 0,9%
	Mati (M)		Hidup (H)			
	Σ	%	Σ	%		
I	42	68,85	19	31,15	61	12.200.000
II	38	65,52	20	34,48	58	11.600.000
III	41	63,08	24	36,92	65	13.000.000
IV	40	64,52	22	35,48	62	12.400.000
V	44	68,75	20	31,25	64	12.800.000
<b>Rata-Rata</b>	<b>41</b>	<b>66,14</b>	<b>21</b>	<b>33,86</b>	<b>62</b>	<b>12.400.000</b>

Tabel 6. Data Viabilitas Spermatozoid Mencit (*Mus musculus*) Jantan dengan Pemberian Kontrol Negatif Na.CMC 1%

Kontrol (-) Na CMC 1%	Viabilitas				Σ M + H	...../mL NaCl 0,9%
	Mati (M)		Hidup (H)			
	Σ	%	Σ	%		
I	15	10,71	125	89,29	140	28.000.000
II	20	12,9	135	87,1	155	31.000.000
III	13	8,28	144	91,71	157	31.400.000
IV	14	8,59	149	91,41	163	32.600.000
V	10	6,62	141	93,38	151	30.200.000
<b>Rata-Rata</b>	<b>14,4</b>	<b>9,42</b>	<b>139</b>	<b>90,58</b>	<b>153,2</b>	<b>30.640.000</b>

Tabel 7. Data Morfologi Spermatozoid Mencit (*Mus musculus*) Jantan dengan Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*)

Morfologi	Σ
-----------	---

Ekstrak Jahe Gajah 22.4 mg/20 g BB	Abnormal (A)		Normal (N)		A + N	...../mL NaCl 0,9%
	Σ	%	Σ	%		
I	14	73,68	5	26,32	19	3.800.000
II	16	69,57	7	30,43	23	4.600.000
III	13	68,42	6	31,58	19	3.800.000
IV	11	78,57	3	21,43	14	2.800.000
V	10	66,67	5	33,33	15	3.000.000
<b>Rata-Rata</b>	<b>12,8</b>	<b>71,38</b>	<b>5,2</b>	<b>28,62</b>	<b>18</b>	<b>3.600.000</b>

Tabel 8. Data Morfologi Spermatozoid Mencit (*Mus musculus*) Jantan dengan Pemberian Kontrol Negatif Na.CMC 1%

Kontrol (-) Na CMC 1%	Morfologi				Σ A + N	...../mL NaCl 0,9%
	Abnormal (A)		Normal (N)			
	Σ	%	Σ	%		
I	8	34,78	15	65,22	23	4.600.000
II	5	26,32	14	73,68	19	3.800.000
III	9	34,62	17	68,38	26	5.200.000
IV	11	35,48	20	64,52	31	6.200.000
V	6	27,27	16	72,73	22	4.400.000
<b>Rata-Rata</b>	<b>7,8</b>	<b>31,694</b>	<b>16,4</b>	<b>68,306</b>	<b>24,2</b>	<b>4.840.000</b>

## PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe gajah yang diperoleh dari Desa Belalang, Kecamatan Baraka, Kabupaten Enrekang, Provinsi Sulawesi Selatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas spermatogenesis ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*) dengan dosis 22,4 mg/20 g BB asal kabupaten Enrekang terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan.

Proses ekstraksi secara maserasi dilakukan untuk menghindari kerusakan dari sebagian senyawa yang tidak tahan panas. Selain itu senyawa flavonoid juga mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Perendaman sampel dengan pelarut akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel yang diakibatkan oleh adanya gaya difusi. Semakin lama waktu kontak antara pelarut dengan sampel, maka akan semakin banyak pula senyawa metabolit sekunder yang terekstrak. Mekanisme penyarian senyawa dengan metode maserasi yaitu pada perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Naufal, 2017; Rahayu, 2015).

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% karena etanol konsentrasi 96% tersebut dapat lebih mudah berpenetrasi kedalam sel serta mempunyai kemampuan ekstraksi yang lebih baik dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya serta memperoleh hasil rendamen yang tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Etanol dapat menarik sebagian besar senyawa kimia baik polar dan nonpolar. Etanol mampu menarik senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Putri, dkk., 2015).

Menurut penelitian Srivastava, dkk. (2006) di dalam jahe terdapat kandungan khusus arginin yang merupakan prekursor dari *Nitrit Oxide* (NO) endogen. Sifat dasar NO bukan hanya sebagai imunomodulator, vasodilator, atau neurotransmitter, tetapi juga sebagai zat oksidan. Maka ketika kadarnya berlebih dalam tubuh dan sudah tidak dapat dikompensasi maka fungsinya berbalik menjadi membahayakan sel-sel tubuh termasuk spermatozoid.

Penelitian ini menggunakan hewan uji mencit jantan, karena mencit jantan memiliki sistem reproduksi yang terdiri atas sepasang kelenjar kelamin (testis), saluran reproduksi dan kelenjar asesori serta organ kopulasi. Menurut Nalbandov (1990), testis merupakan suatu kelenjar endokrin, karena memproduksi testosteron yang dihasilkan oleh sel *Leydig* yang berpengaruh pada sifat-sifat jantan dan berperan dalam spermatogenesis.

Spermatozoid terdapat di kauda epididimis dalam testis. Kauda epididimis merupakan tempat pematangan spermatozoid sebelum diejakulasikan. 2 buah testis yang diambil diletakkan di dalam 2 mL larutan NaCl 0,9% sehingga 1 mL NaCl 0,9% setara dengan 1 buah testis, karena volume ejakulat mani/sperma mencit kurang dari 1 mL, sedangkan manusia volumenya 2,5 mL-5 mL per sekali ejakulasi (Gandasoebrata, 2001) maka digunakan NaCl 0,9% sebagai medium. Larutan NaCl 0,9% berfungsi untuk mempertahankan daya hidup (viabilitas) spermatozoid di luar tubuh mencit. Larutan NaCl fisiologis digolongkan sebagai bahan pengencer yang sering digunakan karena larutan ini dapat memberikan sifat buffer, mempertahankan pH semen dalam suhu kamar, bersifat isotonis dengan cairan sel, melindungi spermatozoid terhadap cold shock dan penyeimbang elektron yang sesuai (Simbolon, 2013).

Uji motilitas atau pergerakan sperma sendiri memegang peranan penting dalam fertilisasi yaitu sewaktu pertemuannya dengan ovum. Sperma dalam suatu kelompok memiliki kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke satu arah dan membentuk gelombang-gelombang yang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat bergantung pada konsentrasi sperma hidup di dalamnya. Semakin besar pergerakan gelombang yang terjadi, semakin tinggi motilitas dan konsentrasi sperma (Widhyari, dkk, 2015).

**Motilitas**, berdasarkan hasil penelitian yang dapat dilihat pada tabel 3 dan 4, pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah dengan dosis 22,4 mg/20 g BB pada mencit jantan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah mempengaruhi tingkat motilitas spermatozoid, hal ini terlihat dari pengklasifikasian kategori motilitas spermatozoid dimana terdapat 4 kategori. Kategori pertama yaitu 0 yang berarti sperma tidak bergerak sama sekali dengan rata-rata motilitas sebesar 33,91% kedua yaitu kategori 1 yang berarti sperma bergerak lambat dengan rata-rata motilitas sebesar 26,54% ketiga yaitu kategori 2 yang berarti sperma bergerak kedepan dengan kecepatan sedang atau berputar-putar memiliki rata-rata motilitas 22,98% terakhir yaitu kategori 3 yang berarti sperma bergerak lurus kedepan memiliki jumlah motilitas yaitu 16,56%.

Apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif Na.CMC 1% yang dimana kategori 0 memiliki rata-rata motilitas sebesar 7,99% kategori 1 yang memiliki rata-rata 7,71% kategori 2 sebesar 35,6% dan kategori 3 sebesar 49,24% terlihat bahwa kelompok perlakuan tampak menunjukkan adanya penurunan motilitas spermatozoid dengan gerak lambat dan tidak bergerak, hal ini terlihat dari banyaknya jumlah kategori 0 dan 1 pada kelompok perlakuan tersebut, sedangkan pada kelompok kontrol memiliki kategori 0 dan 1 sedikit. Apabila dibandingkan antara kelompok perlakuan, terlihat adanya penurunan motilitas spermatozoid dengan gerakan lambat dan tidak bergerak sama sekali. Berdasarkan data pada tabel 3 dan 4, terjadi penurunan jumlah spermatozoid pada mencit jantan yang diberi ekstrak etanol rimpang jahe gajah yaitu rata-rata 15.840.000 ekor/1 mL NaCl 0,9% dibandingkan dengan kontrol negatif Na.CMC 1% yaitu rata-rata 30.600.000 ekor/1 mL NaCl 0,9% diperoleh penurunan jumlah spermatozoid sebesar 48,24% akibat pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah dosis 22,4 mg/20 g BB mencit. Menurut Gandasoebrata (2001); Saputri, 2007 dalam Sudatri (2019) dan WHO (1988) spermatozoid normal atau fertil apabila terdapat spermatozoid yang motilitasnya kategori 3 sebesar  $\geq 40\%$ , dengan demikian pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah dosis 22,4 mg/20 g BB mencit menyebabkan motilitas kategori 3 hanya 16,564% spermatozoid sehingga dianggap infertil. Bila kategori 2 dan 3 digabungkan (Ermayanti, N.G.A.M., 2010)

diperoleh motilitas 39,546% spermatozoid yang masih rendah dari normal (40%) atau infertil.

Menurut Soehadi dan Arsyad (1982), energi motilitas spermatozoid berasal dari *middle-piece* yang tersusun dari kumpulan-kumpulan mitokondria yang bertanggung jawab penuh dalam pemecahan substrat eksogen sehingga dihasilkan energi yang kemudian disalurkan ke bagian ekor sehingga menyebabkan ekor dapat bergerak sekaligus pendorong spermatozoid.

Penurunan motilitas spermatozoid disebabkan karena terganggunya permeabilitas membran sperma sehingga menyebabkan terganggunya transpor nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoid untuk pergerakannya. Senyawa alkaloid diduga dapat mengganggu aktifitas enzim ATP-ase pada membran sel spermatozoid dibagian tengah ekor (Kong *et al.*, 1985 dalam Nisa, 2004). Enzim ATP-ase tersebut berfungsi mempertahankan homeostasis internal untuk ion natrium dan kalium. Jika aktivitas enzim ATP-ase terganggu, maka homeostasis ion natrium dan kalium akan terganggu sehingga konsentrasi  $\text{Na}^+$  intrasel meningkat, gradien  $\text{Na}^+$  melintasi membran sel akan menurun sehingga pengeluaran  $\text{Ca}^{2+}$  juga akan mengalami penurunan (Ganong, 2001). Apabila ion  $\text{Ca}^{2+}$  berkurang maka membran akan kehilangan kemampuannya untuk mengangkut bahan-bahan terlarut ke dalam sitoplasma (Salisbury dan Ross, 1995 dalam Haryati, 2003).

Uji viabilitas atau daya hidup spermatozoid merupakan uji kemampuan spermatozoid untuk bertahan hidup pada lingkungan tertentu. Spermatozoid yang hidup akan terlihat transparan atau tidak berwarna. Hal tersebut terjadi karena membran plasma yang bersifat semipermeabel dan tersusun atas lipoprotein dengan kondisi baik dan masih berfungsi secara normal sehingga molekul warna tidak akan menembus ataupun terserap oleh membran. Sedangkan sel spermatozoid yang mati, integritas akrosom pada spermatozoid akan berkurang karena rusaknya permeabilitas membran plasmanya di daerah pangkal kepala yang tidak tertutup akrosoma. Sel spermatozoid yang mati dapat menghisap zat warna karena terjadi kerusakan membran plasma sehingga di bawah mikroskop terlihat berwarna merah (Rizki, *et al.*, 2019).

**Viabilitas**, berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak etanol rimpang jahe gajah (EERJG) terhadap viabilitas spermatozoid hidup dapat dilihat pada tabel 5 dan 6 menunjukkan bahwa apabila dibandingkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok EERJG maka terdapat perbedaan yaitu pada kelompok kontrol negatif memiliki spermatozoid hidup rata-rata 90,58% sedangkan kelompok EERJG spermatozoid hidup rata-rata 33,86%. Terjadi penurunan jumlah spermatozoid sebesar 59,53% akibat pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah dibandingkan dengan kontrol negatif Na.CMC 1% tidak layak sebagai dasar perhitungan viabilitas. Perhitungan spermatozoid yang hidup ialah jumlah rata-rata spermatozoid hidup pada ekstrak etanol rimpang jahe gajah dibagi dengan jumlah rata-rata spermatozoid hidup pada Na.CMC dikali 100%, maka diperoleh viabilitas (hidup) pada ekstrak etanol rimpang jahe gajah sebesar 15,10%. Mengambil perbandingan sperma manusia (Gandasoebrata, R. 2001) bila viabilitas kurang dari 20 juta/mL mani dari 70 juta/mL mani atau kurang dari 28,57% ada kemungkinan mani itu kurang memadai dalam hal fertilitas. Menurut Nuraini, dkk (2012) yang menyatakan bahwa, sperma dianggap normal apabila konsentrasi spermatozoid lebih dari 20 juta per mL semen dan dianggap infertil apabila konsentrasi sperma kurang dari 20 juta per mL semen. Sehingga kelompok mencit yang diiradiasi mengalami kemandulan (infertil), karena konsentrasi sperma kurang dari 20 juta per mL semen.

Penentuan perbedaan antara spermatozoid yang hidup dan yang mati didasarkan pada reaksi yang ditunjukkan oleh spermatozoid terhadap penyerapan zat warna yang dapat dilihat pada kepala spermatozoid, apabila kepala spermatozoid transparan dan tidak berwarna maka spermatozoid tersebut hidup dan apabila kepala spermatozoid berwarna

maka spermatozoid tersebut mati. Spermatozoid yang mati akan berwarna kemerahan sedangkan spermatozoid yang hidup akan transparan (tanpa warna). Menurut Arya (2009) dan Fitria (2000) spermatozoid yang hidup cenderung tidak menyerap zat warna dan tetap jernih karena membran plasmanya yang berupa membran dwilapis semipermeabel yang tersusun dari lipoprotein kondisinya masih baik dan masih mampu berfungsi secara normal sehingga tidak dapat ditembus oleh molekul-molekul zat warna atau jika dapat ditembus hanya sedikit.

Uji morfologi spermatozoid sangat perlu dilakukan karena dengan pemeriksaan morfologi dapat diketahui bentuk spermatozoid yang normal dan yang abnormal. Morfologi sangat berpengaruh terhadap pergerakan dan ketahanan spermatozoid. Spermatozoid yang abnormal tidak dapat bergerak dengan sempurna dan tidak dapat bertahan lama, sehingga spermatozoid yang abnormal jarang dapat berhasil melakukan perjalanan yang panjang untuk mencapai tempat fertilisasi (Fitria, 2000). Untuk dapat bergerak secara progresif spermatozoa harus memiliki morfologi yang normal yang disesuaikan dengan fungsinya. Spermatozoid yang sempurna memiliki kepala, leher, bagian tengah dan ekor yang normal tanpa adanya kelainan sehingga dapat meluncur maju dengan gerakan yang sempurna. Apabila terdapat kelainan pada kepala, leher, bagian tengah dan ekor, maka dimungkinkan tidak dapat bergerak secara normal (Nurlaili, 2011).

**Morfologi**, berdasarkan penelitian terjadi penurunan spermatozoid normal dan peningkatan spermatozoid abnormal setelah pemberian (EERJG) dengan rata-rata morfologi abnormal 71,38% dan normal 28,62%, sedangkan pada mencit kontrol negatif Na.CMC 1% memiliki rata-rata morfologi abnormal 31,694% dan morfologi normal spermatozoid rata-rata yaitu 68,306%. Secara umum terjadi penurunan jumlah spermatozoid baik yang diberikan ekstrak etanol rimpang jahe gajah maupun kontrol negatif Na.CMC 1%. Penurunan jumlah spermatozoid pada pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah dosis 22,4 mg/20 g BB mencit dibandingkan dengan kontrol negatif Na.CMC 1% sebesar 25%. Menurut Widiani, 2006 dalam sudatri (2019) apabila terdapat spermatozoa abnormal  $\geq 20\%$ , maka menunjukkan infertil. Menurut Gandasoebrata, R. (2001), jika spermatozoid dengan kelainan buruk atau abnormal lebih besar dari 20% ada kemungkinan fertilitas berkurang dan peningkatan angka spermatozoa abnormal berjalan paralel dengan berkurangnya spermatozoid.

Kesuburan pada pria atau wanita sangat diperlukan dalam proses fertilisasi. Fertilisasi adalah suatu proses penyatuan antara gamet jantan dengan gamet betina sehingga membentuk zigot. Pergerakan sperma menuju tempat pembuahan dibantu oleh adanya gerak antiperistaltik saluran kelamin dan kayuhan silia dari uterus dan oviduk (Akbar, 2010).

## **PENUTUP**

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) dengan dosis 22,4 mg/20 g BB asal Kabupaten Enrekang berpengaruh dalam menurunkan aktivitas spermatogenesis mencit (*Mus musculus*) jantan, meliputi:

- motilitas (gerakan) spermatozoid kategori 3 diperoleh 16,564% lebih kecil dari normal fertil ( $\geq 40\%$ );
- viabilitas spermatozoid (hidup) sebesar 15,10% yang masih kurang dari normal fertil (28,57%);
- dan morfologi spermatozoid abnormal yaitu 71,38% jauh lebih besar dari 20%, hal ini berarti pemberian ekstrak etanol rimpang jahe gajah menyebabkan spermatozoid mencit infertil.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed R.S., Seth V dan Banarjee B.D. 2000. Influence of Dietary Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) on antioxidant defense system in rat: comparison with ascorbic acid, *Indian Journal of Experimental Biology*, 38(6):604-606.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Antifertilitas*. Adabia Press: Jakarta.
- Ali, B.H., Blunden G., Tanira M.O., Nemmar A. 2008. Some Phytochemical, Pharmacological & Toxicological Properties of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A Review of Recent Research. *Food & Chemical Toxicology*. Sultan Qaboos University. Oman
- Arya, Miranti, P. I. 2009. Histopatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol. 5, No.4, 1760-1769.
- Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal, Vol. 5 Edisi I*, Direktorat Obat Asli Indonesia. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.
- Bucak, M.N.O Uysal. 2007. *Effect Of Oxidized Glutathione, Bovine Serum Albumin, Cysteine and Lycopene on the Quality of Oocyte*. 76: 383-390.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depkes RI: Jakarta.
- Dorland N. 2011. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Edisi ke 28. Mahode AA, editor hal 457-507. EGC: Jakarta.
- Ermayanti, N.G.A.M dan N.M.R. Suarni. 2010. Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Perlakuan Infus Kayu Amargo (*Quassia amara* L.) dan Pemulihannya, *Jurnal Biologi XIV (I)* 45-49.
- Evans, C.W. 2009. *Pharmacognosy Trease and Evans*. Saunders Elsevier: London.
- Fitria, L. 2000. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa. *Jurnal Biologi Papua ISSN: 2086-3314*, 25-36.
- Gandasoebrata, R. 2001. *Penuntun Laboratorium Kimia Klinik*. Cetakan ke-10. Penerbit Dian Rakyat: Jakarta.
- Ganong W. F. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 22. EGC. Jakarta. Hal: 441-449.
- Guyton C., Arthur. *Fisiologi Kedokteran*. Alih bahasa Ken Ariata Tengadi. Edisi 7 Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta. 1994: 627-646.
- Haryati. 2003. *Spermatologi*. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair: Surabaya.
- Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran pada Ternak*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Hefni. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus yang terpapar Alletrin. *Skripsi*. Fakultas Teknologi dan Sains. Universitas Islam Negeri. Malang.
- Herdis, M.R. Toelihere, I Supriatna, B. Purwantara dan RTS. Adikara. 2005. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Vol 12, Modified Stems. Roots. Bulbs. Springer International Publishing Switzerland*. New York.
- Hess R.A., L.R. de Franco. 2008. *Spermatogenesis and Cycle of The Seminiferous Epithelium in Molecular Mechanism in Spermatogenesis*. Edited by C.Y. Cheng. *Landes Bioscience and Springer*: London.
- Hidayat, S dan Rodame, M. N. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Hutapea, J. R. 2010. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Edisi I*, 19-20. Bhakti Husada: Jakarta.

- Jolad SD, Lantz RC, Solyom AM, Chen GJ, Bates RB, Timmermann BN. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induced PGE2 production. *J Phytochemistry*. 2004;65:1937-1954.
- Jolad SD, Lantz RC, Chen GJ, Bates RB, Timmermann BN. Commercially processed dry ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPS-stimulated PGE2 production. *Phytochemistry*. 2005;66:1614-1635.
- Kikuzaki, H., and Nakatani, N. 1993. *Antioxidant Effect of Some Ginger Constituents*, *J. Food Sci.*, 58(6), 1407.
- Kusumaningrum, B.D. 2008. *Analisis Vegetasi Epifit di Area Wana Wisata Gonoharjo*: Semarang.
- Kusumuwati, D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Malole, M.B.M., Pramono C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Muhlisah, F. 2005. *Temu-temuan dan Empn-emponan. Budidaya dan Manfaatnya*. Kanisius: Yogyakarta.
- Mukarrama. 2019. Uji Efek Fertilitas Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinarum*) Asal Kabupaten Maros Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan dan Betina. *Skripsi*. Fakultas MIPA Prodi Farmasi Universitas Islam Makassar: Makassar.
- Nalbandov. 1990. *Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia dan Unggas*. Universitas Indonesia Press: Jakarta.
- Naufal, M. 2017. Penentuan Siklus Estrus Pada Kancil (*Tragulus javanicus*) Berdasarkan Perubahan Sitologi Vagina. *Jurnal Veteriner*.
- Nisa. 2004. *Tren dan Paradigma Dunia Farmasi, Industri Klinik Teknologi Kesehatan*. ITB. Bandung.
- Nuraini, Dadang, T., Efy, K., Afifah. 2012. Penyuntikan Ekstrak Biji *Carica papaya* L. Varieta Cibinong pada *Macaca fascicularis* dan kualitas Spermatozoa, serta kadar Thermo Testosteron. *Makora Kesehatan 16 : 9-16*.
- Nurlaili. 2011. Penelusuran Potensi Antifertilitas Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Melalui Skrining Fitokimia. *Jurnal Sains dan Terpana Kimia*.
- Putri, L.W., Umi Y., Siti H. 2015. *Uji Efek Antihyperglikemia Kombinasi Ekstrak Daun Alpukat dan Biji Alpukat (Persea Americana Mill.) terhadap Mencit (Mus musculus) Jantan Swiss Webster yang Diinduksi Aloksan*. Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba. Bandung.
- Rahayu, S., Kurniasih N., Amalia V. 2015. *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami*. Al-Kimiya.
- Raji Y, Udoh US, Mewoyaka OO, Ononye FC, Bolarinwa AF. 2003. Implication of reproductive endocrine malfunction in male antifertiity efficacy of *Azadirachta indica* extract in rats. *Afri. J. Med.Med.Sci* 32:159-165.
- Rizki, et al. 2019. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)*. New York. Ithaca.
- Rosmawani, Yuniwati, Murni. 2007. Ekstraksi Minyak Biji Kapuk Dalam Usaha Pemanfaatan Biji Kapuk Sebagai Sumber Nabati. *Jurnal Teknologi Technoscintia Vol 4 No.2*. Jurusan Teknik Kimia: Institut Sains dan Teknologi AKPRIND Yogyakarta.
- Rugh, R. 1990. *The Mouse: It's Reproduction and Development*. Oxford University Press: New York.

- Rugh, R. 1968. *The Mouse: Its Reproduction and Developmental*. Burgess Publishing Company. pp 1 -23. Minneapolis.
- Rukmana, R. 2000. *Usaha Tani Jahe*, Kanisius: Yogyakarta.
- Sakr S.A. Okdah Y.A dan El-Adly E.K. 2009. Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on Mancozeb Fungicide Induced Testicular Damage in Albino Rats, *Australian Journal of Basic and Applied Science*, 3(2):1328-1333.
- Saputri, A. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) terhadap Motilitas Sperma Mencit Balb/c Jantan, [Karya Tulis Ilmiah], Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Setyawan, B. 2015. *Peluang Usaha Budidaya Jahe*. Pustaka Baru Press: Yogyakarta.
- Simbolon. 2013. *Tren dan Paradigma Dunia Farmasi, Industri Klinik Teknologi Kesehatan*. ITB. Bandung.
- Syafira, S.R. 2019. Uji Efek Fertilitas Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc. var *officinarum*) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Skripsi*. Fakultas MIPA Prodi Farmasi Universitas Islam Makassar: Makassar.
- Soewolo. 2005. *Pengantar Fisiologi Hewan*. Proyek Pengembangan Guru Sekolah Menengah Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan: Jakarta.
- Srivastava, S., Desai P., Coutinho E., Govil G. 2006. Mechanism of Action of L Arginine on The Vitality of Spermatozoa Is Primarily Through Increased Biosynthesis Of Nitric Oxide. *Tata Institute of Fundamental Research*, No 74 Vol. 5.
- Sudatri, Ni Wayan, dkk. 2019. Penurunan Kualitas Sperma Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinjeksi Vitamin C Dosis Tinggi dalam Jangka Waktu Lama. *Journal Metamorfosa* 6 (1): 7-13.
- Sukmaningsih, A.A.Sg.A., Irmayanti, I.G.A.M., Wiratmini, N.I., et al. 2009. Gangguan Spermatogenesis Setelah Pemberian Monosodium Glutamat pada Mencit (*Mus musculus*), *volume 15, Nomor 2, Jurnal Biologi*, 48.
- Sutyarso. W., Busman H., Rahmanisa S. 2016. Pengaruh Protektif dan Kuratif Pemberian Suplemen Jus Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*) terhadap Histologi Tubulus Seminiferus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dewasa Galur Spargue dawley yang Diinduksi Siproteron Asetat. *Journal Agromedicine Unila: Lampung*.
- Suranto, A. 2004. *Khasiat & Manfaat Madu Herbal*. Penerbit Agromedia Pustaka: Tangerang.
- Toelihere, M.R. 1993. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Penerbit Angkasa: Bandung.
- Turner dan Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum edisi keenam*. Airlangga University Press: Surabaya.
- Wahdania. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. var *rubrum*) Asal Kabupaten Maros Terhadap Fertilitas Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Fakultas MIPA Prodi Farmasi Universitas Islam Makassar: Makassar.
- Widhyari, S.D., Esfandiari, A. Dan Wijaya, A. 2015. Tinjauan Penambahan Mineral Zn dalam Pakan Terhadap Kualitas Spermatozoa Pada Sapi *Frisian Holstein* Jantan. *JUPI* 20(1):72-77.
- WHO (World Health Organization). 1988. *Penuntun Laboratorium WHO untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Semen-Getah Servik Terj. dari WHO Laboratory Manual For The Examination of Human Semen and Semen Cervical Mucus Interaction, oleh Tadjudin, M.K*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran. Universitas Depok: Depok.

Yendraliza, *et al.* 2015. In Vivo Fertility Enhancing Activity (Aprodisiac) of Ficus Carica Fruit on Male Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. No 5. Vol. 2.