

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*OCIMUM BASILICUM* L.) TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS*) YANG DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMATE (MSG)

Nur Husnina Desi¹, Dian Kurniasari¹, Muhammad Fadhool Romdhoni¹, Andi Muh. Maulana¹

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Email : nurhusninad@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang : MSG merupakan substansi kristal putih yang digunakan untuk meningkatkan rasa pada makanan. Pemberian MSG dosis tinggi meningkatkan kadar radikal bebas dalam tubuh yang menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa. Kandungan flavonoid pada daun kemangi dapat menetralkan kadar radikal bebas sehingga mencegah penurunan motilitas spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kemangi (*Ocimum basilicum*L.) dalam mencegah penurunan motilitas spermatozoa pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi MSG.

Metode : Penelitian *Laboratory Experimental Post Test Group Only* menggunakan 24 ekor tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 4 kelompok, terdiri dari kelompok I diberi MSG 1.600 mg/kgBB/hari, kelompok II diberi MSG 1.600 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi 150mg/kgBB/hari, kelompok III diberi MSG 1.600 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi 350 mg/kgBB/hari dan kelompok IV diberi MSG 1.600 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi 700 mg/kgBB/hari. Data dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* dan *post hoc LSD*

Hasil : Rerata presentase motilitas spermatozoa pada kelompok I, II, III dan IV sebesar 21,88%; 48,17%; 53,72%; dan 63,05%. Hasil analisis *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok ($p = 0,000$). Uji *post hoc LSD* menunjukkan kelompok II, III dan IV berbeda nyata dengan kelompok I ($p=0,00$). Pada kelompok II dan III juga ditemukan adanya perbedaan nyata dengan kelompok IV ($p=0,04$). Sedangkan kelompok III dengan kelompok II tidak terdapat perbedaan nyata ($p=0,069$).

Kesimpulan : Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memberikan pengaruh dalam mencegah penurunan presentase motilitas spermatozoa tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi MSG.

Kata kunci : motilitas spermatozoa, ekstrak etanol daun kemangi, monosodium glutamat (MSG)

ABSTRACT

Background: MSG is a white crystalline substance used to enhance flavors in foods. Giving high doses of MSG can increase the levels of free radicals in the body causing decreased motility of spermatozoa. The content of flavonoids in basil leaf is able to neutralize free radical levels so as to prevent decreased spermatozoa motility. The aim of this study is to determine the effect of basil extraction (*Ocimum basilicum* L.) to prevent the decrease of sperm motility in white male rats wistar strain that induced by MSG.

Method: Laboratory Experimental Post Test Group Only research using 24 white male rat wistar strain (*Rattus norvegicus*) is divided into 4 groups, consisting of group I is given 1,600 mg/kgBW/day MSG, group II is given 1,600 mg/kgBW/day MSG and ethanol extraction of basil leaf 150 mg/kgBW/day, group III is given 1,600 mg/kgBW/day MSG and ethanol extraction of basil leaf 350 mg/kgBW/day and group IV is given 1,600 mg/kgBW/day MSG and ethanol extraction of basil leaf 700mg/kgBW/day. After treatment, the data are analyzed using *One Way ANOVA* and continued using *post hoc LSD*.

Result: The result of the research shows that there are significant differences between group II, III and IV compare to group I ($p < 0.05$).

Conclusion: Ethanol extraction of basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) may have an effect in preventing a decrease in the percentage of spermatozoa motility of male white rat wistar strain (*Rattus norvegicus*) that induced by MSG.

Keywords: Motility, Spermatozoa, Basil extraction, ethanol 96%, Monosodium Glutamate (MSG)

PENDAHULUAN

Monosodium glutamate (MSG) merupakan substansi kristal putih yang digunakan sebagai bahan tambahan dalam makanan. Kandungan MSG terdiri dari 78% asam glutamat dan 22% dari garam dan air (Kadir RE, 2011). Asam glutamat akan meningkatkan dan memperkuat rasa pada makanan. Rasa menjadi salah satu hal penting dalam memilih makanan, sehingga konsumsi MSG akan dipilih karena akan memberikan rasa lezat pada makanan.

Konsumsi MSG masih dikatakan aman apabila dosis yang dikonsumsi tidak lebih dari 120 mg/kgBB/hari (Food and Drugs Administration. Questions and Answers on Monosodium glutamate (MSG) [Internet], 2012). Tingkat konsumsi terbesar pada tahun 2014 di dunia adalah di Asia, dimana China menempati peringkat pertama dan Indonesia menempati peringkat kedua (IHS Markit. No Title Chemical Economics Handbook Monosodium Glutamate (MSG) [Internet], 2015). Penggunaan MSG di dunia semakin meningkat dari tahun 1995 sampai tahun 2007 dengan konsumsi rata-rata 3-4 g/hari. (Contini M del C, 2017)

Pengaruh MSG paling banyak di diskusikan berkaitan dengan kerusakan saraf pada otak, obesitas, gangguan endokrin, *chinese restaurant syndrome* dan gangguan pada organ reproduksi. Konsumsi MSG dalam dosis tinggi dapat memicu peningkatan radikal bebas dan stres oksidatif yang berkontribusi dalam mekanisme patologi infertilitas. (Agarwal A, 2014)

Infertilitas didefinisikan sebagai suatu penyakit sistem reproduksi yang menyebabkan kegagalan konsepsi pada pasangan yang telah menikah lebih dari 12 bulan, dan melakukan hubungan seksual secara teratur tanpa menggunakan alat kontrasepsi. Setengah dari kasus tersebut disebabkan karena infertilitas pada pria. Kasus infertilitas pada pria sebanyak 30% sampai 40% disebabkan karena faktor lingkungan, peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan kelainan genetik. (Jungwirth A, 2014)

Pemeriksaan penunjang yang mudah dan biasa digunakan menggunakan pemeriksaan analisis

semen. Motilitas menjadi indikator utama dan penting untuk kesuburan. (Badade ZG, 2011)

Daun kemangi memiliki senyawa kimia yaitu minyak atsiri, *flavonoids*, *phenylpropanoids* dan *rosmarinic acid*. Kandungan flavonoid dalam ekstrak daun kemangi berguna sebagai antioksidan yang akan menetralkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan pada spermatozoa. (Khaki A, 2011)

Dari uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak etanol daun kemangi terhadap motilitas spermatozoa yang diinduksi MSG.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post test only with randomized controlled group design*. Hewan coba yang digunakan yaitu 24 ekor tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang memenuhi kriteria inklusi yaitu : tikus jantan galur wistar, umur 6 – 7 minggu, berat badan 150 – 200 g yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing – masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Seluruh tikus diaklimatisasi selama 7 hari dengan perbandingan terang dan gelapnya (12:12jam), pemberian makanan dan minuman diberikan *ad libitum*. Setelah aklimatisasi, hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari, kelompok I hanya diberikan MSG 1.600 mg/kgBB/hari, kelompok II diberikan MSG dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 150mg/kgBB/hari, kelompok III diberikan MSG dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 350mg/kgBB/hari dan kelompok IV diberikan MSG dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 700mg/kgBB/hari selama 14 hari.

MSG yang digunakan berupa MSG *food* yang didapatkan dari PT. Global Chemindo Metagarding Semarang. MSG dilarutkan dengan akuades sebanyak 1 ml dan diberikan secara peroral menggunakan sonde lambung selama 14 hari.

Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) didapatkan dari PT. LANSIDA Yogyakarta. Ekstrak dilarutkan dengan akuadest sebanyak 1 ml dan diberikan secara peroral selama 14 hari.

Pada hari ke-15 tikus dianastesi dengan kloroform 0,5 ml/tikus kemudian dilakukan pembedahan dengan menggunakan minor set. *Cauda epididimis* dipisahkan dan diletakan di cawan petri yang berisi 1ml larutan NaCl 0,9% kemudian di potong - potong menggunakan gunting sampai halus dan diaduk hingga terbentuk suspensi spermatozoa. Suspensi spermatozoa digunakan untuk melakukan pengamatan motilitas spermatozoa.

Motilitas Spermatozoa

Pergerakan spermatozoa dapat dikelompokkan menjadi bergerak secara progresif, non-progresif dan imotil. Spermatozoa yang bergerak secara progresif yaitu spermatozoa yang bergerak aktif, bergerak secara lurus, sedangkan nonprogresif yaitu spermatozoa yang kurang aktif, untuk spermatozoa yang tidak bergerak ternasuk imotil. Jumlah spermatozoa yang motil dinyatakan dalam presentase, ditentukan dengan jumlah spermatozoa yang progresif dibagi dengan jumlah sperma yang progresif, nonprogresif dan imotil dikalikan dengan 100%.

Satu tetes suspense spermatozoa diletakan pada kaca objek kemudian ditutup menggunakan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan Pada 10 lapang pandang yang berbeda diamati kurang lebih 200 sperma pada setiap sampel. Perhitungan spermatozoa progresif ditunjukkan menggunakan presentase.

Analisis Data

Data presentase motilitas spermatozoa antar kelompok dianalisis menggunakan *One Way Anova* kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut post hoc LSD. Nilai $p < 0.05$ digunakan untuk menentukan level signifikansi.

HASIL

Pasangan Kelompok		Sig	Kesimpulan
Kelompok 1 (Kontrol)	K 2	0.000	Signifikan
	K 3	0.000	Signifikan
	K 4	0.000	Signifikan
Kelompok 2 (Dosis 175mg/kgBB)	K 1	0.000	Signifikan
	K 3	0.069	Tidak Signifikan
	K 4	0.000	Signifikan
Kelompok 3 (Dosis 350mg/kgBB)	K 1	0.000	Signifikan
	K 2	0.069	Tidak Signifikan
	K 4	0.004	Signifikan
Kelompok 4 (Dosis 700mg/kgBB)	K 1	0.000	Signifikan
	K 2	0.000	Signifikan
	K 3	0.004	Signifikan

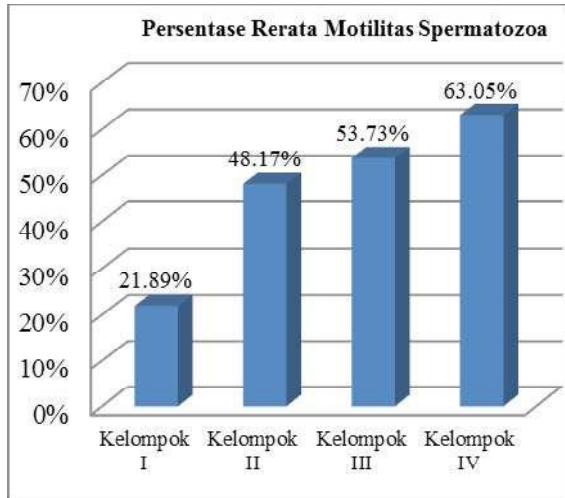
Hasil dari analisis data menunjukkan adanya perbedaan rerata persentase motilitas spermatozoa antara kelompok I dan kelompok II, III dan IV. Kelompok I memiliki rerata presentase motilitas spermatozoa yang lebih rendah dibanding kelompok II, III dan IV.

Rerata presentase motilitas spermatozoa kelompok II, III dan IV lebih tinggi dibanding pada kelompok I. Rerata presentase motilitas pada kelompok I yaitu $21,88 \pm 6,71$, sedangkan pada kelompok II yaitu $48,17 \pm 4,03$, kelompok III yaitu $53,72 \pm 5,11$ dan IV yaitu $63,05 \pm 3,57$.

Perbedaan antar kelompok tersebut diuji menggunakan uji *One Way Anova* dan menunjukkan hasil bermakna secara signifikan karena nilai signifikansi yang didapat yaitu $p = 0.000$ ($p < 0.05$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pemberian ekstrak etanol daun kemangi pada tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi MSG.

Fotomikrograf dari spermatozoa dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1. Diagram batang rerata motilitas spermatozoa



Gambar 1. Diagram hasil pengukuran rerata motilitas spermatozoa pada setiap kelompok.

Keterangan :

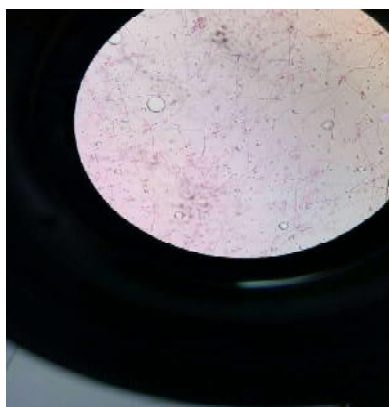
Kelompok I : hanya diberikan MSG 1.600mg/kgBB/hari

Kelompok II : MSG 1.600 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 150 mg/kgBB/hari

Kelompok III :MSG 1.600mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 350mg/kgBB/hari

Kelompok IV :MSG 1.600 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 700 mg/kgBB/hari

Gambar 2. Fotomikrograf spermatozoa dengan perbesaran 400x



Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* LSD untuk mengetahui kekuatan hubungan antar kelompok. Dari hasil analisis dapat dilihat pada tabel 2. Hasil didapatkan pada kelompok II, III dan IV berbeda nyata dengan kelompok I yang hanya diberi MSG $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Pada kelompok II dan III juga ditemukan adanya perbedaan nyata dengan kelompok IV $p = 0,004$ ($p < 0,05$). Sedangkan pada kelompok III dengan kelompok II tidak terdapat perbedaan nyata $p = 0,069$ ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil uji One Way Anovare rerata presentase motilitas spermatozoa pada setiap kelompok.

Kelompok	N	Rata-rata ±SD	Nilai P*
I	6	21,88± 6,71	0,000
II	6	48,17± 4,03	
III	6	53,72± 5.11	
IV	6	63,05± 3.57	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata presentase spermatozoa pada kelompok I, II, III dan IV yaitu 21,88%; 48,17%; 53,72%; dan 63,05%. Rerata persentase motilitas spermatozoa paling tinggi pada kelompok IV dengan nilai reratanya adalah 21.88±6,71, sedangkan rerata presentase terendah pada kelompok I dengan nilai reratanya adalah 21.88±6,71.

Presentase motilitas spermatozoa dikatakan progresif bila presentasenya lebih dari 32% (Vieira M, 2013. Wein J. ALan, 2016). Dari penelitian ini didapatkan bahwa kelompok II, III dan IV memiliki rerata motilitas spermatozoa lebih dari 32%, maka dapat dikatakan bahwa motilitas spermatozoa pada ketiga kelompok tersebut progresif. Sedangkan pada kelompok I rerata motilitas spermatozoa kurang dari 32% sehingga dikatakan bahwa motilitas spermatozoa pada kelompok I tidak progresif.

Hal ini dikarenakan adanya pemberian MSG pada dosis tinggi dapat menimbulkan efek negatif pada sistem reproduksi yaitu dengan meningkatkan risiko penurunan fungsi seksualitas dan menyebabkan infertilitas.(Igwebuik U, 2011)

Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan terdapat penurunan motilitas spermatozoa yang signifikan pada kelompok tikus yang diberi MSG dengan dosis 500 mg/ml dalam 14 hari. Pemberian MSG selama 15 hari juga menunjukkan penurunan presentase spermatozoa pada mencit setelah pemberian MSG dengan dosis 2 g/kgBB. (Haslan MA, 2017)

Pemberian MSG dengan dosis tinggi dapat menimbulkan stress oksidatif dan menyebabkan jumlah ROS dalam tubuh akan meningkat (Ochiogu I, 2015). Membran plasma pada mamalia kaya akan asam lemak tak jenuh ganda sehingga akan lebih rentan terhadap peningkatan kadar ROS dalam tubuh. Reaksi lipid peroksidasi dapat terjadi bila radikal bebas bertemu dengan asam lemak tak jenuh ganda dalam membran sel. Reaksi peroksidasi lipid berlangsung terus menerus karena setiap reaksi menghasilkan radikal bebas baru yang mengakibatkan reaksi peroksidasi lipid baru hingga merusak seluruh membran plasma sel spermatozoa. (Cummins JM, 1994) Lipid peroksidasi tersebut akan menyebabkan peningkatan fluiditas membran, gangguan integritas membran dan inaktivasi ikatan membran dengan enzim dan reseptor (Sukmaningsih AASA, 2011). Kerusakan permeabilitas membran spermatozoa tersebut akan menyebabkan terhambatnya kebutuhan nutrisi dan *Adenosine Triphosphate* (ATP) dalam sel. Apabila persediaan ATP habis maka flagel pada spermatozoa tidak dapat berkontraksi yang menyebabkan spermatozoa tidak bergerak. (Hafaz NA, 2017)

Rendahnya spermatozoa yang motil dan meningkatnya spermatozoa yang non-motil pada kelompok I juga disebabkan karena MSG bersifat *neurotoxic* pada *hypothalamus-pituitary-axis* dan *hypothalamus-pituitary-testis* yang menyebabkan terganggunya produksi GnRH yang menyebabkan menurunnya produksi FSH dan LH. (He K, Du S, 2011) FSH akan berperan dalam pematangan sperma dan LH akan merangsang sel Leydig untuk memproduksi testosteron. Penurunan kadar testosteron akan mengakibatkan terjadinya gangguan proses pematangan spermatozoa dalam epididimis, terutama gangguan pematangan ATP sebagai sumber energi. (Iamsaard S, 2014)

Stres oksidatif dalam tubuh menunjukkan adanya ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan sel sehingga radikal bebas melebihi kemampuan antioksidan intrasel untuk menetralkan

yang menyebabkan berbagai kerusakan dalam sel dan menurunkan motilitas spermatozoa. (Suryani RI, 2016) Pemberian antioksidan sebelum paparan dapat memberikan efek protektif terhadap sel. (Khaki A, 2011)

Kemangi memiliki senyawa fenolik yang akan bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Ali A, 2017). Senyawa fenoliknya adalah flavonoid dengan cara menangkap radikal bebas. Flavonoid akan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas tersebut. Hal tersebut dapat mencegah kerusakan pada sel sehingga terjadi peningkatan spermatozoa motil (Khaki A, 2011. Safwan S, 2016)

Pada penelitian ini kelompok II, III dan IV memiliki presentase yang lebih tinggi dan progresif bila dibandingkan dengan kelompok I. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat meningkatkan rerata presentase pergerakan spermatozoa.

Presentase motilitas spermatozoa tertinggi ditunjukkan pada kelompok IV yang diberi perlakuan MSG dengan dosis 1.600mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 700mg/kgBB/hari adalah 62,83%. Presentase tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok IV, motilitas spermatozoa yang progresif lebih banyak dibandingkan dengan motilitas spermatozoa yang non-progresif dan imotil. Hasil tersebut dikarenakan kandungan antioksidan dari daun kemangi pada kelompok IV cukup optimal dalam melakukan proteksi terhadap kerusakan membran sel dan meningkatkan motilitas spermatozoa tikus.

Semakin besar presentase motilitas spermatozoa yang imotil maka kemungkinan adanya kemandulan atau infertil yang semakin besar, oleh karenanya motilitas sangat diperlukan agar sperma dapat mencapai ovum dan melakukan fertilisasi. (Nuraini T, 2012)

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap motilitas spermatozoa tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Monosodium Glutamate* (MSG). Semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diberikan

semakin tinggi pula presentase motilitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *World J Mens Health* [Internet]. 2014;32(1):1. Available from: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5534/wjmh.2014.32.1.1>
- Ali A, Qasim M, Aftab MN, Azam M, Iqbal F, Akram S, et al. Effects of *Ocimum basilicum* extract on hematological and serum profile of male albino mice after AlCl₃ induced toxicity. 2017;6(2):505–10.
- Badade ZG, More K, Narshetty J. Oxidative stress adversely affects spermatogenesis in male infertility. *Biomed Res*. 2011;22(3):323–8.
- Contini M del C, Fabro A, Millen N, Benmelej A, Mahieu S. Adverse effects in kidney function, antioxidant systems and histopathology in rats receiving monosodium glutamate diet. *Exp Toxicol Pathol* [Internet]. 2017;69(7):547–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etp.2017.03.003>
- Cui W. Mother or nothing: the agony of infertility. *Bull World Health Organ*. 2010;88(12):881–2.
- Cummins JM, Jequier AM, Kan R. Molecular biology of human male infertility: Links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress? *Mol Reprod Dev*. 1994;37(3):345–62.
- Food and Drugs Administration. Questions and Answers on Monosodium glutamate (MSG)le [Internet]. 2012 [cited 2017 Jul 3]. Available from: <https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm328728.htm>
- Ford WCL. Comments on the release of the 5th edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. *Asian J Androl* [Internet]. 2010;12(1):59–63. Available from: <http://www.asiaandro.com/Abstract.asp?doi=10.1038/aja.2008.57>
- Hafaz NA. The effect of fasting to the quality of spermatozoa in adult male *rattus norvegicus*. *J Kedokt dan Kesehat Indones*. 2017;8(2):2001–2.
- Haslan MA, Hasyim N, Nurdiana S. Ameliorating effects of coconut water on sperm quality and selected organs histology in monosodium glutamate pre treated . 2017;(March).
- He K, Du S, Xun P, Sharma S, Wang H, Zhai F, et al. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am J Clin Nutr*. 2011;93(6):1328–36.
- Iamsaard S, Sukhorum W, Samrid R, Yimdee J, Kanla P, Chaisiwamongkol K, et al. The sensitivity of male rat reproductive organs to monosodium glutamate. *Acta Medica Acad Vol 43, No 1* [Internet]. 2014; Available from: <http://ama.ba/index.php/ama/article/view/202>
- Igwebuik U, Ochiogu O, Ihedinihu B, Ikokide J, Idika I. The Effects of Oral Administration of Monosodium Glutamate (MSG) on The Testicular Morphology and Cauda Epididymal Sperm Reserves of Young and Adult Male Rats. *Vet Arh*. 2011;81(4):525–34.
- IHS Markit. No TitleChemical Economics Handbook Monosodium Glutamate (MSG) [Internet]. 2015 [cited 2017 Jul 7]. Available from: <https://www.ihs.com/products/monosodium-glutamate-chemical-economics-handbook.html>
- Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Giwercman A, Kopa Z, Krausz C, et al. Male Infertility. *Eur Urol*. 2014;62(2):324–32.
- Kadir RE, Omotoso GO, Balogun TJ, Oyewopo AO. Effects of Monosodium Glutamate on Semen Quality and the Cytoarchitecture of the Testis of Adult Wistar Rats Effects of Monosodium Glutamate on Semen Quality and the Cytoarchitecture of the Testis of Adult Wistar Rats. 2011;(January 2011).
- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Khaki AA. Effect of *Ocimum basilicum* on apoptosis in testis of rats after exposure to electromagnetic field. 2011;5(12):1534–7.
- Nuraini T, Kusmana D, Afifah E. PENYUNTIKAN EKSTRAK BIJI Carica

- papaya L . VARIETAS CIBINONG PADA Macaca fascicularis L . DAN KUALITAS SPERMATOZOA SERTA. 2012;16(1):9–16.
- Ochiogu I, Ogwu D, Uchendu C, Okoye C, Hedioha J, Mbegbu E. Effects of monosodium L-glutamate administration on serum levels of reproductive hormones and cholesterol, epididymal sperm reserves and testicular histomorphology of male albino rats. *Acta Vet Hung*. 2015;63(1):125–39.
- Sukmaningsih AASA, ERMAYANTI IGAYUM, WIRATMINI NI, SUDATRI NIW. Gangguan spermatogenesis setelah pemberian monosodium glutamat pada mencit (*mus musculus l.*). *J Biol*. 2011;15(2).
- Suryani RI, Rumbajan JM, Skripsi K, Kedokteran F, Sam U, Manado R, et al. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap kualitas spermatozoa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) setelah pemaparan cahaya Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado Cahaya merupakan pancaran energi dari retina manusia dan menimbulkan. 2016;4:3–5.
- Safwan S, Sugara T, Rohmi MK. Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Motilitas dan Konsentrasi Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*). *J Ilm Ibnu Sina Ilmu Farm dan Kesehat*. 2016;1(2):173–81.
- Vieira M. New World Health Organization reference values for semen analysis/ : where do we stand/ ? *Einstein* [Internet]. 2013;11(55 11):263–4. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/eins/v11n2/23.pdf>
- Wein J. ALan, Louis R. Kavoussi, Alan W. Partin CAP. *Campbell- Walsh Urology*. Eleventh E. China: Elsevier Inc.; 2016.
- World Health Organization. Multiple definitions of infertility [Internet]. 2016 [cited 2017 Jul 6]. Available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/multiple-definitions/en/>