

Rerata Spermatisit Primer Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus*) Galur *Spragua Dawley* Yang Diinduksi Plumbum Asetat

I Gede Sugiana Karaeng¹, Hendri Busman², Angraeni Janar Wulan³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Kandungan logam Pb dalam gas buang kendaraan bermotor dapat membahayakan kesehatan dan merusak kesehatan dan merusak lingkungan. Logam Pb sebagai radikal bebas dapat memicu stress oksidatif. Stress oksidatif menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan kerusakan membran spermatozoa. Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat digunakan untuk menanggulangi permasalahan ini, diantaranya yaitu ekstrak kulit manggis yang memiliki kandungan antioksidan sebagai penangkal radikal bebas. Penelitian eksperimental ini dilakukan selama 14 hari. Sebanyak 25 ekor tikus jantan (*Spragua dawley*) dibagi kedalam 5 kelompok perlakuan: K+ (tanpa perlakuan), K-, P1, P2, P3 (dipapar plumbum asetat dosis 0,35gram/KgBB dan diberikan secara berturut turut ekstrak kulit manggis dengan dosis 0, 50, 100, 200 mg/KgBB. Rerata spermatisit primer dihitung menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Hasil analisis dari perlakuan (P1, P2, dan P3) menunjukkan ekstrak kulit manggis belum mampu meningkatkan rerata spermatisit primer dari tikus putih jantan. Rerata spermatisit primer yang diperoleh adalah $133,2 \pm 24$ (K-), $71,85 \pm 16,9$ (K-), $72,0 \pm 17,3$ (P1), $29,2 \pm 9,3$ (P2), $43,3 \pm 6,82$ (P3). Uji *post hoc* LSD menunjukkan perbedaan bermakna dari tiap kelompok perlakuan. Ekstrak kulit manggis belum mampu meningkatkan jumlah rerata spermatisit primer tikus putih jantan yang terpapar plumbum asetat.

Kata Kunci: Plumbum asetat, spermatisit primer, ekstrak kulit manggis, ROS.

The Effectiveness Of Mangosteen Skin Extract (*Garcinia Mangostana L*) On Spermatisit Primary Primer Of Heartrat White(*Rattus Novergicus*) *Sprague Dawley* Who Are Induced By Acetic Plumbums

Abstract

The Pb metal content in motor vehicle exhaust gases can danger health and damage the environment. Pb metal as a free radical can trigger oxidative stress. Oxidative stress causes an increase in *reactive oxygen species* (ROS) and damage to the spermatozoa membrane. Antioxidants are one of the compounds that can be used to overcome this problem, including the mangosteen peel extract which has a view of antioxidants as an antidote to free radicals. This experimental was conducted for 14 days. 25 male rats (*Spragua dawley*) were divided into 5 treatment groups: K+ (without treatment), K-, P1, P2, P3 (exposed to plumbum acetate dose of 0.35gram / KgBB and given consecutively mangosteen peel extract at a dose of 0, 50, 100, 200 mg / KgBB, mean primary spermatozoa were calculated using a microscope with 400x magnification. The results of the treatment analysis (P1, P2, and P3) showed that the mangosteen peel extract had not been able to increase mean primary spermatozoa from male white rats, mean that of primary spermatozoa obtained was 133.2 ± 24 (K+), 71.85 ± 16.9 (K-), 72.0 ± 17.3 (P1), 29.2 ± 9.3 (P2), 43.3 ± 6.82 (P3) test *post hoc* LSD showed significant differences from each treatment group. The extract of the Mangosteen skin was not yet able to increase Average of primary spermatozoa of male white rats exposed to plumbum acetate.

Keywords: Plumbum acetate, primary spermatozoa, mangosteen peel extract, ROS.

Korespondensi: I Gede Sugiana Karaeng, alamat Jl.Bumi Manti I Vila Mutiara B08, Rajabasa, Bandar Lampung, HP 082226852169, e-mail gedekaraeng@gmail.com

Pendahuluan

Perkembangan zaman yang semakin pesat, kemajuan pada bidang transportasi dapat dilihat dengan beragamnya jenis mobil serta motor dan bertambah banyaknya kendaraan di

jalan. Data yang di peroleh dari *Political And Economic Risk Consultancy Ltd* (PERC) Indonesia masuk urutan ke-5 setelah India, Cina, Vietnam, dan Filipina 70 % pencemaran udara di sebabkan emisi gas buang serta menurut *Environment*

Project Agency, sekitar 25% logam berat (plumbum) tetap berada dalam mesin dan 75% lainnya akan mencemari udara sebagai asap knalpot. Logam Pb sebagai gas buang kendaraan bermotor dapat membahayakan kesehatan dan merusak lingkungan. Logam Pb yang terhirup oleh manusia setiap hari akan diserap, disimpan dan kemudian ditampung dalam darah.¹

Unsur plumbum ini pada dasarnya terkandung dalam bahan bakar bensin. Setiap liter bensin dalam angka oktan 87 dan 98 mengandung 0,70g senyawa Pb Tetraetil dan 0,84g Tetrametil Pb. Setiap satu liter bensin yang dibakar jika dikonversi akan mengemisikan 0,56g Pb yang dibuang ke udara. Kemudian efek dari plumbum ini dapat mengganggu kesehatan berupa rusaknya jaringan syaraf, fungsi ginjal dan system reproduksi. Keracunan akut oleh Pb jarang sekali terjadi, namun paparan Pb dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan berbagai kelainan. Pada orang dewasa dapat menyebabkan gejala anoreksia, muntah, nyeri perut, diare atau konstipasi.¹

Logam Pb dapat masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi dan saluran cerna. Keracunan dalam fase akut jarang terjadi namun pada individu dapat merasakan gejala sakit kepala, lesu, depresi, gangguan tidur berupa insomnia atau hipersomnolen, kadang berkelakuan agresif atau antisosial, tidak dapat berkonsentrasi. Batas pajanan plumbum yang diperbolehkan menurut ABLES (*Adult Blood Lead Epidemiologi and Surveillance*) adalah 25µg/dL, sedangkan menurut OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) adalah 40 µg/dL.²

Efek toksik logam plumbum pada fungsi reproduksi laki laki yaitu mempengaruhi proses spermatogenesis sehingga menyebabkan penurunan kualitas semen dalam jumlah, morfologi, motilitas dan bentuk abnormal spermatozoa. Beberapa penelitian pada hewan coba menunjukkan bahwa keracunan Pb dapat mengakibatkan penurunan berat testis dan kerusakan tubulus seminiferus testis tikus putih.³ Penelitian yang dilakukan pada tikus putih jantan yang di papar plumbum yang di bagi dalam 4 kelompok yaitu 1 kelompok tanpa perlakuan dan 4 dengan perlakuan, masing-masing dari

kelompok di beri plumbum 0,53 g/ekor, yang di beri perlakuan selama 14 hari menunjukkan rerata kualitas sperma tikus (jumlah, morfologi dan vibilitas sperma) pada kelompok yang hanya di berikan plumbum saja tanpa di berikan vitamin E lebih rendah dari kelompok perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian plumbum dapat menyebabkan menurunnya kualitas sperma.³

Bagian buah manggis yang sering dimanfaatkan sebagai obat adalah bagian kulitnya. Kulit manggis terbukti mengandung xanthone alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan glikosida (Poeloengan, & Praptiwi, 2010). Flavonid sebagai antioksidan dengan cara mencegah pembentukan (*Reactive Oxygen Species*) ROS sehingga reaksi redoks yang menghasilkan radikal bebas, flavonoid meningkatkan proses regenerasi dengan cara mendestruksi radikal bebas, menyediakan substrat kompetitif untuk lipid tak jenuh dalam membran atau mempercepat mekanisme perbaikan membran sel yang rusak.⁴

Metode

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan metode *Post-test only Control Group*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih yang dibagi ke dalam lima kelompok secara *random*. Tikus yang diikutsertakan dalam penelitian berumur 10-12 minggu dengan berat 200-250 gram.

Semua tikus mengikuti masa aklimatisasi selama 7 hari, dalam masa ini tikus hanya mendapatkan pakan standard dan minum.

Kelompok 1: Kelompok tikus yang tidak diinduksi plumbum asetat, hanya di berikan Aquades 1 ml kelompok kontrol negatif (K1).

Kelompok 2: Kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 0,35g/ekor per hari, kelompok kontrol positif (K2).

Kelompok 3: Kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 0,35g/ekor per hari dan diberi ekstrak manggis 50mg/Kgbb per hari, kelompok perlakuan 1 (P1).

Kelompok 4: Kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 0,35g/ekor per hari dan diberi

ekstrak manggis 100mg/Kgbb per hari, kelompok perlakuan 2 (P2).

Kelompok 5: Kelompok tikus yang diinduksi plumbum asetat 0,35g/ekor per hari dan diberi ekstrak manggis 200mg/Kgbb per hari, Kelompok perlakuan 3 (P3)

Hewan coba diterminasi/dimusnahkan setelah pemberian perlakuan selama 14 hari selesai. Setiap tikus pada tiap kelompok dianestesi terlebih dahulu dengan Ketamin-Xylazin untuk membebaskan dari rasa nyeri, stress, dan kecemasan. Hewan coba diterminasi dengan euthanasia metode fisik cervical dislocation pada tikus dengan berat badan ≤ 250 , dilanjutkan dengan menginsisi bagian dari skrotum tikus untuk diambil organ testis. Setelah itu tikus akan dikuburkan sehingga lebih ramah lingkungan.

Selanjutnya dilakukan pembacaan dari preparat dan dilakukan analisis statistika menggunakan analisa bivariat. Analisa bivariat adalah analisa yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat dengan menggunakan uji statistika. Analisis hasil penelitian apakah terdistribusi normal atau tidak menggunakan statistik uji normalitas *Shapiro-wilk* karena sampel berjumlah ≤ 50 . Hasil dari uji normalitas terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$, dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *Uji One Way Anova* dan dilanjutkan dengan *Uji Post-Hoc*.

Hasil

Penilaian gambaran histologi testis tikus putih jantanalur *Sprague dawley* dilakukan dengan menghitung jumlah spermatisot primer dan dinyatakan dalam rerata \pm standar deviasi (SD). Jumlah hasil penghitungan spermatisot primer disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rerata Jumlah Spermatisot Primer

Kelompok	Rerata Jumlah Spermatisot Primer (sel) \pm (sd)
Kontrol Positif	133.2 \pm 24
Kontrol Negatif	71.85 \pm 16,9
Perlakuan 1	72.0 \pm 17,3
Perlakuan 2	29.2 \pm 9,3
Perlakuan 3	43.3 \pm 6,82

Berdasarkan tabel 1, terlihat pada kelompok kontrol negatif jumlah rerata spermatisot primer lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif. Pada seluruh kelompok perlakuan terjadi penurunan jumlah rerata spermatisot primer dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, kecuali pada kelompok P1, dengan jumlah rerata pada spermatisot primer sebesar $72.0 \pm 17,3$.

Untuk menguji hipotesis, maka dilakukan uji *one way* Anova terhadap data jumlah spermatisot primer. Hasil dari uji *one way* Anova menunjukkan nilai *p* yang didapat adalah 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah spermatisot primer, minimal terlihat 2 perbedaan antara kelompok dalam perlakuan. Setelah uji *one way* Anova dilanjutkan uji *Post Hoc* LSD hasil uji *Post Hoc* LSD di sajikan tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc* LSD

	Perbedaan rerata	<i>P value</i>
Kontrol Positif vs Kontrol Negatif	61.31	0.000*
Kontrol Negatif vs Perlakuan 1	0.15	0.988*
Kontrol Negatif vs Perlakuan 2	42.7	0.000*
Kontrol Negatif vs Perlakuan 3	28.6	0.011*
Perlakuan 1 vs perlakuan 2	42.85	0.000*
Perlakuan 1 vs perlakuan 3	28.75	0.010*
Perlakuan 3 vs perlakuan 2	14.1	0.181

Berdasarkan uji *post hoc* LSD, didapatkan bahwa kelompok Kontrol Positif dengan Kontrol Negatif, Kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 2, Kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 3, kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2, kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 3 memiliki perbedaan jumlah spermatisot primer yang bermakna. Sedangkan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 3 dengan kelompok perlakuan 2 tidak memiliki perbedaan jumlah spermatisot primer yang bermakna.

Pembahasan

Dalam penelitian ini, terlihat bahwa induksi plumbum asetat Pb dapat menurunkan jumlah rerata spermatisit primer, sedangkan pemberian ekstrak manggis secara visual memperlihatkan peningkatan tetapi secara statistik tidak bermakna pada jumlah rerata spermatisit primer, peningkatan secara visual dapat dilihat pada kelompok perlakuan 1 sudah terdapat sedikit peningkatan.

Tikus pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif yang di berikan perlakuan yang berbeda. Tikus pada kelompok kontrol positif hanya di berikan pakan standar dan air saja, juga diberikan aquades sebanyak 1cc peroral, tidak dipaparan plumbum asetat sebagai sumber oksidan. Sedangkan untuk kelompok kontrol negatif selain diberikan pakan standar dan air, juga di papar plumbum asetat sebanyak 0,35 g/ ekor. Hasil dari uji *Post Hoc LSD* dari 2 kelompok tersebut menunjukkan jumlah rerata sel spermatisit primer yang bermakna, dosis 0,35g/ekor dapat menurunkan jumlah rerata spermatisit primer pada kelompok kontrol negatif. Hal ini diduga karena adanya peningkatan dari ROS yang menyebabkan stress oksidatif dan menghasilkan *malondialdehid* (MDA) sehingga proses pembentukan spermatisit primer terganggu.⁵

Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan perbedaan bermakna pada K+ vs K-, K- vs P2, K- vs P3, P1 vs P2, dan P1 vs P3. Sedangkan pada K- vs P1 dan P2 vs P3 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan $p < 0,05$. Kelompok perlakuan pada pemberian dosis ekstrak kulit manggis dengan dosis bertingkat memberikan pengaruh yang berbeda pada setiap kelompok dengan menunjukkan hasil yang berbeda pada jumlah rerata spermatisit primer. Berdasarkan penelitian ini dosis ekstrak kulit manggis 50mg/ kgBB/ hari, dapat meningkatkan jumlah rerata spermatisit primer walaupun belum bermakna secara statistika namun peningkatan dilihat secara visual terjadi peningkatan. Hal ini berbeda Dahril *et al.*, yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit manggis dosisi 50mg/kgBB/hari dapat meningkatkan kualitas sperma secara bermakna.

Penelitian juga berbeda dengan Hayati *et al.*, yang menyatakan pemberian dosis rendah sudah mampu meningkatkan jumlah spermatisit dengan dosis 25 mg/kgBB/hari, 100 mg/kgBB/hari dan 200mg/kgBB/hari. Sedangkan penelitian ini pada dosis 100 mg/kgBB/hari dan 200mg/kgBB/hari belum menunjukkan perbaikan. Hasil berbeda dengan penelitian yang mana pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis tersebut dapat memberikan perbaikan pada jumlah rerata spermatisit primer tikus.⁷

Pemberian ekstrak kulit manggis pada penelitian ini belum dapat meningkatkan jumlah rerata spermatisit primer pada kelompok P1, P2 dan P3, tetapi diduga karena lama perlakuan yang di lakukan hanya 14 hari sedangkan penelitian yang sudah bisa menunjukkan efek perbaikan dari ekstrak kulit manggis apabila durasi antara 28-35. Penelitian ini dilakukan selama 14 hari yang diduga dapat mempengaruhi kurang optimalnya pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap peningkatan jumlah rerata sel spermatisit primer. Pemeriksaan histologi pada testis pada tikus pada 2 minggu menunjukkan proses spermatogenesis belum sempurna sedangkan pada minggu ke-4 memperlihatkan spermatogenesis yang sudah sempurna pada semua kelompok perlakuan. Untuk penggunaan dosis yang di gunakan pada penelitian ini tidak menunjukkan toksisitas karena pada penelitian yang dilakukan dengan dosis 2800 mg/hari tidak berakibat toksis pada reproduksi.⁷

Pada penelitian dengan menggunakan ekstrak kulit manggis dan mengukur kadar MDA didapat dosis 50 mg/KgBB yang menunjukkan keefektifannya dalam menurunkan kadar MDA, di bandingkan dengan penggunaan dosis ekstrak kulit manggis 100mg/KgBB. Peningkatan kadar MDA mempengaruhi dari integritas membran sel spermatozoa karena peningkatan kadar MDA akan meningkatkan peroksida lipid sehingga terjadi kerusakan membrane spermatozoa, ketidakmampuan ekstrak kulit manggis menurunkan kadar MDA yang akan mempengaruhi efektifitas dari ekstrak kulit manggis dan perlakuan dengan dosis 50mg/kgBB menunjukkan peningkatan dalam

prosentase integritas membran di banding perlakuan lain. Penelitian lain menyatakan penggunaan dosis 50mg/kgBB dan 100mg/kgBB mampu menurunkan kadar MDA dalam darah tikus.⁸

Proses spermatogenesis pada manusia memerlukan waktu 64 hari untuk pembentukan dari spermatogonium menjadi sperma matang, meliputi tiga tahap utama proliferasi mitosis, meiosis, dan pengemasan. Spermatogonium mengalami mitosis dua kali dan menghasilkan empat spermatis primer, dilanjutkan dengan tahap meiosis yang mana spermatis primer akan menghasilkan empat spermatid pembelahan meiosis ini terjadi kurang lebih 22 hari, dapat di lihat secara histologi saat tahap ini berada tahap meiosis, tahap ahir dari spermatogenesis yaitu pengemasan atau remodeling sel spermatid yang di sebut proses spermiogenesis.⁹

Pemberian ekstrak kulit manggis memperlihatkan pada pengukuran kadar hormon memperlihatkan hasil yang signifikan pada penurunan kadar Inhibin B yang mengakibatkan terganggunya sekresi FSH. Penurunan konsentrasi FSH akibat penurunan inhibin B akan mengganggu induksi 5 pathway yaitu *pathway cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A (cAMP-PKA)*, *pathway kalsium*, *pathway mitogenactivated protein (MAP) kinase*, *pathway phospholipase A2*, dan *pathway phosphatidylinositol 3- Kinase* molekular. Data menunjukkan bahwa ikatan antara FSH dan FSH-R pada sel Sertoli akan menginduksi adenylate cyclase (AC), sehingga meningkatkan level cAMP intra sel Sertoli. Hal tersebut menyebabkan diaktivasinya cAMP-dependent PKA, yang akhirnya memfosforilasi faktor transkripsi cAMP responsive element modulator (CREM).¹⁰

Menurut penelitian Gllersen *et al.*, (2002) menunjukkan bahwa CREM berperan sangat penting pada spermatogenesis tikus. Hal tersebut berdasarkan kenyataan bahwa apabila terjadi mutasi pada CREM, maka akan menginduksi terjadinya hambatan pada proses spermiogenesis. CREM merupakan molekul yang berperan sebagai kunci regulator spermiogenesis

pada testis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tikus yang mengalami defisiensi CREM akan memengaruhi ekspresi protamine, sehingga menyebabkan terjadinya infertilitas akibat terjadinya gangguan pematangan round spermatid.

Simpulan

Pemberian ekstrak kulit manggis (*Gracinia Mangostana L*) yang di gunakan untuk meningkatkan jumlah rerata spermatis tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang terpapar plumbum asetat tidak berpengaruh pada jumlah rerata spermatis primer tikus.

Daftar Pustaka

1. Gusnita, D. Pencemaran logam berat timbal (pb) di udara dan upaya penghapusan bensin bertimbal. Berita Dirgantara. 2012:13(3) : 95–101.
2. Panggabean C. T. P., Soeng S dan July I. Efek Pajanan Timbal Terhadap Infertilitas Pria. JKM. 2008 : 8(1): 87-93
3. Yulianto R. A, Wiwi isnaeni, R. Susant. Pengaruh pemberian vitamin E terhadap kualitas sperma tikus putih yang dipapar timbal. Unnes Journal Of Life Science. 2013:2(2): 71–7.
4. Mahidin , Maulana A. M, Susiyadi. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar Jantan Yang Diinduksi Monosodium Glutamat. Herb-Medicine Journal. 2019:1(1) : 19-30.
5. Hayati A., Mangkoewidjojo S., Hinting A., Moeljopawiro S., Reproduksi L. B., Klinik, L. P., Biokimia, L. Hubungan Kadar Mda Sperma Dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemaparan. Berk. Panel. 2006:11 (-) : 151–159.
6. Hayati A., Karolina L.N.A., Subani N.B., Rudiwati R. The Potential of

- Garciniamangostana* Pericarp Extract on Spermatogenesis and Sperm Quality of Mice (*Musmusculus*) After 2- Methoxyethanol Exposure. *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 2014;4(4) :47-51.
7. Muhartono, Rivanda A, Wulan A. J., Susianti. Pengaruh Ekstrak kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Testis Tikus Putih Yang Diberi Paparan Gelombang Elektromagnetik Handphone. *Jurnal Kesehatan.* 2017;8(1):144-9.
 8. Subani DN. Effect of Skin Extract Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) Against Sperm Quality And Malondialdehyde Levels of Mice (*Mus musculus*) Exposed With 2-Methoxyethanol. *JURNAL INFO KESEHATAN.* 2014;12(1): 670-686
 9. Sherwood L. Fisiologi manusia dari sel ke sistem, edisi ke-6. Jakarta: 2012
 10. Akmal M, Aulanni'am , Sumitro SB ,Widodo A, Purnomo BB , Siregar NT, *dkk.* Inhibin B Menurunkan Konsentrasi Follicle Stimulating Hormone (Fsh) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*): Upaya Pengembangan Kontrasepsi Hormon Pria Berbasis Peptida. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 2015;9 (1) : 42-6.
 11. Al-Massarani S. M, El-Gamal AA, Musayeib NM, Mothona RA, Basudon A. I OA. *et al.* Phytochemical, antimicrobial and antiprotozoal evaluation mangostin, its major xanthone-of *Garcinia mangostana* pericarp and α derivative. *Molecules.* 2013;18(1):10599-608.
 12. Andrews ,K. Intraperitoneal (IP) Injection In Rata and Mice Standard Operating Procedure, UBC Animal Care Guidelines, 2014;1(1): 1-6
 13. Astuti WN, Suaniti M, Manurung M. Potensi Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Dalam Menurunkan Kadar Malondialdehid (Mda) Pada Tikus Wistar Yang Mengonsumsi Etanol, *Cakra Kimia,* 2014;2(2): 1-5
 14. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Keracunan Timba. 2010:hal 3-5.
 15. Browne D. 2015. Anatomy and Physiology of the Male Reproductive System. Openstax-CNX.
 16. Chuah O. L, Yeap K. S , Ho Y. W, Beh K. B, and Alitheen B. N. In Vitro and In Vivo Toxicity of *Garcinia* or Hydroxycitric Acid: A Review. Hindawi Publishing Corporation. 2012 :1-13.
 17. Dungir S, G, Katja D, G, Kamu V, S.x Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) *Jurnal Mipa Unsart.* 2012 :1 : 11-15
 18. Da Silva, B M., Bast, T., & Morris, RGM. Spatial memory: behavioral determinants of persistence in the watermaze delayed matching-to-place task. *Learning & Memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.). 2014;21(1) : 28-36.
 19. <https://doi.org/10.1101/lm.032169.113>
 20. Eroschenko, Victor P. Atlas histologi difiore dengan korelasi fungsional, edisi ke-11. Jakarta: 2007:EGC.
 21. Gellersen, B., R. Kempf, R. Sandhowe, G.F. Weinbauer, and R. Behr. Novel leader exons of the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response element modulator (CREM) gene, transcribed from promoters P3 and P4, are highly testis-specific in primates. *Mol. Hum. Reprod.* 2002;8(11):965-76.
 22. Guyton A. C, Hall JE. Buku ajar fisiologi kedokteran, edisi ke-11. Jakarta.2008: EGC.
 23. Gusnita, D. Pencemaran logam berat timbal (pb) di udara dan upaya penghapusan bensin bertimbal. *Berita Dirgantara.* 2012: 13(3) : 95-101.
 24. Heffner LJ, Schust DJ. At a glance sistem reproduksi II. Jakarta: Erlangga. 2006
 25. Isradji, I. 2011. Pengaruh Pb-asetat terhadap Berat dan Volume Testis Mencit. *Jurnal Sains Medika.* 3(2) : 150-6.
 26. Jannah A I. 2017. Pengaruh Induksi Plumbum Asetat Terhadap Memori Kerja Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus L.*) Galur *Sprague Dawley*. [Skripsi]. Banda Lampung : Universitas Lampung.
 27. Larasaty W. 2014. Uji antifertilitas ekstrak n-heksana biji jarak pagar (*Jatropha curcas*)

- pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) gallur sprague dawley Secara In Vivo [skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
28. Semwal B.R, Semwal KD. , Ilze Vermaak, Viljoen A,. A comprehensive scientific overview of *Garcinia cambogia*. *Vitoterapia*. 2015: 102: 134-48.
 29. Shibata M. A, Linuma M, Morimoto J, Kurose H, Akamatsu K, Okuno Y. *et al.* Mangostin Extracted From The Pericarp Of The Mangosteen (*Garcinia–A Mangostana Linn*) Reduces Tumor Growth And Lymph Node Metastasis In An Immunocompetent Xenograft Model Of Metastatic Mammary Cancer Carrying A P53 Mutation. *BMC medicine*. 2011:9(1):69–86.
 30. Simanjuntak LCH. Histomorfologi tubulus seminiferus dan kelenjar prostat tikus (*Rattus norvegicus*) serta konsentrasi hormon androgen pasca pemberian ekstrak purwoceng [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor. 2013
 31. Sub.Bid. Pemantauan Pencemaran. Pencemaran Pb (timbal). Artikel Balai Pemantauan Lingkungan Hidup (BPLHD) Jawa Barat. www.bplhdjabar.go.id/index.php/bidang_pengendalian_stnd. Jkm. 2009:8(1), 87–93.
 32. Umar, S. H., Queljoe, E. De, & Tendean, L. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diberi Paparan Suhu Panas. *Jurnal eBm*. 2015:3(2):670-5.
 33. Tortora G. J, Derrickson B. H.. Principles of anatomy and physiology maintenance and continuity of the human body, edisi ke-13. USA: John Wiley and Sons. 2011
 34. Winarsi H. Antioksidan alami dan radikal bebas. Yogyakarta: Kanisius. . 2007