Efektivitas Solasodine dan Gosipol sebagai Kandidat Kontrasepsi pada Hewan dalam Menghambat Reproduksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan melalui Ekspresi LH dan Spermatogenesis

Solasodine and Gosipol Effectivity as a Male Contraception Inhibit LH Expression and Spermatogenesis in Rat

Desi Wulansari^{1*}, Yudit Oktanella¹, Viski Fitri Hendrawan¹, Galuh Chandra Agustina¹

¹Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

*Email: drh.desiwulansari@gmail.com

ABSTRAK

Peningkatan populasi anjing di Provinsi Bali erat kaitannya dengan kejadian rabies. Populasi hewan liar yang tidak terkendali akan menyebabkan resiko penularan penyakit dari hewan ke manusia. Upaya pengendalian dilakukan menggunakan kontrasepsi herbal. Zat aktif dari tanaman yang memiliki efek antifertilitas diantaranya solasodine dan gosipol. Solasodine merupakan alkaloid yang terkandung dalam terong cepoka (*Solanum torvum*). Gosipol merupakan senyawa fenol dalam biji kapuk (*Ceiba pentandra*) diketahui mampu menghambat spermatogenesis dengan menurunkan konsentrasi, motilitas dan viabilitas spermatozoa. Penelitian ini bertujuan membandingkan efektivitas ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum*) dengan biji kapuk (*Ceiba pentandra*) sebagai antifertilitas. Penelitian menggunakan 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dalam 3 kelompok dengan kontrol negatif, P1 (solasodine) 1g/kg BB dan P2 (gosipol) 0,1g/ kg BB secara peroral dengan sonde lambung volume 2 mL. Perlakuan dilakukan selama 10 hari. Hewan coba dibedah pada hari ke-11 untuk koleksi organ testis. Dilakukan pembuatan preparat histopatologi testis yang dilanjutkan dengan dengan pewarnaan HE untuk mengetahui spermatogenesis dengan menghitung spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid. Pewarnaan immunohistokimia dilakukan untuk mengamati ekspresi LH. Hasil pemeriksaan spermatogenesis dianalisa secara kuantitatif dengan one way ANOVA dengan $P < 0.05$. Ekspresi LH dianalisa secara deskriptif dengan *Chi square test*. Berdasarkan hasil penelitian ekstrak buah terong cempoka dan ekstrak biji kapuk pada dosis tersebut belum mampu menurunkan spermatogenesis (sig. spermatogonium $0.537 > 0.05$; spermatosit primer $0.909 > 0.05$; dan spermatid $0.963 > 0.05$) dan ekspresi LH (Asymp $0.363 > 0.05$). Sehingga ekstrak bahan tersebut belum bisa digunakan sebagai antifertilitas. Bahan yang diberikan berupa *crude* ekstrak yang mengandung senyawa lain seperti antioksidan. Perlu dilakukan isolasi zat aktif solasodine dan gosipol sebagai penelitian antifertilitas selanjutnya.

Kata kunci: solasodine, gosipol, LH, spermatogenesis, antifertilitas

ABSTRACT

Rabies related to increasing canine population in Bali. Uncontrolled wild animal population caused disease transmission from animal to human. Various attempt at population control are carried out such as the use of natural contraception. Some compounds known to use as antifertility are solasodine and gosipol. Solasodine is one of herbal compound which found in *Solanum torvum*. Gosipol, phenolic compound in *Ceiba pentandra*, inhibits spermatogenesis, reduce sperm concentration, motility and viability. This research aims to compare effectiveness of *Solanum torvum* and *Ceiba pentandra* extracts as antifertility. Eight-teen rats were used in this study and divided into three groups: control, P1 *Solanum torvum* extract 1g/kg BW and P2 *Ceiba pentandra* extract 0,1g/kg BW PO. Rats were treated by ethanol extract for 10 days and euthanized at day 11. Testis were collected for histopathology using HE staining to observe spermatogenesis by counting spermatogonium, primary

spermatocyte and spermatid. Immunohistochemistry is used to observe LH expression. Spermatogenesis are analyzed using one way ANOVA $P < 0.05$. Luteinizing Hormone expression was analyzed by Chi square test. the result show that *Solanum torvum* extract 1g/kg BW and *Ceiba pentandra* 0,1g/kgBW cannot reduce spermatogenesis and LH expression. Crude extract which is used in this study consist another compounds like antioxidant. Future study we need to use isolated and pure solasodine and gosipol.

Keywords : solasodine, gosipol, LH, spermatogenesis, antifertility

PENDAHULUAN

Anjing dan kucing merupakan hewan kesayangan yang lazim dipelihara oleh manusia. Setiap kelahiran anjing dan kucing mampu menghasilkan jumlah anak yang banyak yaitu sehingga memicu permasalahan akibat ledakan populasi yang tidak terkendali. Ledakan populasi anjing di Provinsi Bali menimbulkan keresahan bagi masyarakat karena erat kaitannya dengan kejadian rabies. Hampir dapat dipastikan anjing liar yang ada di wilayah tersebut positif rabies. Begitu pula dengan populasi kucing liar di kota besar seperti Jakarta Utara yang mencapai 47.000 ekor (Kompas, 2018). Populasi hewan liar yang tidak terkendali akan menyebabkan resiko penularan penyakit dari hewan ke manusia.

Berbagai upaya dilakukan untuk melakukan pengendalian populasi diantaranya operasi, hormonal dan eliminasi. Operasi (ovariohisterektomi dan kastrasi) diketahui kurang efektif karena kemampuan untuk melakukannya sangat terbatas. Kepala Seksi Peternakan Suku Dinas Peternakan Perikanan dan Kelautan Jakarta Utara pada tahun 2014 hanya mampu mensterilisasi 150 ekor kucing liar (Kompas, 2018). Pengendalian dengan hormonal saat ini sudah dilarang karena beresiko tinggi menyebabkan pyometra. Sedangkan eliminasi hewan liar banyak ditentang karena tidak sesuai dengan prinsip *animal welfare*. Sehingga perlu dikembangkan metode

pengendalian populasi lain yang efektif dengan resiko minimal.

Beberapa zat aktif yang terkandung dalam tanaman diketahui memiliki efek terhadap kesuburan diantaranya solasodine dan gosipol. Solasodine merupakan zat aktif yang terkandung dalam terong cepoka (*Solanum torvum*) (Moreno *et al.*, 2014). Solasodine berpengaruh terhadap spermiogenesis yaitu pada menurunkan spermatid hingga 69% dan jumlah sel leydig immature hingga 60,4% (Dixit *et al.*, 1989).

Gosipol merupakan senyawa fenol dengan BM 518,55 Dalton yang diketahui mampu menghambat spermatogenesis dengan menurunkan konsentrasi, motilitas dan viabilitas spermatozoa. Gosipol diketahui menyebabkan kerusakan spesifik mitokondria di ekor spermatozoa. Mekanisme lain gosipol adalah menghambat pelepasan dan penggunaan ATP spermatozoa, menghambat influks Ca dan menghambat aktivitas Mg-ATPase dan Ca-Mg-ATPase (Gadelha *et al.*, 2014).

Perbandingan dan kombinasi penggunaan kedua senyawa tersebut diharapkan mampu menjadi bahan antifertilitas yang efektif. Fertilitas pada jantan salah satunya ditentukan dari kemampuan untuk menghasilkan spermatozoa yang berkualitas melalui spermatogenesis. Spermatogenesis merupakan tahapan pembentukan spermatozoa yang terjadi di tubulus seminiferus. Spermatogenesis

dipengaruhi oleh LH/ ICSH di sel leydig untuk memproduksi testosteron. Ikatan antara LH dan reseptornya akan menyebabkan ditranskripsi sejumlah enzim untuk steroidogenesis dan menghasilkan testosteron, Testosteron berperan dalam proses spermiogenesis yaitu tahap metamorfosis dari spermatid menjadi spermatozoa.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas kombinasi senyawa *solasodine* dan *gosipol* sebagai kandidat kontrasepsi pada hewan dalam menghambat reproduksi tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan melalui ekspresi LH dan spermatogenesis.

MATERI DAN METODE

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Biji Kapuk (*Ceiba Pentandra sp.*) dan Terong Cepoka (*Solanum torvum sp.*)

Bahan yang digunakan sebanyak 2000g biji kapuk dan 5000g terong cepoka ditimbang terlebih dahulu. Bahan ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:3. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 10.000 mL dan waktu evaporasi selama 3 jam. Hasil ekstraksi berupa ekstrak cair dengan b/v 2000mL (Nugroho, 2017).

Persiapan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan minimal umur 8 minggu dalam kondisi sehat, berat badan 100 gram dilakukan aklimatisasi selama 7 hari.

Pemberian Perlakuan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sejumlah 18 ekor dikelompokkan menjadi 3 kelompok masing-masing 6 ekor yaitu kontrol negatif, P1 (*solasodine*) dosis 1g/ kg BB, P2 (*gosipol*) 0,1 g/ kg BB (Gadelha *et al.*,

2014). Pemberian terapi dilakukan selama 10 hari. Terapi diberikan secara peroral sebanyak 2 ml larutan ekstrak etanol 70% biji kapuk (*Ceiba pentandra*) dan terong cepoka (*Solanum torvum sp.*) dengan sonde lambung.

Pembedahan dan Pengambilan Sampel Organ

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dikorbankan pada hari ke 11 dengan cara dislokasi os occipital. Hewan coba dibedah dengan posisi rebah dorsal. Pembedahan dilakukan menggunakan *disecting set* untuk memperoleh sampel organ berupa sepasang testis.

Pemeriksaan Histopatologi Testis untuk Mengetahui Spermatogenesis

Dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE. Spermatogenesis ditentukan dengan menghitung jumlah spermatosit dalam 10 lapang pandang.

Pemeriksaan Ekspresi LH

Dilakukan pembuatan slide preparat yang dilanjutkan dengan pewarnaan immunohistokimia. Hasil pewarnaan immunohistokimia discan dan dianalisa menggunakan software Immunoratio® untuk mengetahui luas bidang dan intensitas warna yang dihasilkan oleh masing-masing perlakuan dalam bentuk prosentase.

Ekspresi LH dan spermatogenesis berupa jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid dianalisa secara kuantitatif. Data akan dianalisa dengan one-way ANOVA apabila terdistribusi normal dan homogen. Data dilanjutkan dengan Uji Tukey bila ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) (Kusriningrum, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek Solasodine dan Gosipol terhadap Spermatogenesis

Hasil perlakuan ekstrak buah terong cempoka (P1) dengan dosis 1g/kg BB dan ekstrak biji kapuk (P2) dengan dosis 0,1g/kg BB sebagai alternatif antifertilitas dengan uji Anova menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap spermatogenesis yang dibandingkan dengan kontrol negatif tanpa pemberian

ekstrak, namun terdapat penurunan spermatogenesis dari perlakuan pemberian ekstrak biji kapuk 0,1g/kg BB (P2) yang ditunjukkan dengan menurunnya jumlah sel spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid. Penilaian spermatogenesis dilihat dari jumlah spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid dengan sebaran data yang dapat dilihat pada **Tabel 1**, **Gambar 1** dan **Gambar 2**.

Tabel 1. Rerata sel spermatogenik pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak terong cempoka (*Solanum torvum sw.*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra*)

Kelompok Perlakuan	Jumlah sel ($\bar{x} \pm SD$)		
	Spermatogonium	Spermatosit primer	Spermatid
Kontrol	$24,25 \pm 6,11$	$58,65 \pm 15,32$	$56,33 \pm 10,82$
P1	$20,80 \pm 5,42$	$61,83 \pm 17,04$	$57,87 \pm 14,94$
P2	$20,90 \pm 6,35$	$59,00 \pm 7,20$	$56,20 \pm 8,14$

Keterangan: Kontrol negatif (K-) tidak diberi ekstrak buah terong cempoka maupun ekstrak biji kapuk. P1 : diberi ekstrak buah terong cempoka 1g/kgBB. P2 : diberi ekstrak biji kapuk 0,1g/kgBB.

Gambar 1. Histopatologi Testis pewarnaan HE. Gambar diatas merupakan perbandingan diantara tiap kelompok perlakuan. Tanda panah merah merupakan sel sertoli, tanda panah putih merupakan spermatogonium, tanda panah hijau merupakan spermatosit primer, tanda panah jingga merupakan spermatid dan tanda panah biru merupakan sel leydig. H.E. 400x.

Gambar 2. Grafik profil sel spermatogenik pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan

Data jumlah sel tersebut di atas kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Setelah data diketahui terdistribusi normal dan homogen maka data akan dilanjutkan dengan Uji Anova untuk mengetahui perbedaan antara kontrol dan perlakuan.

Berdasarkan hasil analisa dengan *one way* anova diketahui bahwa nilai sig. spermatogonium $0.537 > 0.05$; spermatosit primer $0.909 > 0.05$; dan spermatid $0.963 > 0.05$ sehingga secara statistik disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($\text{Sig} > 0.05$) antara kontrol dan perlakuan ekstrak terong cempoka (*Solanum torvum sw.*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra*) pada jumlah spermatogonium, spermatosit primer dan spermatid, sehingga data kemudian tidak dilanjutkan dengan uji lanjutan. Hal tersebut berarti bahwa pemberian ekstrak terong cempoka (*Solanum torvum sw.*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra*) tidak menyebabkan adanya perubahan yang berarti terhadap spermatogenesis meskipun secara grafik mengalami peningkatan.

Ekstrak buah terong cempoka 1g/kg BB tidak terlalu berpengaruh sebagai antifertilitas tikus. Hal ini disebabkan karena sediaan terong

cepoka dalam bentuk crude ekstrak yang masih mengandung banyak senyawa lainnya seperti flavonoid dan tanin. Ekstrak terong cempoka diketahui kandungan solasodine yang dianggap mampu sebagai kandidat alternatif kontrasepsi. Solasodine dilaporkan bersifat toksik bagi aktivitas spermatozoa di epididmis pada tikus. Solasodine yang merupakan alkaloid steroid menyebabkan perubahan pada membran akrosom spermatozoa dan menurunkan motilitas spermatozoa. Solasodine menyebabkan degenerasi pada epitel tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik (Gupta and Sharma, 2006).

Pada penelitian ini ekstrak buah terong cempoka belum mampu sebagai kandidat kontrasepsi karena *crude* ekstrak buah terong cempoka masih mengandung berbagai bahan aktif. Terong cempoka memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yakni di atas 70%. Kandungan kimia yang terdapat pada terong cempoka mampu bertindak sebagai antioksidan dan dapat melindungi jaringan tubuh dari efek negatif dari radikal bebas (Sirait, 2009). Tingginya aktivitas antioksidan dapat bertindak sebagai penangkal radikal

bebas yang dapat mencegah terjadinya kerusakan pada spermatogenesis. Antioksidan juga mampu menangkalkan efek toksik dari biji kapuk yang mengandung gosipol. Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian sediaan dalam bentuk ekstrak etanol 70% terong cepoka dan biji kapuk belum mampu memberikan pengaruh yang signifikan sehingga perlu dilakukan isolasi bahan aktif yaitu solasodine dan gosipol untuk penelitian selanjutnya.

Ekstrak biji kapuk mengandung gosipol, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Pemberian ekstrak biji kapuk 0,1g/kg BB mampu menurunkan spermatogenesis, terlihat terjadi penurunan jumlah pada spermatogonium, spermatosit primer, dan spermatid. Gosipol banyak diteliti sebagai kontrasepsi jantan pada sejumlah penelitian. Toksisitas gosipol pada reproduksi jantan telah dilaporkan menghambat spermatogenesis, dengan menurunkan jumlah sel sperma dan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Antifertilitas jantan dipengaruhi oleh dosis dan waktu pemberian. Dosis efektif gosipol menyebabkan infertilitas dengan menghambat motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa menurun, kerusakan mitokondria sampai ekor spermatozoa, dan merusak epitel germinal (Gadelha, *et al.* 2014).

Gosipol mengganggu mekanisme spermatogenesis termasuk pemanfaatan ATP oleh sel sperma. Gosipol berefek pada pengurangan sel yang terdapat dalam tubulus seperti, spermatosit dan spermatid. Gosipol juga menghambat influk Calsium juga aktivitas Mg-ATPase dan Ca-Mg-ATPase dalam plasma membran spermatozoa. Penurunan ekspresi androgen pada sel leydig dan sel sertoli, karena gosipol menurunkan aktivitas oksidasi sel dan merusak DNA inti sehingga sel leydig

san sel seroli rusak dan mati (Gadelha, *et al.*, 2014).

Alkaloid bersifat estrogenik yang mekanisme kerjanya menyerupai estrogen alami sehingga mampu berikatan dengan reseptor estrogen. Dengan adanya senyawa alkaloid maka kadar hormon testosteron bebas dalam plasma darah akan meningkat dan mengakibatkan terjadi mekanisme umpan balik negatif yang menghambat hipofisis anterior untuk memproduksi LH. Menurunnya kadar LH dapat menurunkan produksi testosteron sehingga dapat mengganggu spermatogenesis yang selanjutnya dapat menurunkan jumlah spermatozoa (Hidayati dan Nofianti, 2014).

Ekspresi LH pada Testis Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum sw*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra*)

Pemeriksaan ekspresi LH pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dilakukan dengan metode immunohistokimia. Immunohistokimia merupakan teknik yang menggunakan prinsip ikatan antara anti bodi primer dan sekunder yang berlabel biotin. Biotin selanjutnya akan berikatan dengan avidin yang bila terwanai oleh kromogen DAB (diaminobenzidine) akan tervisualisasi dengan warna coklat.

Adanya warna coklat pada jaringan testis menunjukkan lokasi dimana terdapat LH (**Gambar 4**). Pengamatan ekspresi LH dilakukan pada lima lapang pandang dengan software Immunoratio®. Data berupa prosentase ekspresi LH selanjutnya dianalisa dengan SPSS untuk dilakukan pemeriksaan non parametric dengan *chi square test*. Data dilakukan pengujian normalitas dan homegenitas. Data diketahui normal namun tidak homogen sehingga dilakukan uji kualitatif chi

square. Berdasarkan hasil chi quare test diketahui nilai Asymp.sig 0.363>0.05 maka disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara perlakuan ekstrak terong cepoka

(*Solanum torvum sw*) dan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) dengan ekspresi LH pada testis (**Tabel 2** dan **Gambar 3**)

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Ekspresi LH pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan

Kelompok Perlakuan	Ekspresi LH ($\bar{x} \pm SD$) (%)
Kontrol negatif	90,75 $\pm$ 7,30
P1	87,53 $\pm$ 8,25
P2	97,97 $\pm$ 2,18

Keterangan : P1 Perlakuan dengan ekstrak terong cepoka 1g/kg BB. P2 Perlakuan dengan ekstrak biji kapuk 0,1g/kg BB.

Gambar 3. Grafik Hasil Ekspresi LH pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan

Berdasarkan **Gambar 4**, ekspresi reseptor LH dapat ditemukan di seluruh sel tubulus seminiferus terutama reseptor LH sub unit α , sedangkan sub unit β ditemukan pada sel spermatid dan spermatozoa (tahap metamorfosis) (Soo Kim and Ho Lee, 2017). Ekspresi LH ditemukan pada membran sel. Ikatan LH dengan reseptornya di membran sel akan mengaktivasi cAMP. Ikatan LH dengan reseptornya tersebut merupakan *first messenger*.

Luteinizing hormone (LH) atau ICSH merupakan hormon protein yang dihasilkan oleh hipofisa anterior yang berpengaruh terhadap proses steroidogenesis di testis. Ikatan LH pada reseptornya akan menyebabkan ditranskripsinya sejumlah enzim yang berpengaruh dalam merubah kolesterol

menjadi testotestosterone di sel leydig. Testosterone berperan dalam spermatogenesis sehingga berpengaruh pada konsentrasi spermatozoa. Pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum sw*) dan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) diketahui belum mampu menyebabkan perubahan yang signifikan pada ekspresi LH. Hal ini berkaitan dengan bentuk sediaan obat yang diberikan masih dalam bentuk crude ekstrak yang mengandung banyak senyawa lain selain solasodine dan gosipol misalnya antioksidan. Ekstrak biji kapuk mengandung gosipol, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Antioksidan diketahui dapat menetralisir stress oksidatif yang dapat mencegah kerusakan sel.

Ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum sw*) dan ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra*) belum mampu memberikan pengaruh yang nyata sehingga perlu dilakukan penelitian

selanjutnya dengan melakukan isolasi solasodine dan gosipol. Solasodine dan gosipol murni diharapkan mampu memberikan efek antifertilitas yang efektif.

Gambar 4. Hasil Immunohistokima testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan pada kelompok control, P1 dan P2. Tanda panah kuning menunjukkan ekspresi LH.

Solasodine merupakan alkaloid yang terkandung dalam terong cepoka yang dapat menurunkan konsentrasi spermatozoa dan menurunkan kadar testosterone. Gosipol diketahui mampu menurunkan ekspresi androgen pada sel leydig dan sel sertoli. Gosipol juga menurunkan aktivitas oksidasi sel dan merusak DNA inti sehingga sel leydig, sel sertoli rusak dan mati (Gadelha, *et al.* 2014). Alkaloid bersifat estrogenik yang mekanisme kerjanya menyerupai estrogen alami sehingga mampu berikatan dengan reseptor estrogen. Dengan adanya senyawa alkaloid maka kadar hormon testosterone bebas dalam plasma darah akan meningkat dan mengakibatkan terjadi mekanisme umpan balik negatif yang menghambat

hipofisis anterior untuk memproduksi LH. Menurunnya kadar LH dapat menurunkan produksi testosterone sehingga dapat mengganggu spermatogenesis yang selanjutnya dapat menurunkan jumlah spermatozoa (Hidayati dan Nofianti, 2014).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak buah terong cempoka dan ekstrak biji kapuk belum mampu menurunkan spermatogenesis dan ekspresi hormon LH. Sehingga belum bisa digunakan sebagai bahan antifertilitas. Hal ini disebabkan bahan yang digunakan berupa *crude* ekstrak yang mengandung senyawa lain seperti antioksidan.

SARAN

Perlu dilakukan isolasi zat aktif solasodine dan gosipol sebagai penelitian antifertilitas selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Gadelha, ICN., NBS. Foncesa, SCS. Oloris, MM. Melo and B. Soto-Blanco. 2014. Gossypol Toxicity from Cottonseed Products. *The Scientific World Journal*.11, Article ID 231635.
- Gupta, V.,CM. Krishna, P. Bansal, S. Kumar, GP. Prasad, KDV. Ravi. 2010. Phytochemistry and Pharmacological Potential of *Achyranthes Aspera*-A. Review. *International Journal of Ayurvedic Medicine*. 1(1): 1-11.
- Gupta, RS., R., Sharma. 2006. A review on Medicine plants exhibiting antifertility activity in males. *Natural Product Radiance*. 5(5):389-410.
- Hidayati, NLD., T. Nofianti. 2014. Pengaruh Infusa Buah Terong cempoka terhadap Konsentrasi Spermatozoa Tikus Putih Jantan. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Vol. 12:1. 202-213.
- Jayakumar K., K. Murugan. 2016. Solanum Alkaloid and their Farmaceutical Roles: A Review. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*.3:6.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Surabaya. Airlangga University Press.
- Marcela Manrique-Moreno a, Julián Londoño-Londoño b, Małgorzata Jemioła-Rzemińska c, Kazimierz Strzałka c, Fernando Villena d , Marcia Avello e, Mario Suwalsky. 2014. Structural effects of the Solanum steroids solasodine, diosgenin and solanine on human erythrocytes and molecular models of eukaryotic membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1838. 266–277.
- Santana, AT., M. Guelfi, HCD. Medeiros, MA. Tavares, PFV. Bizerra, and FE. Mingatto. 2015. Mechanism Involve in Reproductive Damage by Gossypol in Rats and Protective Effects of Vitamin E. *Biological Research*. 48(1):43.
- Sirait, N. 2009. Terong Cempoka (*Solanum torvum*) Herba yang Berkhasiat sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol. 15:3, 10-12.
- Soo Kim, H and S. Ho Lee. 2017. Expression of Luteinizing Hormone (LH) subunit Genes in Mouse Testis. *Dev.Reprod*. Vol.21 (3): 327-333.
- Kompas. 2018. Awas Ledakan Kucing. <https://megapolitan.kompas.com/read/2014/05/05/2120338/> [Diakses 7 Mei 2018].
- Nugroho, Agung. 2017. *Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.
- Dixit VP, RS Gupta and S Gupta. 1989. Antifertility plant products: testicular cell population dynamics following solasodine (C27H43O2N) administration in rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Andrologia*. 21(6):542-6.