



## PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUNGA, DAUN, DAN AKAR KEMBANG SEPATU (*Hibiscus rosa sinensis*) TERHADAP BERAT, VOLUME, DAN DIAMETER TUBULUS SEMINIFERUS MENCIT (*Mus musculus*)

Rojib<sup>1)</sup> dan Sukarjati<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Mahasiswa Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

### INFO ARTIKEL

#### Riwayat artikel

Diterima/ Received  
26 Maret 2016

Disetujui/Accepted  
05 April 2016

#### Kata kunci:

Ekstrak bunga  
Daun  
akar kembang sepatu  
(*Hibiscus rosa sinensis*)  
testis  
diameter tubulus  
Mencit (*Mus musculus*)

#### Keywords:

Extract of flower  
Laves  
roots of (*Hibiscus rosa sinensis*)  
testicles  
diameter of seminiferous tubules  
mice (*Mus musculus*).

### ABSTRAK / ABSTRACT

Kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) banyak ditanam sebagai tanaman hias, semak, dan tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Kembang sepatu juga merupakan salah satu jenis tanaman yang berpotensi sebagai antifertilitas. Jenis senyawa bioaktif yang terkandung pada tumbuhan, utamanya senyawa-senyawa yang berasal dari golongan steroid, alkaloid, isoflavanoid, tripernoid, dan xanthon memiliki aktivitas sebagai bahan antifertilitas. Hal inilah yang mendorong peneliti untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) terhadap berat, volume, dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*). Sampel penelitian ini adalah mencit sebanyak 27 ekor dengan berat badan 20-30 gram, berumur 2,5 bulan. Mencit dibagi 3 kelompok, masing-masing kelompok dibagi 3 perlakuan. Adapun perlakuan yang diberikan adalah ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu dengan dosis kontrol, 150, dan 300 mg/kg BB. pemberian ekstrak selama 35 hari. Pada hari ke 37 mencit di bedah untuk diambil testis untuk pengamatan berat, volume testis. Testis kemudian dibuat preparat dan diukur diameter tubulus seminiferus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan acak kelompok (RAK). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) Satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*). Hasil dari penelitian ini menunjukkan ada pengaruh ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu terhadap berat, volume testis, dan diameter tubulus seminiferus ( $P < 0,05$ ). Perlakuan terbaik yang dapat menurunkan berat, volume, dan diameter tubulus seminiferus adalah pada bunga dengan dosis 300 mg/kg BB. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga, daun, dan akar dapat menurunkan berat, volume testis dan diameter tubulus seminiferus. Kedepannya diharapkan penelitian dapat dikembangkan sebagai bahan antifertilitas pada pria.

*Hibiscus (Hibiscus rosa sinensis)* many are grown as ornamental plants, shrubs, and grown in the tropics and subtropics. *Hibiscus* is also one kind of plant that is potentially as antifertility. Types of bioactive compounds contained in plants, the main compounds that are derived from the steroids, alkaloids, isoflavanoid, tripernoid, and activity as xanthon antifertilities. This encourages the researcher to know the influence of ethanol extract flowers, leaves, and roots of hibiscus (*Hibiscus rosa sinensis*) against the weight, volume and diameter of seminiferous tubules mice (*Mus musculus*). The sample of this research is the mice by as much as 27 tail with a weight of 20-30 grams, aged 2.5 months. Murine in to 3 groups, each group is divided 3 treatment. As for the treatments given are extracts of flowers, leaves, and roots of hibiscus with dose control, 150, and 300 mg/kg. Granting of extracts for 35 days. On day 37 mice are in surgery for testicular weight to observations taken, the volume of the testes. The testes then made preparations and measured diameter of seminiferous tubules. This research is experimental research using Random Design Group. The data obtained were analyzed with variant analysis (ANOVA) in one direction and continued with test LSD (*Least Significant Different*). The results of the research there shows the influence of the ethanol extracts of flowers, leaves, and roots of hibiscus against testicular volume, weight, and diameter of seminiferous tubules ( $P < 0.05$ ). The best treatment that can decrease the weight, volume and diameter of seminiferous tubules is on the flower with a dose of 300 mg/kg. The results of this research it can be concluded that extracts of flowers, leaves, and roots can lose weight, testicular volume and diameter of seminiferous tubules. In future it is hoped the research could be developed as material antifertilitas in men.

### PENDAHULUAN

Program Keluarga Berencana (KB) diselenggarakan oleh pemerintah dengan tujuan

mengendalikan laju pertumbuhan penduduk, yang nanti diharapkan dapat berkontribusi dalam

peningkatan sumber daya manusia. Jumlah penduduk Indonesia saat ini mencapai 219 juta jiwa dengan tingkat pertumbuhan penduduk 1,48 persen atau sekitar 3,2 juta jiwa per tahun. Perserikatan Bangsa-Bangsa (PBB) memproyeksikan jumlah penduduk Indonesia akan mencapai angka 261 juta jiwa pada tahun 2015., jika pelaksanaan program Keluarga Berencana (KB) kurang memberikan hasil optimal (Depkes, 2006). Pencarian dan pengembangan bahan kontrasepsi yang berasal dari tumbuhan merupakan salah satu potensi alternatif yang dapat dilakukan khususnya di Indonesia. Agar pemanfaatan sumber daya alam dapat terlaksana dengan sebaik-baiknya, maka terhadap bahan-bahan alam yang digunakan dalam pelayanan kesehatan termasuk kesehatan reproduksi perlu dilakukan pengkajian yang lebih mendalam untuk mengetahui keamanan dan khasiatnya. Untuk itu, dalam pengkajian tersebut digunakan dua pendekatan yaitu, pendekatan fitoterapi dan pendekatan kemoterapi. Pendekatan fitoterapi telah banyak diupayakan karena dapat digunakan dalam waktu singkat, sedangkan aspek-aspek yang perlu mendapatkan prioritas adalah efektivitas, toksisitas, farmakologi, fitokimia, dan teknologi produksi. Dari aspek efektivitas berbagai jenis tumbuhan yang telah diuji secara ilmiah walaupun dalam batas uji praklinis. Melalui pendekatan kemoterapi yang dilakukan oleh para peneliti, menunjukkan bahwa berbagai jenis senyawa bioaktif yang terkandung pada tumbuhan, utamanya senyawa-senyawa yang berasal dari golongan steroid, alkaloid, isoflavanoid, tripernoid, dan xanthon memiliki aktivitas sebagai bahan antifertilitas (Famsworth *et al.*, 1975; Ghosal *et al.*, 1981; Chattopadhyay *et al.*, 1984).

Di Indonesia ada 18 jenis tanaman obat yang berpotensi sebagai antifertilitas pria. Beberapa tanaman tersebut antara lain: kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*), pare (*Momordica caranti*), biji pepaya (*Carica papaya*), kunyit (*Curcuma domestica*), biji oyong (*Luffa acutangula Roxb*), daun manggis (*Garcinia mangostama*), tapak dara (*Charantus roseus*), biji kapas (*Gossypium hirtusum*), cantel (*Andropogon sorgum*), sitawar (*Costus speciosus*), dan gandarusa (*Justicia gandarusa*) (Depkes, 2006).

Uji coba pada tikus dan kelinci jantan oleh sejumlah peneliti di Indonesia membuktikan bahwa 18 jenis tanaman tersebut berkhasiat menurunkan

kesuburan. Menurut Kepala Sentra Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional (SP3T), (Azwar Agoes dalam Rina, 2014), ke-18 tanaman tersebut menghambat pertumbuhan spermatozoa (spermatogenesis), menggagalkan pematangan sperma, menghambat transportasi sperma melalui degenerasi saluran sperma, dan menghalangi penyimpanan sperma. Kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) banyak ditanam sebagai tanaman hias, semak, dan tumbuh di daerah tropis dan subtropis yang sering digunakan sebagai tanaman lanskap, tanaman pinggir jalan, tanaman pembatas atau sebagai tanaman hias di rumah kaca (Hou *et al.*, 2005).

Daun, bunga dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) mengandung flavanoid,. Disamping itu daunnya mengandung saponin dan polifenol, bunga mengandung saponin dan polifenol, akarnya mengandung tanin saponin, skopoletin, cleomicosin A, cleomicosin C (Harborne, 1996).

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa bagian tanaman kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) yang efektif menurunkan berat, volume testis, dan diameter tubulus seminiferus adalah bunga pada dosis 300. Diduga kandungan senyawa flavanoid, dan saponin yang terdapat pada bunga lebih tinggi daripada bagian daun dan akar. sebagai tambahan penelitian terdahulu dari (Kholkute dalam Joseph F *et al.*, 2008) yang melaporkan bahwa sel sertoli dan tubulus seminiferus yang rusak pada tikus akibat perlakuan pemberian ekstrak kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*). Penelitian Vesudeva dan Sharma (2008) yang melaporkan bahwa tidak terdapat toksisitas pada ekstrak kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) dengan dosis 2000, dan 4000 mg/kg BB.

#### **MATERI DAN METODE PENELITIAN**

Dalam hal ini yang akan diteliti adalah pengaruh ekstrak etanol bunga, daun dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) terhadap berat, volume tetis, dan diameter tubulus seminiferus pada mencit (*Mus muscullus*) jantan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak kelompok (RAK). Sampel yang digunakan adalah 24 ekor mencit dengan berat badan 20-30 gram, berumur 2,5 bulan.

**Pembuatan Ekstrak**

Daun, bunga dan akar kembang sepatu dikering anginkan untuk menjadi simplisia. Saat simplisia sudah kering, dihaluskan dengan cara blender untuk daun dan bunga, sedangkan untuk akar diambil kulitnya terlebih dahulu kemudian digiling atau ditumbuk hingga halus. Setelah semua simplisia halus, kemudian membuat ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Halusan simplisia dibungkus menggunakan kain putih yang tipis kemudian diikat. Setelah diikat di masukkan kedalam toples/wadah dan direndam dengan menggunakan pelarut etanol 70% selama ± 3 hari. Setelah 3 hari air ekstrak dipisahkan dari ekstraknya kemudian didestilasi selama ± 8 jam dengan suhu maksimum 70 °c Kemudian hasil destilasi dioven selama ±2 hari.

**Pemberian Perlakuan**

Perlakuan mencit diberikan secara oral dengan menggunakan sonde sekali sehari selama 35 hari sebanyak 1 ml setiap mencit pada semua perlakuan sedangkan kelompok kontrol diberikan air. Dosis ekstrak yang digunakan adalah 0 mg/kgBB (1), 150 mg/kgBB (2) dan , 300 mg/kgBB (3). Diberi perlakuan pada mencit yaitu dengan 9 perlakuan yaitu 3 kelompok sebagai kontrol dan 2 kelompok diberi konsentrasi berbagai ekstrak yang diberikan secara oral dengan menggunakan alat pencekok oral (sonde). Masing – masing perlakuan diberi 3 kali ulangan.

**Pembuatan Preparat Histologis Testis dengan Metode Parafin**

Setelah dilakukan pembedahan testis mencit diambil dan diamati morfologinya (berat, dan volume). Kemudian testis disiapkan untuk dibuat preparat histologi. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

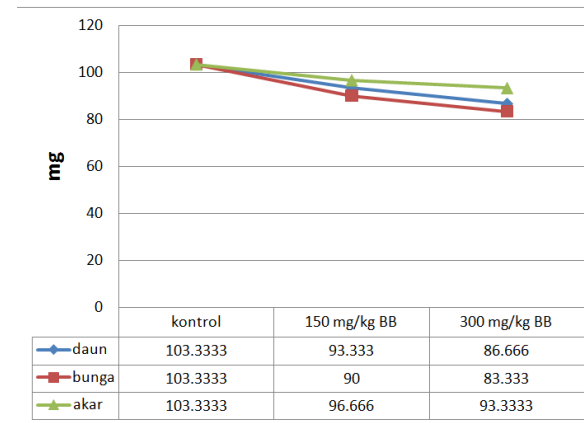
**Analisis data**

Analisis yang digunakan adalah analisis ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*).

**HASIL PENELITIAN**

**Berat Testis**

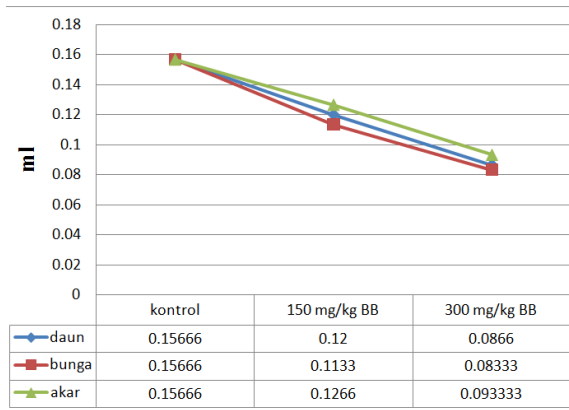
Pemberian ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) menunjukkan berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan dosis 150 dan 300 mg/kg BB. Pada dosis 150 mg/kg BB, menunjukkan bahwa pada akar terdapat perbedaaan nyata terhadap bagian daun dan bunga dengan dosis 300 serta bagian bunga pada dosis 150 mg/kg BB. Perlakuan terbaik untuk menurunkan berat testis adalah bunga 300.



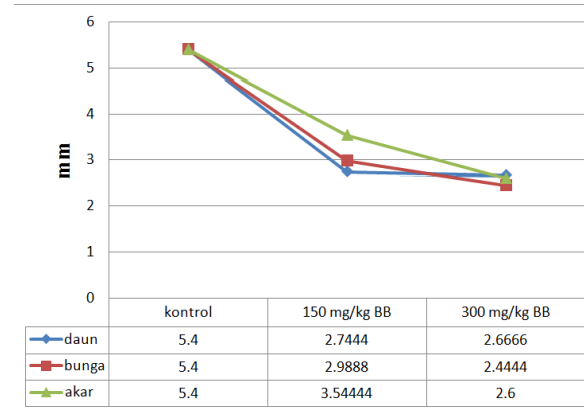
**Gambar 1.** Tingkat penurunan berat testis mencit (*Mus musculus*) pada pemberian ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada kontrol, dosis 150 dan 300 mg/kg BB

**Volume Testis**

Pemberian ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) menunjukkan berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan dosis 150 dan 300 mg/kg BB. Pada dosis 150 mg/kg BB, menunjukkan bahwa pada akar dan daun terdapat perbedaaan nyata terhadap daun, bunga, dan akar dengan dosis 300. Perlakuan terbaik untuk menurunkan volume testis adalah bunga 300, dilihat dari besar penurunan volume testis.



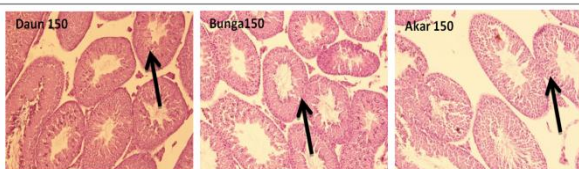
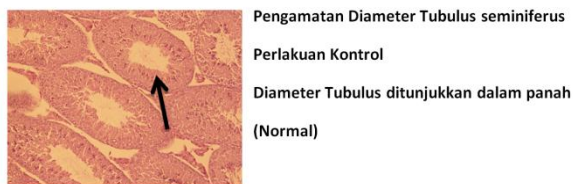
**Gambar 2.** Tingkat penurunan volume testis mencit (*Mus musculus*) pada pemberian ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada kontrol, dosis 150 dan 300 mg/kg BB



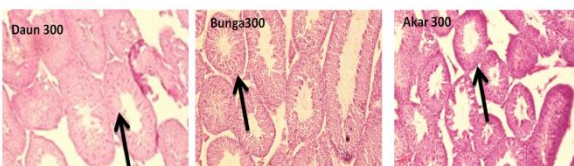
**Gambar 3.** Tingkat penurunan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*) pada pemberian ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada kontrol, dosis 150 dan 300 mg/kg BB

### Diameter Tubulus Seminiferus

Pemberian ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) menunjukkan berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan dosis 150 dan 300 mg/kg BB. Pada dosis 150 mg/kg BB, menunjukkan bahwa pada akar terdapat perbedaan nyata terhadap bunga dan akar dengan dosis 300. Perlakuan terbaik untuk menurunkan diameter tubulus seminiferus adalah bunga 300, dilihat dari besar penurunan diameter tubulus seminiferus.



Perlakuan Daun 150, Bunga 150, dan Akar 150 mg/kg BB  
Terlihat adanya penurunan diameter tubulus akibat perlakuan



Perlakuan Daun, Bunga, Akar 300 mg/kg menunjukkan penurunan diameter tubulus seminiferus

### PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh perlakuan ekstrak etanol bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) pada penurunan berat, volume, dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*). Ekstrak daun, bunga dan akar pada dosis 150, 300 mg/kg BB menunjukkan penurunan berat, volume, dan diameter tubulus seminiferus dibanding kontrol. Bagian tanaman yang optimal dalam menurunkan berat testis adalah ekstrak bunga dengan dosis 300 mg/kg BB. Pada Uji volume testis perlakuan yang paling optimal dalam menurunkan volume testis adalah ekstrak bunga dengan dosis 300 mg/kg BB. Pada uji diameter tubulus seminiferus bagian tanaman yang optimal dalam menurunkan diameter tubulus seminiferus mencit adalah ekstrak bunga dengan dosis 300 mg/kg BB. Kandungan senyawa pada daun, bunga, dan akar kembang sepatu adalah flavanoid. Pada penelitian ini ekstrak bunga, daun, dan akar yang diberikan perlakuan dengan dosis 150 dan 300 mg/kg BB menunjukkan perbedaan nyata terhadap perlakuan kontrol. Menurut Kellis dan Vickery (1984) flavanoid yang disintesis oleh hampir seluruh dunia tumbuhan dapat menghambat enzim aromatase. Enzim aromatase berfungsi sebagai katalis untuk mengonversi androgen menjadi estrogen. Dengan dihambatnya enzim tersebut maka jumlah androgen (testosteron) akan meningkat. Tingginya konsentrasi testosteron akan

menghasilkan kerusakan pada sel sertoli dan tubulus seminiferus (Kholkute, 2007). LH dan FSH dari hipofisa anterior memegang peranan penting dalam mengatur proses biologi reproduksi pada hewan jantan, FSH merangsang proses spermatogenesis dan LH yang sering disebut ICSH (*Interstitial Cell Stimulating Hormone*), merangsang pertumbuhan dan metabolisme sel-sel leydig, untuk memproduksi hormon testosteron. Jumlah sperma dan kadar testosteron dipertahankan konstan oleh mekanisme umpan balik. Jika mekanisme umpan balik negatif terganggu maka kadar FSH dan LH dalam peedaran darah menurun, akibatnya proses spermatogenesis terhenti dan jumlah spermatozoa yang dihasilkan menurun. Melo (2010) menyatakan bahwa testis berukuran normal memiliki hubungan positif dengan potensi substansi fungsional (tubulus seminiferus) yang terkandung dalam testis.

Daun mengandung saponin dan polifenol, bunga mengandung saponin dan polifenol, akar juga mengandung tanin, saponin, skopoletin, cleomiscosin A, cleomiscosin C (Harborne, 1996). Saponin dan alkaloid digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid dan triterpenoid memiliki kaitan dengan biogenesis dengan steroid (Robinson, 1991). Diduga saponin ikut masuk ke dalam jalur biosintesa steroid terutama hormon estrogen sehingga akan dihasilkan bahan yang strukturnya mirip dengan hormon tersebut. Selanjutnya bahan ini disekresi bersama dengan hormon tersebut bersama sel target. Pada sel target bahan tersebut akan masuk ke sel bersama dengan hormon, selanjutnya akan menempati repeter hormon. Akibatnya aksi hormon pada sel target akan berkurang. Menurut Turner dan Bagnara (1976) dikatakan bahwa bahan anti estrogen bekerja secara kompetitif pada lokasi reseptor jaringan sasaran untuk menghalangi aksi steroid estrogen. Saponin digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid, dan digunakan sebagai estrogen kontraseptif. Alkaloid, terutama alkaloid steroid sangat mirip dengan saponin yang digunakan sebagai bahan dasar sintesis beberapa hormon steroid untuk bahan kontrasepsi oral (Robinson, 1991).

Perubahan histopatologi dalam testis dapat dijadikan dasar dari perubahan histologi fungsi spermatogenesis terutama dalam tubulus seminiferus. Fungsi testis adalah produksi

spermatozoa yang dihasilkan oleh bagian tubulus seminiferus dari testis. Berat dan ukuran testis dapat digunakan sebagai indikator kuantitatif produksi spermatozoa. Pengukuran diameter tubulus seminiferus merupakan penentu utama dari berat testis (Munson *et al.*, 1996) dan juga dapat digunakan untuk memprediksi produksi sperma (Krisnalingham, 1982).

Pada penelitian ini pengamatan histopatologi testis menunjukkan bahwa nilai rata-rata berat, volume testis, dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*) pada kelompok perlakuan lebih kecil dibanding dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna dari pemberian ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*). Berkurangnya ukuran diameter tubulus seminiferus mencerminkan adanya hambatan spermatogenesis (Kovacevic *et al.*, 2006) dan juga kemungkinan disebabkan banyaknya sel germinal yang mengalami apoptosis. Dalam epitel seminiferus, apoptosis dapat terjadi secara spontan atau sebagai respon terhadap beberapa faktor seperti agen kemoterapi, suhu tinggi dan hormonal (Costa and Silva, 2006). Testis dibagi oleh septa-septa jaringan ikat menjadi 200 – 300 buah lobuli. Masing-masing lobulus berisi satu sampai empat buah tubulus seminiferus (Gupta, 2005; Sherwood, 2001). Hampir 80% massa testis terdiri dari sel-sel spermatogenik di dalam tubulus seminiferus, sedangkan 20% sisanya terdiri dari jaringan ikat, pembuluh darah dan sel-sel yang ada diantaranya. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa bagian tanaman kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) yang efektif menurunkan berat, volume testis, dan diameter tubulus seminiferus adalah bunga pada dosis 300.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak bunga, daun, dan akar kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) efektif menurunkan berat, volume testis, dan diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*) jantan. Bagian kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) yang menurunkan berat, volume, dan diameter tubulus seminiferus terbaik adalah bunga dengan dosis 300 mg/kg BB.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Costa, D. S., silva, J.F.S. 2006. Wild Boars (*Sus scrofa scrofa*) Seminiferous Tubules Morphometry. ISSN 1516-8913 Vol.49, n. 5: pp. 739-745.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. 18 Jenis Tanaman Obat Turunkan Kesuburan Pria. www.depkes.go.id. Tanggal unduh 12 Juni 2015.
- E, Joseph F. 2014. Evaluation of contraceptive properties of *Hibiscus rosa sinensis* flower petals on sex hormone profiles of males albino rats. *skripsi*. Nigeria Department of Zoology and Environmental Biology, faculty of Science, University of Calabar.
- Govindhaswamy U; Sontakke SD; Srinivasu K; Thomas K; Kholkute SD; Shivaji S. Estrus behavior and fecal steroids profiles in the Asiatic lion (*Panthera leo persica*) during natural and gonadotropin-induced estrus. *Animal Reproduction Science* 101:313-25, 2007.
- Gupta, RS., Chaudhary, R.,Yadav, RK., Verma,SK., Dobhal, MP. 2005. Effect of Saponins of *Albizia lebeck* (L.) Benth bark on the reproductive system of male albino rats. *Jethnopharmacol*; 96 (1-2):31-6.
- Harbone, 1996. Metode Fitokimia Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua. Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- Kellis Jr, JT, Vickery LE. 1984. Inhibition of Human Estrogen Synthetase (Aromatase) by Flavones. *Science*, 225:1032.
- Kovacevic, K., Budefeld; T., Majdic. 2006. Reduction Seminiferous Tubule Diameter in Mice Neonatally Exposed To Perfume. *Slov Vet Res*: 43 (4): 177-83.
- Krishnalingham V, Ladds PW, Entwistle KW, Holroyd RG. 1982. Quantitative macroscopic and histological study of testicular hypoplasia in *Bos Indiscus starin* bulls. *Res Vet Sci.*(2): 131-9.
- Melo, F.C.S.A., Matt, S. L. P., Paula, T. A. R.,Gomes, M. L. M and Oliverira, L. C. (2010).The effects of *Tynnanthus fasciculatus* (Bignoniaceae) infusion on testicular parenchyma of adult wistar rats. *Biol. Res.*, 43:445-450.
- Munson, L., Brown, J., L., Bush, M., Packer, C. 1996. Genetic Diversity Affects Testicular Morphology in Fresh Ranging Lions of The Serengeti Plains and Ngorongoro Creater. *Journal of Reproduction and Fertility* 108.11-15.
- Robinson, T. 1991. Kandungan Organic Tumbuhan Tinggi (Terjemahan Kosasih Padmawinata). Institut Teknologi Bandung.
- Turner CD, Bagnara JT: Endocrinology of The Ovary. General Endocrinology. CD Turner, JT Bagnara (eds), W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1976: 450-495.
- Vesudeva, N & Sharma, SK. Post-coital antifertility activity of *Hibiscus rosa sinensis* Linn. Roots. *Evidence-based Complementary and Alternative medicine*, 2008: 5 (1): 91-94.