

## **Perubahan Morfologi Normal Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus L*) pada Pemberian Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia L*)**

Effect of Bitter Melon Ethanol Extract (*Momordica charantia L*) administration on the Normal Morphology of Spermatozoa in Mice (*Mus musculus L*)

<sup>1</sup>Erina Puspita,<sup>2</sup>R.B Soeherman,<sup>3</sup>Arief Guntara

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, <sup>2</sup>Departemen Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, <sup>3</sup>Departemen Bedah Umum RSUD AL-Ihsan Bandung

Universitas Islam Bandung Jl. Tamansari no.1 40116, Kota Bandung, Provinsi Jawa Barat  
E-mail: puspitaerina@gmail.com

**Abstract.** Due to the rapidly increasing number of population in Indonesia each year. Family planning is an effort of restraining the rapid increase of population growth. However, men tend to show less interest on joining the family planning program. Bitter melon fruit (*Momordica charantia L*) is a plant which can be used as a natural contraception tool for men. The bitter melon contains cucurbitacin which can affect the spermatid differentiation becomes disturbed which affect spermatozoa normal morphology. The objective of this research is to find out the effect of bitter melon ethanol extract administration on the spermatozoa normal morphology of mice. This research was a laboratoric experimental research by using complete random design method which was conducted in Biomedical Laboratory of Medical Faculty of Padjadjaran University. The subject of this research were 28 mice (masculine). The mice were administrated bitter melon ethanol extract orally with the dose of 260 mg/kgWeight, 560 mg/kgWeight, and 1,120 mg/kgWeight for 35 days. Furthermore, mice were dissected and sperm specimens were given safranin staining, rinsed with a buffer solution and stained with crystal violet. Then it was analyzed using a 40x magnification light microscope objective lens. The results of the data were analyzed using the Statistical Product and Service Solution (SPSS) program. The results of the study were as follows: the mean normal morphology of spermatozoa in the control group was 90%, the group dose was 260 mg / kgWeight by 65%, 560 mg / kgWeight by 45.66% and 1,120 mg / kgWeight by 40.66%. The result showed the most significant decreasing point of dose of 1,120 mg/kgWeight. The decreasing spermatozoa normal morphology is also caused by the existence of saponin and momordicoside K ( $C_{37}H_{58}O_9$ ), and L ( $C_{36}H_{58}O_9$ ) in cucurbitacin which the main characteristic is restraining spermatogenesis which hinders the sperma quality so that spermatozoa normal morphology of mice.

**Keywords:** bitter melon, morphology normal spermatozoa

**Abstrak.** Pertumbuhan penduduk di Indonesia bertambah pesat setiap tahunnya. Keluarga Berencana merupakan upaya pencegahan dari laju pertumbuhan penduduk yang sangat pesat, tetapi kecenderungan pria mengikuti program KB masih sedikit. Buah pare (*Momordica charantia L*) merupakan tanaman yang dapat dijadikan sebagai alat kontrasepsi alami bagi pria. Buah pare mempunyai kandungan kukurbitasin yang dapat mengganggu diferensiasi spermatid sehingga mempengaruhi morfologi normal spermatozoa. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol buah pare terhadap morfologi normal spermatozoa mencit jantan. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan metode rancangan acak lengkap yang dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Subjek penelitian yang digunakan adalah 28 ekor mencit jantan. Mencit kemudian diberikan ekstrak etanol buah pare secara peroral dengan dosis 260mg/kgBB, 560mg/kgBB, dan 1.120mg/kgBB selama 35 hari. Selanjutnya mencit dibedah dan spesimen sperma diberikan pewarnaan safranin, dibilas dengan larutan buffer dan diwarnai dengan kristal violet. Selanjutnya dianalisis menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 40x lensa objektif. Hasil data dianalisis menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Hasil penelitian sebagai berikut : rerata morfologi normal spermatozoa pada kelompok kontrol sebesar 90%, kelompok dosis 260 mg/kgBB sebesar 65%, 560 mg/kgBB sebesar 45.66% dan 1.120 mg/kgBB sebesar 40.66%. Hasil paling signifikan pada dosis 1.120 mg/kgBB. Berkurangnya morfologi normal spermatozoa selain disebabkan oleh kukurbitasin terdapat saponin dan momordikosida K ( $C_{37}H_{58}O_9$ ), dan L ( $C_{36}H_{58}O_9$ ) yang menghambat spermatogenesis yang mengganggu morfologi normal spermatozoa mencit jantan.

**Kata kunci : buah pare, morfologi normal spermatozoa**

## **A. Pendahuluan**

Pertumbuhan penduduk di Indonesia setiap tahunnya mengalami peningkatan. Jumlah penduduk pada bulan Mei 2010 diketahui sebesar 237,5 juta jiwa, terdiri dari 119,5 juta jiwa pria dan sebanyak 118,1 juta jiwa wanita.<sup>1</sup> Menurut *World population* 2013, Indonesia merupakan negara ke-5 di dunia dengan estimasi jumlah penduduk terbanyak, yaitu 249 juta jiwa. Indonesia menjadi negara dengan penduduk terbanyak di antara 9 negara anggota ASEAN lainnya.<sup>2</sup>

Laju pertumbuhan yang meningkat akan berpengaruh terhadap kehidupan dan kesejahteraan penduduk. Pemerintah menanggulangi hal tersebut melalui sebuah program nasional berupa Keluarga Berencana (KB). Data Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional (BKKBN) menunjukkan bahwa pada tahun 2013 terdapat 8,5 juta Pasangan Usia Subur (PUS) yang tercatat sebagai peserta KB baru.<sup>2</sup> Dilihat dari jenis kelamin partisipasi pria dalam menggunakan alat kontrasepsi masih rendah dan di dominasi oleh perempuan yang di sebabkan karena keterbatasan alat kontrasepsi pada pria yang masih sedikit dan pengetahuan pria tentang kontrasepsi yang kurang.<sup>3</sup> Alat kontrasepsi untuk pria juga masih memiliki keterbatasan yang mengurangi kenikmatan dalam berhubungan seksual dan tidak nyaman dipakai contohnya kondom.<sup>4,5,6</sup>

Partisipasi pria dalam program keluarga berencana dapat di tingkatkan dengan menyediakan alat kontrasepsi yang efektif dan terjangkau. Bahan kontrasepsi alami memiliki berbagai keuntungan, antara lain toksisitasnya rendah, mudah didapatkan, lebih murah, dan kurang menimbulkan efek samping.<sup>4</sup>

Tanaman pare (*Momordica charantia* L) diketahui memiliki efek penghambatan spermatogenesis karena kandungan kukurbitasin yang digolongkan dalam glikosida triterpen memiliki struktur dasar siklopentan perhidrofenantrena yang juga, dimiliki oleh steroid yang dapat menghambat proses *spermatogenesis* dan bersifat reversibel (sementara) dan tidak bersifat toksik terhadap organ hati.<sup>7,8</sup>

Berdasarkan masalah tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap morfologi normal spermatozoa pada mencit jantan (*Mus musculus* L) dengan tujuan untuk mengetahui dosis efektif yang dapat digunakan sebagai alat kontrasepsi alami bagi pria.

## **B. Landasan Teori**

Keluarga berencana (KB) merupakan suatu program pemerintah yang dirancang untuk menyeimbangkan antara kebutuhan dan jumlah penduduk. Tujuan dari keluarga berencana adalah secara umum untuk meningkatkan kesejahteraan ibu, anak dan mewujudkan masyarakat yang sejahtera. keluarga berencana dapat terwujud ketika ada keterkaitan antara suami dan istri untuk menggunakan alat kontrasepsi, tetapi ketertarikan pria untuk menggunakan alat kontrasepsi sangat sedikit diakibatkan dari keterbatasan alat dan pengetahuan.<sup>9</sup>

Alat kontrasepsi pada pria saat ini adalah kondom dan vasektomi. Kontrasepsi pada pria ini dilakukan dalam beberapa cara<sup>10</sup>:

- a) Bagaimana mencegah sperma agar tidak mencapai sel telur (*ovum*) dengan adanya penghalang fisik contohnya kondom, *vasektomi*, dan penelitian dengan metode *vas occlusion*.
- b) Bagaimana mencegah produksi sperma dengan metode hormonal dan non-hormonal

- c) Bagaimana menghambat fungsi atau kemampuan sperma untuk mengikat sel telur (*ovum*) setelah ejakulasi (*spermisida*, penelitian agen antimotilitas)

Alat kontrasepsi ini dapat menghambat dari proses spermatogenesis, spermatogenesis itu sendiri adalah proses di tubulus seminiferous yang ada di testes dalam memproduksi sperma. Temperatur yang baik dalam regulasi dari spermatogenesis adalah dibawah suhu tubuh ( $37^{\circ}\text{C}$ ), yaitu sekitar  $34^{\circ}\text{C}$ . Prosesnya sendiri diawali dengan spermatogonia tipe A yang akan bermitosis sekitar dua sampai tiga kali atau lebih dan menjadi spermatogonia tipe B yang memiliki inti lebih bulat dan pucat. Spermatogonia tipe B ini akan mengalami diferensiasi menjadi spermatosit primer yang masih seperti spermatogonia, memiliki 46 kromosom ( $2n$ ). Selanjutnya spermatosit primer akan mengalami meiosis I dan membentuk spermatosit sekunder yang memiliki 23 kromosom ( $n$ ) dan masing – masing memiliki dua kromatid. Pada meiosis II empat haploid sel dari spermatosit sekunder menghasilkan spermatid yang juga memiliki 23 kromosom. Proses akhir dari spermiogenesis adalah perkembangan spermatid haploid pada sperma.<sup>11</sup>

Buah pare dapat digunakan sebagai alat kontrasepsi alami bagi pria dikarenakan mengandung bahan yang tergolong dalam glikosida triterpen atau kukurbitasin. Kukurbitasin yang digolongkan dalam glikosida triterpen memiliki struktur dasar siklopentana perhidrofenantrena yang juga dimiliki oleh steroid. Glukosida triterpen atau kukurbitasin bersifat anti pertumbuhan. Dengan demikian kukurbitasin merupakan zat anti proliferasi dan anti diferensiasi sel yang sangat poten. Steroid merupakan bahan baku untuk mensintesis testosteron. Tingginya konsentrasi testosteron akan berefek umpan balik negatif ke hipofisis, yaitu tidak melepaskan FSH dan LH, sehingga akan menghambat spermatogenesis.<sup>3</sup>

### C. Bahan dan Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan Rancangan Acak lengkap (RAL) secara *in vivo* pada mencit jantan (*mus musculus*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Dan telah disetujui oleh komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor : 261/Komite Etik.Fk/III/2018.

Mencit yang digunakan sesuai dengan kriteria inklusi, yaitu mencit jantan (*mus musculus*) dengan berat 20-40 gram, sehat dan usia 8-10 minggu. Pembuatan ekstrak ethanol buah pare dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran, Bandung.

Mencit terlebih dahulu di adaptasi selama 1 minggu. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing-masing berjumlah 7 mencit yaitu, kelompok kontrol (kelompok I) diberikan placebo yang berupa 0,5 mL larutan aquades/mencit/hari dan pakan CP 551; kelompok perlakuan I (kelompok II) diberikan ekstrak ethanol buah pare dengan dosis 280mg/ekor/hari; kelompok perlakuan II (kelompok III) diberikan ekstrak ethanol buah pare dengan dosis 560mg/ekor/hari; kelompok perlakuan III (kelompok IV) diberikan ekstrak ethanol buah pare dengan dosis 1120mg/ekor/hari perlakuan di lakukan selama 35 hari dan diakhir masa perlakuan dilakukan pembedahan untuk dilihat morfologi normal spermatozoa mencit.

Mencit jantan terlebih dahulu di terminasi melalui dislokasi *cervical*. Setelah mencit mati, mencit di bedah dalam posisi terlentang dan diambil duktus epididimisnya. Duktus epididimis dimasukan ke cawan petri yang berisi cairan PBS dan selanjutnya dihancurkan dengan menggunakan gunting (dicacah) supaya sperma

keluar dan langsung dilihat morfologi normal spermatozoa mencit menggunakan mikroskop. Mencit yang sudah mati dan sudah di ambil duktus epididimisnya selanjutnya di kuburkan.

Pemeriksaan morfologi normal spermatozoa mencit dilakukan dengan cara membuat apusan dari suspensi sperma seperti membuat apusan darah tepi, fiksasi menggunakan methanol, di lakukan pewarnaan menggunakan safranin, selanjutnya dibilas dengan larutan buffer, warnai dengan kristal violet, lalu cuci dengan air mengalir dan keringkan. Menghitung morfologi normal spermatozoa dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x lensa objektif. Morfologi normal spermatozoa dihitung dari 100 spermatozoa mencit jantan.

Data hasil perhitungan di uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk test* untuk besar sampel kurang dari 50 mencit dan dinyatakan berdistribusi normal bila nilai  $p > 0,05$ . Data yang berdistribusi normal dilakukan uji *ANOVA Test* untuk melihat efek dari pemberian ekstrak pare. Apabila hasil uji bermakna ( $p < 0.05$ ) maka dilanjutkan dengan uji *Posthoc Test* untuk menguji perbedaan morfologi normal spermatozoa mencit pada setiap kelompok. Uji statistik ini dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS)*.

#### D. Hasil

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran pada bulan Mei 2018 sampai bulan Juni 2018. Pengujian dilakukan terhadap empat kelompok mencit jantan dengan perlakuan yang berbeda untuk melihat morfologi normal spermatozoa. Pada setiap kelompok digunakan enam mencit jantan yang dilihat menggunakan mikroskop cahaya dihitung 100 spermatozoa. Hasil perhitungan jumlah spermatozoa setelah diberi 35 hari ekstrak etanol buah pare dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

**Tabel 1** Hasil Rerata Perhitungan Jumlah Morfologi Normal Spermatozoa

Mencit	Morfologi Normal Spermatozoa (%)				P
	Kontrol	P1	P2	P3	
1	90	80	20	46	0.001
2	87	85	70	62	
3	99	51	63	25	
4	87	56	31	30	
5	93	85	45	26	
6	84	33	45	55	
Rata-rata	90	65	45.66	40.66	

Dilakukan terlebih dahulu uji normalitas data. Distribusi data morfologi normal spermatozoa yang diberikan ekstrak etanol buah pare dengan *Shapiro wilks test* untuk besar sampel kurang dari 50 mencit. Hasil uji normalitas didapatkan data berdistribusi normal dengan didapatkan nilai P morfologi setiap kelompok perlakuan lebih besar dari nilai yang ditentukan ( $\alpha 0.05$ ) atau nilai  $p > 0,05$ , sehingga asumsi distribusi normal terpenuhi.

Data yang berdistribusi normal dilakukan uji parametrik (one way ANOVA) pada derajat kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan antara kelompok perlakuan

dengan kontrol. Hasil uji statistik *ANOVA* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara hasil pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol buah pare terhadap pengurangan morfologi normal secara bermakna dengan nilai  $p < 0,001$  (nilai  $p < 0,05$ ) uji F (nilai  $P = 0,00$ ) menunjukkan pengaruh yang signifikan antara variabel perlakuan terhadap variansi mean morfologi.

Dalam uji Bartlett didapatkan nilai  $P$  lebih besar dari kemaknaan yang ditentukan, disimpulkan bahwa variansi morfologi dalam setiap kelompok adalah sama, *ANOVA* test merupakan uji yang valid untuk menganalisis beda morfologi antar kelompok. Hasil analisis one way didapatkan mean morfologi kelompok kontrol merupakan yang paling besar, sedangkan perlakuan 3 menjadi yang terkecil.

Hasil analisis uji beda antar kelompok didapatkan perbandingan mean morfologi antar kelompok, dimana perbedaan yang paling besar secara signifikan ada antara kelompok perlakuan 3 dan kelompok kontrol (beda  $-49,33$ ,  $P = 0,00$ ), diikuti dengan perbedaan antara kelompok perlakuan 2 dan control (beda  $-44,33$ ,  $P = 0,00$ ). Tidak ada perbedaan mean morfologi yang signifikan secara statistik antara perlakuan 1 dan control, perlakuan 1 dan 2, perlakuan 1 dan 3, maupun perlakuan 2 dan 3.

## E. Pembahasan

Setelah 35 hari masa perlakuan pemberian ekstrak etanol buah pare menghasilkan sedikitnya morfologi normal spermatozoa yang terlihat dan paling signifikan pada dosis 1120 mg/kgBB.

Berkurangnya morfologi normal spermatozoa dipengaruhi oleh kandungan buah pare yaitu kukurbitasin yang digolongkan dalam glikosida triterpen memiliki struktur dasar siklopentana perhidrofenantrena yang juga dimiliki oleh steroid sebagai bahan baku testosterone yang dapat mengakibatkan umpan balik negatif ke hipofisis sehingga FSH dan LH tidak dikeluarkan yang menyebabkan gangguan pada spermatogenesis dan juga kualitas sperma yang berpengaruh pada fertilitas pria. Kandungan saponin dalam buah pare juga dapat meningkatkan hormone steroid yang mengakibatkan adanya *feedback* negatif terhadap hipofisis yang menghambat dari proses spermatogenesis yang mengakibatkan kualitas terutama morfologi spermatozoa normal dari sperma mencit mengalami perubahan. Kandungan momordikosida K ( $C_{37}H_{58}O_9$ ), dan L ( $C_{36}H_{58}O_9$ ) selain menghasilkan rasa pahit juga memiliki efek sitotoksik yang mengakibatkan kerusakan terhadap sel spermatozoa yang mempengaruhi dari proses spermatogenesis yang berakibat terhadap kualitas sperma terutama morfologi normal spermatozoa mencit jantan. berkurangnya pada morfologi normal spermatozoa seiring dengan bertambahnya dosis ini diduga karena semakin banyaknya dosis ekstrak etanol buah pare sehingga kadar kukurbitasin, saponin, dan momordikosida K ( $C_{37}H_{58}O_9$ ), dan L ( $C_{36}H_{58}O_9$ ) semakin meningkat yang akan mempengaruhi morfologi spermatozoa pada mencit.<sup>3,12</sup>

Hasil penelitian Panas Tumkiratiwong, dkk, Thailand 2014 yang memakai dosis ekstrak biji pare sebanyak 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB menyebabkan penurunan infertilitas pada tikus wistar jantan. Mempengaruhi morfologi spermatozoa normal karena perubahan patologis dalam tubulus seminiferous dan epididymis. Perubahan tersebut menyebabkan fungsi testis dan epididymis terganggu yang berakibat pada penurunan kualitas dan kuantitas spermatozoa, motilitas, sperma hidup, morfologi sperma normal dan keberadaan membrane akrosom yang semuanya menyebabkan infertilitas. Dalam penelitian ini juga dijelaskan bahwa ekstrak biji pare dapat menghambat hypothalamus-pituitary-gonad axis (HPG axis) untuk sekresi

gonadotropin-releasing hormone (GnRH) dan anterior pituitari gonadotropin yang mengurangi plasma dari testosterone yang mengakibatkan penurunan kualitas dari spermatozoa normal, meliputi morfologi, jumlah dan motilitas spermatozoa.<sup>13</sup>

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Siti Cholifah, dkk yang menggunakan ekstrak pare dengan dosis yang sebanyak 15mg/100gBB, 25mg/100gBB, 50mg/100gBB dan satu kelompok kontrol diberikan saline fisiologis dan diberikan selama 56 hari mengalami terhadap struktur histologi testis dan struktur histologi epididimis tikus jantan (*Rattus norvegicus*) tetapi kandungan yang ada pada ekstrak pare (kukurbitasin, triterpenoid, steroid) akan berakibat adanya menghambat proses spermatogenesis dan dapat bersifat reversibel, steroid ini akan menghambat *17-beta-hidroksisteroidoksidoreduktase* yang merupakan enzim yang dibutuhkan dalam sintesis androstenodion menjadi testosterone sehingga defisiensi enzim tersebut mengakibatkan penurunan kadar testosterone yang mengganggu proses spermatogenesis pada tikus putih jantan dan juga akan mengakibatkan feedback negatif pada HHT (Hipotalamus Hipofise Testis) sehingga mempengaruhi proses spermatogenesis, terutama pada Sel Leydig dan Sel Sertoli yang berpengaruh pada hormon LH (Luteinizing Hormon) dan FSH (Follicle Stimulating Hormon). Karena proses spermatogenesis terganggu maka pemberian ekstrak pare kemungkinan akan menurunkan produksi sperma meliputi jumlah dan kualitas sperma (morfologi dan motilitas).<sup>14</sup>

Morfologi normal spermatozoa mengalami pengurangan dari hasil uji ANOVA dimulai pada dosis pelakuan ke-2 tetapi pengurangan pada kelompok perlakuan ke-3 dengan dosis 1120 mg/kgBB sangat bermakna, yang artinya dosis efektif ekstrak ethanol buah pare terhadap pengurangan morfologi normal spermatozoa adalah 1120 mg/kgBB.

Berkurangnya morfologi normal spermatozoa mencit dalam penelitian ini cukup membuktikan bahwa pemberian ekstrak ethanol buah pare dapat mengurangi morfologi normal spermatozoa mencit dan bersifat reversibel sebagai alat kontrasepsi alami pada pria, sehingga dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya, baik yang dilakukan pada mencit, atau pada hewan lain yang taksonominya lebih mendekati manusia, atau bahkan pada uji klinik terhadap manusia jika penelitian-penelitian pada hewan sudah mendapat hasil yang sangat akurat, dengan tujuan untuk memperkuat dan membuktikan kembali hasil dari penelitian-penelitian sebelumnya.

## **F. Simpulan**

Ekstrak ethanol buah pare efektif mengurangi morfologi normal spermatozoa mencit jantan, dengan efek terbesar pada pemberian ekstrak ethanol buah pare dosis 1120mg/kgBB.

## **G. Ucapan Terima Kasih**

Saya ucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian ini, yaitu pihak Laboratorium Biomedik fakultas kedokteran Universitas Padjadjaran, pembimbing dan penguji yang telah mendukung berbagai proses sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

## **Pertimbangan Masalah Etik**

Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor : 261/Komite Etik.Fk/III/2018. Aspek penelitian ini prinsip p3R (*Replacement,*

*Reduction, Refinement)*

### Daftar Pustaka

1. Tim SP2010. Penduduk Indonesia. Jakarta: BPS, Badan Pusat Statistik, Jakarta; 2010. 8-19 p.
2. KEMENKES pusat data dan informasi. infodatin-kb. Kementerian Kesehatan RI; 2014. 1-8 p.
3. Jannah A. Pengaruh Pemberian Buah Pare (*Momordica charantia* L) Terhadap Proses Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*). 2012;
4. Ahmad A. Frekuensi dan Determinan Kontrasepsi Pria di Indonesia. *Kesmas J Kesehat Masy Nas*. 2009;3(5):201–8.
5. Frieda M. PENDAHULUAN Sensus penduduk tahun 2010 menunjukkan jumlah penduduk Indonesia berjumlah 237,6 juta. Jumlah ini sangat besar penduduk. (1) Selain itu, angka kematian ibu 228 kematian ibu per 100.000 kelahiran kelahiran masih tinggi. (2) Angka in. 2012;(323):1–3.
6. Priastini R. Tanaman Obat Alami Indonesia Sebagai Alternatif Antifertilitas Laki-Laki. (6).
7. Astuti Y, Fitriana S, Rahayu NS. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Motilitas dan Morfologi Sperma Mencit The effect extract of bitter melon (*Momordica charantia*) consumption on. :26–32.
8. Hernawati. POTENSI BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) SEBAGAI HERBAL ANTIFERTILITAS. FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, editor. FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia;
9. Irianto K. Pelayanan Keluarga Berencana. cetakan ke. Bandung: ALFABETA, cv; 2014. 684 p.
10. Amory JK. Male contraception. Fertil Steril [Internet]. 2016;106(6):1303–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.036>
11. Tortora GJ, Derrickson B. Principles of Anatomy and Physiology 13th ed - G. Tortora, B. Derrickson (Wiley, 2012) BBS.pdf. Principles of anatomy and physiology. 2013. 893-4 p.
12. Aisatul J. Pengaruh pemberian buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap proses spermatogenesis mencit (*Mus musculus*). 2009 Apr;
13. Tumkiratiwong P, Ployattarapinyo R, Pongchairerk U, Thong-Asa W. Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. *Iran J Reprod Med*. 2014;12(10):695–704.
14. Cholifah S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia*, L) Terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Jantan. 2014;(2):149–57.