

Struktur Histopatologi Testis Tikus Wistar dengan Aktivitas Fisik Berlebih yang Diberikan Ekstrak Daun Kelor

(HISTOPATHOLOGICAL STRUCTURE OF WISTAR RATS TESTICLE WITH EXCESSIVE PHYSICAL ACTIVITIES THAT GIVEN KELOR LEAF EXTRACT)

Luh Sri Gunawati¹, I Ketut Berata², Ni Luh Eka Setiasih³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Patologi Veteriner,

³Laboratorium Histologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: permen20@gmail.com

ABSTRAK

Aktifitas fisik berlebih merupakan salah satu pemicu penurunan produksi sperma dikarenakan radikal bebas yang terbentuk akibat aktifitas fisik berlebih merusak jaringan yang kaya akan asam lemak tak jenuh ganda, salah satunya adalah testis. Daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang kaya akan antioksidan, serta memiliki kandungan yang dapat meningkatkan produksi sperma. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi testis tikus wistar dengan aktifitas fisik berlebih setelah pemberian ekstrak daun kelor. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus wistar berumur 3-4 bulan dengan berat 150-200 gram yang dibagi menjadi lima kelompok. Perlakuan stress dilakukan dengan merenangkan tikus empat kali dalam seminggu selama 21 hari, kemudian diberikan ekstrak daun kelor dengan dosis 100, 200, 300 mg/kg berat badan. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-21, organ difiksasi dengan larutan NBF 10% selama 24 jam, selanjutnya dibuat preparat histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Variabel yang diperiksa adalah perubahan struktur histopatologi berupa jumlah sel spermatogenik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor dosis 300 mg/kg berat badan berefek baik pada peningkatan sel spermatogenik.

Kata-kata kunci: aktifitas fisik berlebih; *Moringa oleifera*; tikus; histopatologi testis

ABSTRACT

Excessive physical activity is one of the triggers for decreased sperm production because of free radicals that are formed due to excessive physical activity damage tissues that are rich in polyunsaturated fatty acids, one of which is the testicles. *Moringa oleifera* is a plant that is rich in antioxidants, and has a content that can increase sperm production. This study aims to determine the histopathological description of wistar rat testes with excessive physical activity after administration of Moringa leaf extract. This study used 25 wistar rats aged 3-4 months with a weight of 150-200 grams divided into five groups. Stress treatment was carried out by seizing rats four times a week for 21 days, then giving Moringa leaf extract at a dose of 100, 200, 300 mg / kg body weight. Sampling was carried out on the 21st day, the organs were fixed with 10% NBF solution for 24 hours, then histological preparations were made with Hematoxylin Eosin (HE) staining. The variables examined were histopathological structure changes in the

form of spermatogenic cell counts. The results showed that kelor leaf extract dose of 300 mg / kg body weight had a good effect on the increase of spermatogenic cells.

Keywords: excessive physical activity; *Moringa oleifera*; rats; testicular histopathology

PENDAHULUAN

Aktivitas fisik seperti olahraga berperan penting dalam menjaga kesehatan dan menurunkan risiko timbulnya berbagai penyakit dikemudian hari. Olahraga dapat menurunkan risiko penyakit, seperti penyakit jantung koroner, hipertensi, obesitas, gagal jantung, depresi, dan diabetes melitus. Aktifitas fisik yang dilakukan secara berlebihan dapat menimbulkan efek negatif, hal ini dikarenakan mitokondria penghasil *reactive oxygen species* (ROS) dapat meningkatkan penggunaan oksigen sebanyak 10 sampai 15 kali lipat pada saat berolahraga. Peningkatan oksigen pada aktivitas berlebih ini akan meningkatkan produksi radikal bebas (Manna *et al.*, 2004^a). Pembentukan radikal bebas yang melebihi batas normal akan membuat sel mengalami kerusakan yang disebut stress oksidatif (Radak *et al.*, 2013). Manna *et al.* (2004^b) menyatakan bahwa, *reactive oxygen species* (ROS) dapat merusak hampir semua makromolekul seluler termasuk membran asam lemak tak jenuh ganda, beberapa protein dan DNA, serta berpotensi menurunkan fungsi seluler.

Membran testis kaya akan asam lemak tak jenuh ganda sehingga rentan terhadap stress oksidatif (Du Plessis *et al.*, 2011). Aktivitas testikular steroidogenik dan gametogenik memiliki tingkat sensitifitas terhadap radikal bebas dan ROS (Manna *et al.*, 2004^a). Pelatihan olahraga ketahanan jangka panjang dapat menurunkan produksi testosteron (Moayeri *et al.*, 2017), yang selanjutnya dapat berkorelasi pada perubahan tubulus seminiferus dimana terjadi penurunan sel spermatogenik serta dapat menurunkan kualitas spermatozoa (Shangishetti *et al.*, 2017) sehingga meningkatkan risiko infertilitas (Afolabi *et al.*, 2013), oleh karena itu antioksidan sangat diperlukan oleh jaringan untuk menetralkan radikal bebas.

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki berbagai tanaman yang kaya akan antioksidan. Salah satunya adalah kelor (*Moringa oleifera*). Daun kelor memiliki banyak antioksidan dengan kadar tinggi, seperti asam fenolik (*ellagic, chlorogenic, gallic* dan *ferulic acid*), glukosinolat dan flavonoid (*kaempferol, quercetin* dan *rutin*). Kelor merupakan sumber β -karoten (prekursor vitamin A) dan vitamin B kompleks, C, D dan K. Antioksidan ini efektif dalam mencegah kerusakan oksidatif untuk mengurangi produksi radikal bebas dan peroksidasi

lipid (Ojo dan Abdurahman, 2017). Prabsattroo *et al.* (2012) menyebutkan bahwa, kelor merupakan agen potensial untuk mengelola disfungsi seksual karena mengandung asam fenolik dan flavonoid yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat gambaran histopatologi testis tikus wistar dengan aktivitas fisik berlebih yang diberikan ekstrak daun kelor dengan cara penghitungan jumlah sel spermatogenik.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus wistar jantan (150-200gr dan berumur 3-4 bulan) yang dibagi menjadi lima kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Kelompok P₀ dijadikan sebagai kontrol negatif dimana tidak diberi perlakuan, P₁ (kontrol positif) diberi pelatihan fisik yaitu direnangkan, kemudian P₂, P₃, dan P₄ direnangkan serta diberikan ekstrak daun kelor berturut-turut dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB. Perenangan dilakukan selama 21 hari dengan ketentuan empat kali perenangan dalam satu minggu (12 menit 30 detik per hari). Latihan renang mengacu pada penelitian Arsana (2014) dimana perenangan dilakukan sampai 70% sebelum batas maksimal kemampuan tikus. Penelitian telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana dengan Nomor : 937 / UN14.2.9 / PD / 2019.

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara menganestesi tikus (kombinasi *ketamine-xylazine* dosis 0,1mg/200gBB), kemudian dilakukan euthanasia melalui emboli pada jantung. Garis median abdominal diinsisi untuk mengekspos organ reproduksi. Testis kemudian ditarik keluar dari skrotum, lalu di bersihkan dari jaringan disekitarnya. Selanjutnya dimasukkan ke dalam pot organ berisi NBF 10% untuk dibuatkan preparat histopatologi.

Variabel yang diamati adalah struktur histopatologi berupa sel spermatogenik pada tubulus seminiferus. Pembesaran yang digunakan adalah 400x dan 1000x untuk menghitung sel-sel spermatogenik. Setiap tikus diambil lima tubulus yang dianggap bulat dan spermatogenesisnya terlihat jelas. Penghitungan dilakukan pada lima lapang pandang. Data sel spermatogenik tubulus seminiferus tiap lapang pandang dijumlahkan kemudian dirata-ratakan sehingga didapatkan hasil dari seekor tikus.

Data sel spermatogenik dianalisis secara statistik dengan *Multivariate Analysis of Varians* (ANOVA), jika terdapat beda nyata ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penghitungan sel spermatogenik dapat dilihat pada Tabel 1. Uji statistik menunjukkan penurunan jumlah sel spermatogonia yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol positif (P_1) dibandingkan dengan kontrol negatif (P_0). Jumlah spermatisit dan spermatid pada P_1 juga mengalami penurunan (Gambar 1) meskipun secara statistik tidak menunjukkan beda nyata.

Tabel 1. Rata-rata jumlah sel spermatogenik tikus dengan aktivitas fisik berlebih yang diberikan ekstrak daun kelor

Kelompok	Rata-rata \pm SD Spermatogonia	Rata-rata \pm SD Spermatisit	Rata-rata \pm SD Spermatid
P0	66.08 \pm 9.67 ^{bc}	73.48 \pm 8.77 ^{bc}	143.56 \pm 6.51 ^a
P1	57.96 \pm 3.10 ^a	67.44 \pm 5.87 ^{ab}	139.24 \pm 4.94 ^a
P2	60.52 \pm 2.41 ^{ab}	64.96 \pm 5.19 ^a	155.56 \pm 7.67 ^b
P3	63.04 \pm 4.92 ^{abc}	72.76 \pm 4.30 ^{abc}	155.92 \pm 4.23 ^b
P4	70.08 \pm 4.60 ^c	77.88 \pm 4.38 ^c	156.00 \pm 6.61 ^b

^{a,b,c} superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

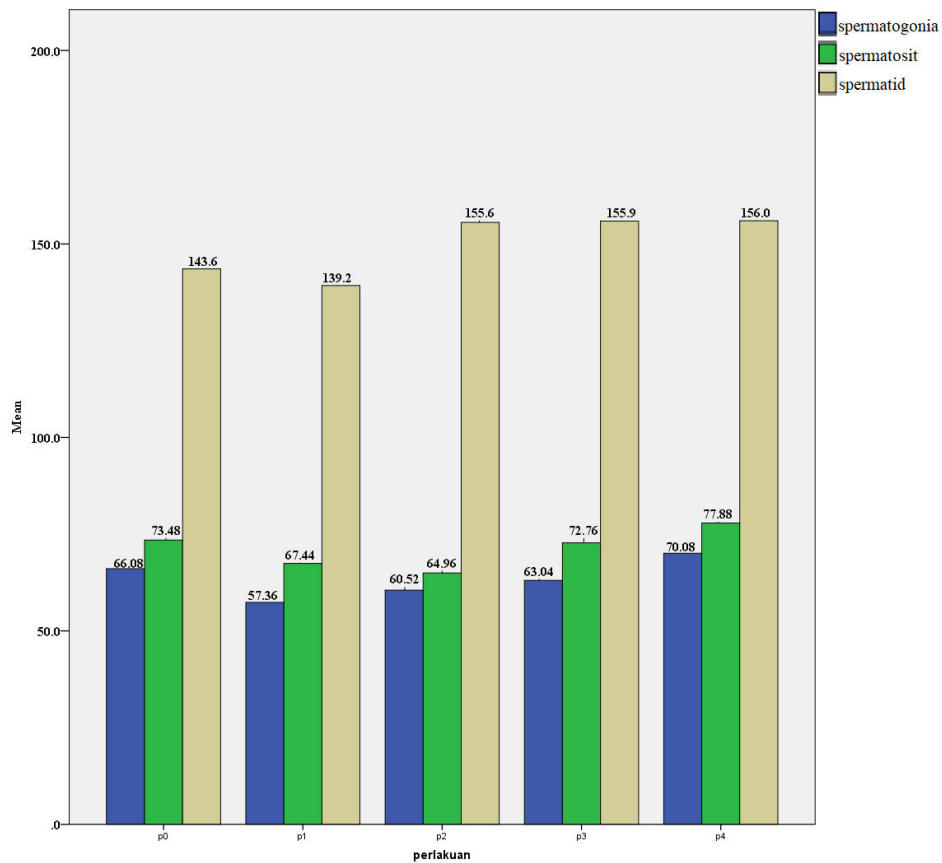
Kelompok dengan aktifitas fisik berlebih yang diberikan ekstrak daun kelor dengan dosis 300mg/kgBB(P_4) berpengaruh nyata ($p < 0,05$) pada peningkatan jumlah sel spermatogenik jika dibandingkan dengan kontrol positif. Jumlah spermatogonia dan spermatisit kelompok P_4 tidak berbeda dengan kontrol negatif. Kelompok perlakuan pemberian ekstrak 100 mg/kgBB (P_2) dan 200 mg/kgBB (P_3) tidak menunjukkan perbedaan nyata pada peningkatan jumlah spermatogonia dan spermatisit jika dibandingkan dengan kontrol positif. Perbedaan nyata terlihat antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan pada jumlah spermatid, sedangkan antar kelompok perlakuan pemberian ekstrak 100 mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan nyata.

Pemeriksaan mikroskopis tubulus seminiferus dapat dilihat pada Gambar 2. Kelompok kontrol negatif (P_0) terlihat susunan sel spermatogenik yang normal sesuai dengan tingkat perkembangannya mulai dari spermatogonia sampai spermatozoa. Kelompok dengan aktifitas fisik berlebih (P_1) susunan sel spermatogeniknya terlihat lebih longgar dibandingkan P_0 . Susunan sel yang longgar ini mungkin disebabkan oleh jumlah sel spermatogenik yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (P_0). Kelompok perlakuan P_2 yaitu kelompok yang diberikan aktivitas berlebih dan ekstrak daun kelor 100 mg/kgBB, mendekati tampilan P_1

namun susunan selnya terlihat lebih rapat. Kelompok perlakuan P₃ dan P₄ yang diberikan ekstrak daun kelor 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB mendekati kontrol negatif.

Aktivitas fisik berlebih merupakan salah satu pemicu terjadinya stress oksidatif akibat peningkatan jumlah ROS sehingga dapat merusak membran sel dan meningkatkan peroksidasi lipid, bila berlanjut akan mengakibatkan kerusakan sistem membran sel dan kematian sel (Jannah *et al.*, 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas fisik berlebih dapat menurunkan jumlah spermatogonia kelompok P₁ serta pada pengamatan mikroskopis, susunan sel spermatogenik tubulus seminiferus terlihat lebih longgar daripada kelompok P₀. Susunan sel spermatogenik yang longgar ini terjadi karena ketidakseimbangan proliferasi dan kematian sel dalam jangka waktu lama (Jannah *et al.*, 2018). Radikal bebas yang meningkat didalam tubuh mengganggu proses pembelahan sel-sel germinal dari spermatogenesis awal yang menyebabkan banyaknya sel spermatogonium tidak berhasil mengalami proliferasi ke tahap selanjutnya (Turner, 1988). Tahap proliferasi, spermatogonium mengalami pembelahan sehingga menghasilkan spermatogonium tipe A dan spermatogonium tipe B. Spermatogonium tipe A akan mengalami pembelahan dan membentuk spermatogonium intermediet yang selanjutnya akan membelah menjadi spermatogonium tipe B. Spermatogonium tipe B akan mengalami pembelahan mitosis dan membentuk spermatosit primer (Rojaz *et al.*, 2017). Stress oksidatif yang terjadi pada sel akan menyebabkan terjadinya apoptosis yaitu kematian pada sel sehingga sel-sel spermatogonium yang rusak akan difagositosis oleh sel sertoli.

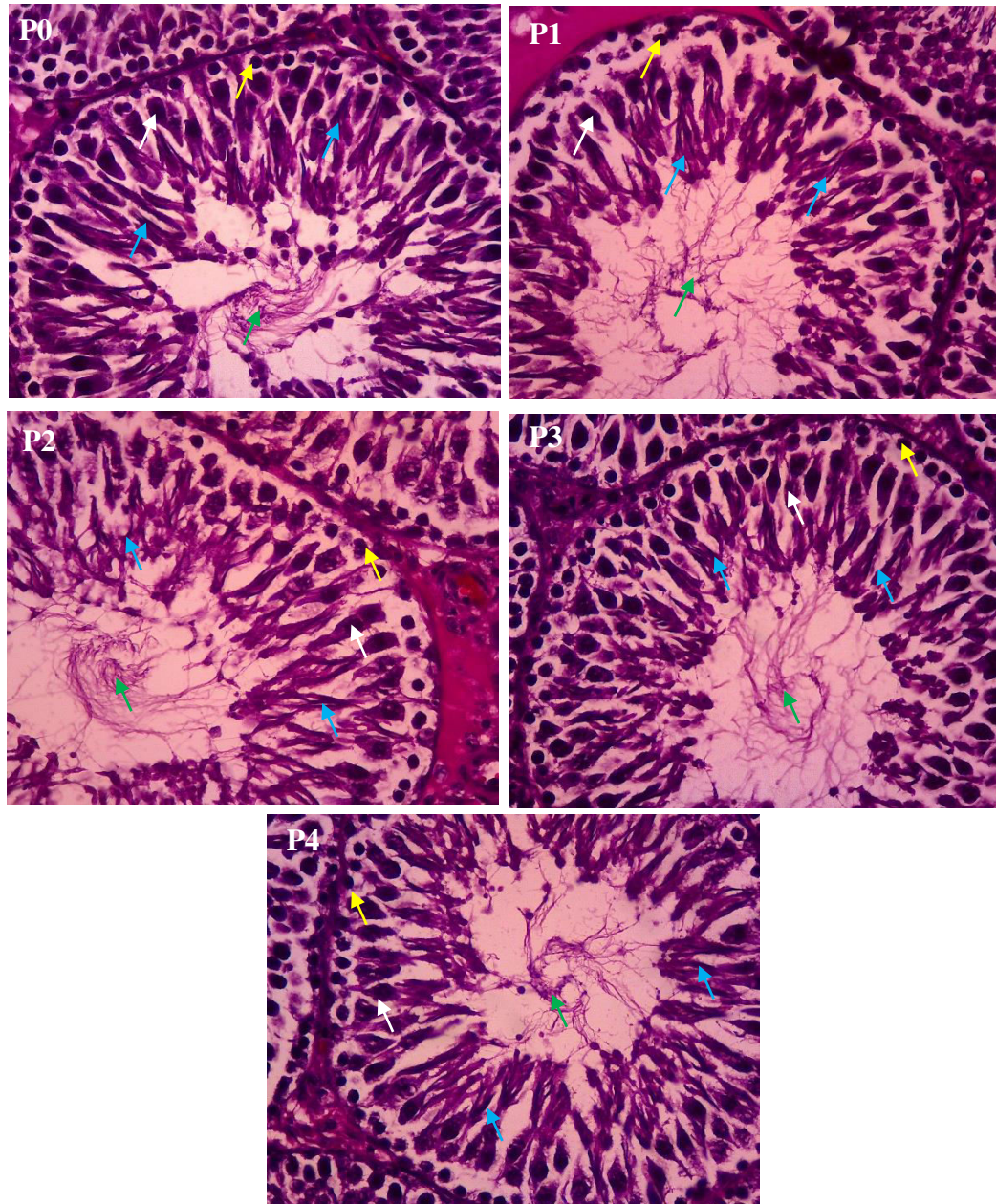
Penurunan jumlah spermatosit dan spermatid pada kelompok P₁ juga terjadi meskipun tidak berbeda nyata secara statistik. Stress kronis menyebabkan perubahan pada testis seperti penurunan jumlah dan diameter tubulus seminiferus, serta penurunan jumlah dan ukuran sel leydig dan sel spermatogenik, selain itu menimbulkan penurunan area epitel seminiferus pada tahap I-VIII dari siklus spermatogenik (Juárez-Rojas *et al.*, 2017). Manna *et al* (2003) menyatakan gangguan spermatogenik diinduksi latihan renang mengurangi jumlah generasi sel germinal yang berbeda pada tahap VII dalam siklus spermatogenik. Penghambatan spermatogenesis ini dapat terjadi karena kadar LH dan testosteron yang rendah (Manna *et al.*, 2003). Penelitian Nirupama *et al.* (2013) juga menunjukkan bahwa berkurangnya sekresi testosteron menyebabkan penurunan berat testis dan jumlah sel germinal, termasuk sebagian besar sel germinal androgen.



Gambar 1. Diagram perbandingan rata-rata sel spermatogonia (biru), spermatosit (hijau), dan spermatid (kuning)

Stress oksidatif akibat aktivitas fisik berlebih menimbulkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen. Ketidakseimbangan ini dapat diatasi dengan asupan antioksidan eksogen. Antioksidan ini akan melindungi sel germinal terhadap kerusakan oksidatif yang merupakan faktor utama yang menyebabkan apoptosis sel germinal pada tubulus seminiferus (Nirupama *et al.*, 2013). Salah satu sumber antioksidan eksogen yang berpotensi dalam menangkal radikal bebas dan meningkatkan jumlah sel spermatogenik adalah daun kelor (*Moringa oleifera*). Afolabi *et al.* (2013) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun kelor mampu meningkatkan jumlah sel germinal pada tikus cryptorchid. Pernyataan tersebut sejalan dengan hasil penelitian, dimana terjadi peningkatan sel spermatogenik pada masing-masing kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak meskipun pada kelompok P₂ terjadi penurunan pada sel spermatosit namun pada hasil analisis statistik tidak menunjukkan beda nyata. Penurunan spermatosit pada kelompok P₂ mungkin dikarenakan pemberian dosis rendah sehingga tidak

terlalu berpengaruh dalam mengembalikan kadar FSH normal yang berperan dalam tahap spermasitogenesis.



Gambar 2. Mikroskopis tubulus seminiferus (HE, 400x). sel spermatogonium (panah kuning), sel spermatosit (panah putih), sel spermatid (panah biru), dan spermatozoa (panah hijau). terlihat susunan sel spermatogenik lebih longgar pada P1 dibandingkan dengan kontrol negatif (P0)

Peningkatan sel spermatogenik yang paling baik adalah pada pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 300 mg/kgBB jika dibandingkan dengan kontrol positif, hal tersebut mungkin

dikarenakan adanya kandungan asam askorbat pada daun kelor. Dafaalla *et al.* (2017) menyatakan bahwa daun kelor memiliki kandungan asam askorbat dan merupakan salah satu antioksidan yang kuat. Asam askorbat akan melindungi otak dan cairan otak dalam melawan radikal bebas sehingga terlindungi dari kerusakan dan kelenjar hipofisis akan memproduksi hormon-hormon seperti FSH serta LH dengan normal (Nugraheni *et al.*, 2003). Menurut penelitian Nugraheni *et al.* (2003) asam askorbat dapat meningkatkan jumlah sel spermatogonia, spermatisit dan spermatid, pernyataan tersebut sejalan dengan hasil penelitian, dimana jumlah spermatogonia dan spermatisit kembali normal seperti kontrol negatif. Daun kelor juga memiliki kandungan flavonoid yang dapat meningkatkan sekresi testosteron (Ogunsola *et al.*, 2017). Flavonoid dalam daun kelor merupakan antioksidan terkenal yang mencegah stress oksidatif dan gangguan testis pada hewan (Kathun dan Varma, 2017). Flavonoid juga dapat meningkatkan jumlah sel sperma dengan cara mencegah adanya kerusakan membran spermatozoa yang menyebabkan terganggunya proses spermatogenesis.

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan cara memberikan suasana asam pada medium, meregenerasi antioksidan utama, mendeaktifkan kontaminan logam peroksida, menangkap O_2 , mengikat singlet O_2 dan mengubah menjadi bentuk triplet O_2 (Purnawati, 2006). Peningkatan pada hormon testosteron pada umumnya akan menghambat sekresi hormon FSH, namun hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor pada dosis 300 mg/kgBB tidak menghambat perkembangan sel spermatogenik, sehingga jumlah sel kembali normal. Testis, epididimis, dan organ reproduksi lainnya secara struktural dan fisiologis tergantung pada kadar LH, FSH dan testosteron untuk produksi dan pematangan sel sperma. Testosteron dan LH, FSH menstimulasi pertumbuhan dan fungsi sekresi organ reproduksi pria, oleh karena itu peningkatan hormon-hormon ini menyebabkan peningkatan jumlah sel dan motilitas sperma (Ogunsola *et al.*, 2017).

SIMPULAN

Pemberian ekstrak daun kelor dosis 300 mg/kgBB setelah aktivitas fisik berlebih menimbulkan perubahan struktur histopatologi berupa peningkatan produksi sel spermatogenik dibandingkan dengan hewan kontrol.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat ekstrak daun kelor dengan dosis lebih dari 300mg/kgBB pada aktifitas fisik berlebih dengan jangka waktu yang lebih bervariasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rumah Sakit Hewan Universitas Udayana, Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Balai Besar Veteriner (BBVET) dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afolabi AO, Aderoju HA, Alagbonsi IA. 2013. Effect of methanolic Extract of Moringa Oleifera Leaves on Semen and Biochemical Parameters in Cryptorchid Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 10: 230-235.
- Arsana IN. 2014. Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Dan Pelatihan Fisik Menurunkan Stress Oksidatif Pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Selama Aktivitas Fisik Maksimal. (Disertation). Denpasar:Universitas Udayana.
- Dafaalla MM, Abass S, Abdoun S, Hassan AW, Idris OF. 2017. Effect of Ethanol Extract of *Moringa oleifera* Seeds on Fertility Hormone and Sperm Quality of Male Albino Rats. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*. 4:222-226.
- Du Plessis SS, Kashou A, Vaamonde D, Agarwal A. 2011. Is There a Link Between Exercise and Male Factor Infertility?. *The Open Reproductive Science Journal*. 3: 105-113.
- Jannah H, Setiasih NLE, Suastika P. 2018. Histopatologi Testis Tikus Penderita Diabetes Mellitus Pasca Pemberian Ekstrak Daun Kelor. *Buletin Veteriner Udayana*. 10:176-182.
- Juárez-Rojas L, Viguera-Villaseñor RM, Casillas F, Retana-Márquez S. 2017. Gradual decrease in spermatogenesis caused by chronic stress. *Acta Histochemica*. 119: 284–291.
- Kathun S, Varma MC. 2017. Role of Moringa oleifera Leaf Extract on Silk Dye Waste Effluent Induced Histopathotoxicity on Liver and Testis of Swiss Albino Male Mice *Mus musculus*. *IOSR Journal Of Pharmacy*. 7:1-7.
- Manna I, Jana K, Samanta PK. 2003. Effect of Intensive Exercise-Induced Testicular Gametogenic and Steroidogenic Disorders in Mature Male Wistar Strain Rats: A Correlative Approach to Oxidative Stress. *Acta Physiol Scand*. 178:33-40.
- Manna I, Jana K, Samanta PK. 2004^a. Effect of Different Intensities of Swimming Exercise on Testicular Oxidative Stress and Reproductive Dysfunction in Mature Male Albino Wistar Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 42:816-822.
- Manna I, Jana K, Samanta PK. 2004^b. Intensive Swimming Exercise-Induced Oxidative Stress and Reproductive Dysfunction in Male Wistar Rats: Protective Role of α -Tocopherol Succinate. *Canadian Journal of Applied Physiology*. 29: 172–185.
- Moayeri A, Mokhtari T, Hedayatpour A, Abbaszadeh HA, Mohammadpour S, Ramezanikhah H, Shokri S. 2017. Impact of Melatonin Supplementation in The Rat Spermatogenesis Subjected to Forced Swimming Exercise. *Journal Of Andrology Andrologia*. 1:1-9.

- Nugraheni T, Astirin OP, Widiyani T. 2003. Pengaruh Vitamin C terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*). *Biofarmasi*. 1:13-19.
- Nirupama M, Yajurvedi HN. 2013. Durational Effect of Chronic Stress on The Testicular Damage and Its Reversibility in Albino Rat. *European Journal of Experimental Biology*. 3:229-239.
- Ojo OA, Abdurahman KO. 2017. Effect of Moringa Oleifera Leaf Extract (Mole) on some Reproductive Parameters of Rabbits Reared in a Semi-Humid Environment. *Global Journal of Science Frontier Research: D Agriculture and Veterinary*. 17: 7-12.
- Ogunsola OA, Owolabi JO, Fabiyi OS, Nwobi NL, Faluyi B, Akinbola AS. 2017. Moringa Plant Part Consumption Had Effect on Reproductive Function in male and Female Rat Models. *IOSR Jorunal of Dental and Medical Sciences*. 16:82-86.
- Purnawati D. 2006. Pengaruh pemberian jus buah Tomat (*Lycopersicum esculentum mill*) terhadap jumlah spermatozoa mencit *Balb/c* jantan yang diberi paparan asap rokok. *Artikel karya tulis ilmiah*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Prabsattroo T, Wattanathorn J, Iamsaard S, Muchimapura S, Thukhammee W. 2012. Moringa Oleifera Leaves Extract Attenuates Male Sexual Dysfunction. *American Journal of Neuroscience*. 3: 17-24.
- Radak Z, Zhao Z, Koltai E, Ohno H, Atalay M. 2013. Oxygen Consumption and Usage During Physical Exercise: The Balance Between Oxidative Stress and ROS-Dependent Adaptive Signaling. *Antioxidants & Redox Signaling*. 18: 1208–1246.
- Rojas J, Lizbeth, Fahiel C, Socorro RM. 2017. Stress and Cell Death in Testicular Cells. *Journal of Antimicrobial Agent*. 6: 1-7.
- Sangishetti VP, Nandal DH, Nayak BB, Ghongane BB, Shinde BB, Kunkulol RR. 2017. Effect of Stress on Histopathology of Male Reproductive System in Rats. *International Journal of Current Research in Physiology and Pharmacology*. 1: 13-18.
- Turner CD, Bagnara JD. 1988. *Endokrinologi Umum*. 6th ed. Universitas Airlangga: Surabaya.