

**Efektivitas Proteksi Ekstrak Buah Bit (*Beta vulgaris*) dalam Mempertahankan Kemampuan Spermatogenesis Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>)**

**Protection Effectiveness Of Bit (*Beta vulgaris*) Fruit Extract In Maintaining Spermatogenesis Ability In White Rats (*Rattus novergicus*) Induced Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)**

Alvyan Lantang Anugrah<sup>1</sup>, Hana Eliyani<sup>2</sup>, Budi Utomo<sup>3</sup>, Suherni Susilowati<sup>3</sup>,  
Maslichah Mafruchati<sup>2</sup>, Rochmah Kurnijasanti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Student Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, <sup>2</sup>Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, <sup>3</sup>Department of Veterinary Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, <sup>4</sup>Department of Basic Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga

Corresponding author: [alvyan.la-2015@fkh.unair.ac.id](mailto:alvyan.la-2015@fkh.unair.ac.id)

**ABSTRACT**

The aim of this research was to know whether beetroot (*Beta Vulgaris*) extract could protect spermatogenesis by maintaining spermatogenic and sertoli cell count in rats (*Rattus novergicus*) induced with CCl<sub>4</sub>. Rats were given beetroot extract daily, for 14 days and 3ml/kg BW CCl<sub>4</sub> intraperitoneally one hour after last treatment. This study used twenty rats which were divided equally into 5 groups. K(-), the negative control group was not induced with CCl<sub>4</sub> and only given 1% CMC-Na suspension. K(+), the positive control group was induced with CCl<sub>4</sub> and given 1% CMC-Na suspension. P1, P2 and P3 were given beet root extract with doses of 200, 400, and 800 mg/kg BW daily before feeding. All of the beetroot treatment were given orally (2 ml). After 24 hours CCl<sub>4</sub> induction, rats were sacrificed and testis were collected to make histology slides. The observations showed significantly different (p<0,05) in all of variables. Result showed significant differences in spermatogenic and sertoli cells between K(-) and K(+) groups, K(+) with P2 and P3 group, and showed insignificant difference between P2 and P3 group in spermatogenic and sertoli cells. The result of this research showed that beetroot extract could protect the spermatogenic and sertoli cells in male rats induced with CCl<sub>4</sub>.

**Keywords:** *Beta vulgaris*, Spermatogenesis, Carbon Tetrachloride

**Received:** 02-09-2021

**Revised:** 03-10-2021

**Accepted:** 16-11-2021

**PENDAHULUAN**

Pemuliaan ternak dan pengembangan bibit unggul peternakan sangat membutuhkan spermatozoa yang berkualitas baik dalam proses fertilisasi. Spermatozoa dihasilkan melalui proses spermatogenesis di testis dan memerlukan kondisi optimal untuk mendapat spermatozoa yang berkualitas. Sistem reproduksi hewan jantan adalah salah satu organ yang sangat sensitif dan paling rentan dalam

tubuh. Sedikit perubahan terhadap lingkungan dan faktor pengganggu dari luar dapat mempengaruhi kemampuan fertilitas sperma, infertilitas, dan kecacatan keturunan (Polishchuk *et al.*, 2018).

Salah satu faktor menurunnya fungsi sperma adalah adanya stress oksidasi yang terlihat dari regenerasi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) oleh spermatozoa dan gangguan pada sistem

perlindungan antioksidan enzimatik pada saluran reproduksi jantan. ROS berperan penting dalam patogenesis dari banyak proses reproduksi dan terutama pada mekanisme kemandulan pada hewan jantan (Abdallah *et al.*, 2009). Stress oksidatif merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi fertilitas melalui adanya peroksidasi lemak yang mengarah pada disfungsi sperma (Badade *et al.*, 2011)

Peningkatan ROS dalam tubuh dapat dikorelasikan dengan adanya paparan radikal bebas yang diterima tubuh. Salah satu senyawa radikal bebas adalah karbon tetraklorida ( $CCl_4$ ), yang dulu pernah digunakan secara luas sebagai pendingin ruangan, pemadam api maupun campuran cairan pembersih. Absorpsi  $CCl_4$  dapat melalui banyak jalur seperti melalui gastrointestinal, respirasi, kulit maupun laktasi (US EPA, 2017). Produk metabolisme dari  $CCl_4$  dalam tubuh memicu terbentuknya triklorometil radikal ( $CCl_3$ ) dan triklorometil peroksi radikal ( $CCl_3O_2$ ). Triklorometil dan triklorometil peroksi radikal adalah produk metabolisme  $CCl_4$  yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan kerusakan seluler dengan berikatan dengan makromolekul sel yang memproduksi asam nukleat, protein dan lemak sehingga dapat timbul stress oksidatif (US EPA, 2017).

Farmakologi modern menunjukkan bahwa ekstrak buah bit memiliki kemampuan antihipertensi, aktifitas hipoglikemik sama dengan kemampuannya yang baik dalam aktifitas antioksidan (Barbarykin *et al.*, 2019). Kandungan betalain utama buah bit dalam bentuk betanin (betanidin-5-O-beta-glucoside) yang mengandung grup amina penolik dan siklik yang berperan sebagai antioksidan. Sistem perlindungan antioksidan yang pertama kali diidentifikasi dapat melawan kerusakan oksidasi, yaitu mencegah ROS yang muncul, menghambat, dan

menangkap radikal yang terbentuk (Pisoschi and Pop 2015).

## METODE

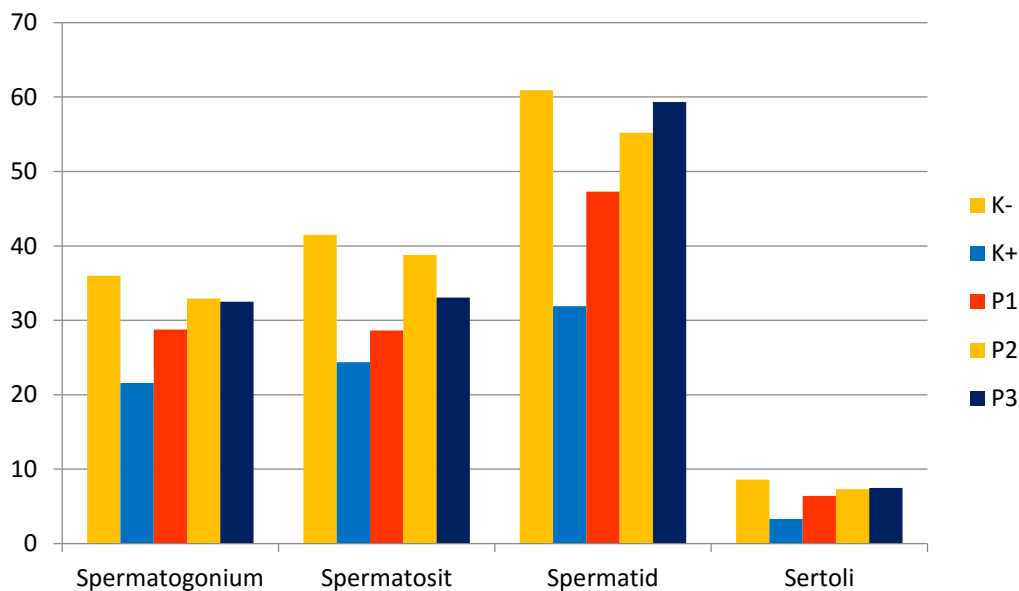
Rancangan penelitian eksperimental ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian eksperimental ini melakukan percobaan pemberian ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) kepada 20 ekor tikus jantan yang akan diinduksi dengan  $CCl_4$  pada akhir percobaan. Tikus jantan dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak menjadi K(-), K(+), P(1), P(2) dan P(3) dengan 4 perulangan. Pengulangan ini berdasarkan perhitungan formula  $t(n-1) \geq 15$ .

Penelitian ini menggunakan 20 tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Jumlah tikus putih yang digunakan ditentukan dari rancangan lengkap acak dengan formula  $t(n-1) \geq 15$ . Oleh karena itu, sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini berjumlah 20 tikus putih. Dosis pemberian ekstrak buah bit dikelompokkan menjadi tiga tingkatan dosis, menggunakan dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB yang diberikan secara peroral kepada tikus jantan dalam kelompok P1, P2, P3. Ekstrak buah bit dari hasil ekstraksi buah bit dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% dan akan dilarutkan dalam 100 mL CMC Na 0,5%. diberikan setiap hari dengan peroral selama 14 hari. Setelah pemberian ekstrak, dilakukan induksi menggunakan karbon tetraklorida yang bertujuan untuk memberikan keadaan stress oksidatif pada tikus jantan dengan dosis tunggal 3 mL/kgBB. Pemberian kepada tikus jantan dalam kelompok K(+), T(1), T(2) dan T(3). Variabel yang diamati dari percobaan ini adalah jumlah sel spermatogonium, sel spermatosit, sel spermatid, dan sel sertoli.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Data jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli dari 5 lapang pandang pada setiap kelompok di rata-rata kemudian diuji normalitas distribusi dan homogenitas variannya agar memenuhi asumsi sebelum diuji menggunakan ANAVA. Gambar 1 menunjukkan rerata kelompok K(-): Suspensi CMC Na 0,5%, K(+): Suspensi CMC Na 0,5% dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB, P1: Ekstrak buah bit 200mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3ml/kg BB, P2: Ekstrak buah bit 400mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg

BB, P3: Ekstrak buah bit 800mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB dan yang memiliki rerata terendah dari sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II), spermatid) maupun sel sertoli terdapat pada kelompok K (+), sedangkan rerata tertinggi dari sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II), spermatid) maupun sel sertoli terdapat pada kelompok K (-).



**Gambar 1.** Jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II), spermatid) dan sel sertoli pada tikus jantan yang diberikan terapi preventif CMC Na 0,5% atau ekstrak buah bit dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB.

Uji ANAVA pada jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II) dan spermatid) dan sel sertoli memperoleh hasil yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada tiap kelompoknya ( $p < 0,05$ ). Uji jarak berganda Duncan digunakan untuk uji lanjut dalam membandingkan rerata jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli antar perlakuan. Rerata dan simpangan baku jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1 Rerata dan simpangan baku jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II), spermatid) dan sel sertoli dari tikus jantan yang diberikan terapi preventif CMC Na 0,5% atau ekstrak buah bit dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB

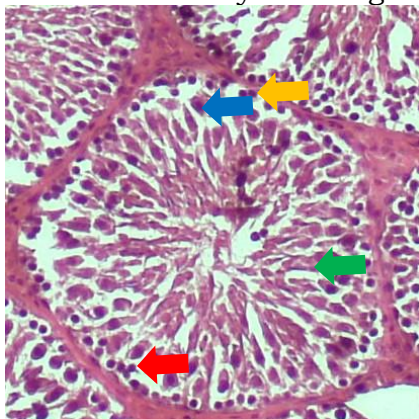
**Tabel 1.** Rerata dan simpangan baku jumlah sel spermatogenik

	<b>Spermatogonium</b>	<b>Spermatisit</b>	<b>Spermatid</b>	<b>Sel Sertoli</b>
K +	<b>21.75<sup>a</sup>±4.48</b>	<b>24.55<sup>a</sup>±1.81</b>	<b>35.00<sup>a</sup>±1.92</b>	<b>3.40<sup>a</sup>±0.84</b>
K-	<b>35.80<sup>c</sup>±2.56</b>	<b>41.90<sup>c</sup>±4.19</b>	<b>60.15<sup>c</sup>±7.60</b>	<b>8.85<sup>d</sup>±0.98</b>
P1	<b>29.30<sup>b</sup>±2.97</b>	<b>28.40<sup>a</sup>±1.29</b>	<b>46.35<sup>b</sup>±6.38</b>	<b>6.25<sup>b</sup>±0.57</b>
P2	<b>34.25<sup>bc</sup>±3.83</b>	<b>40.05<sup>c</sup>±4.04</b>	<b>55.05<sup>bc</sup>±8.55</b>	<b>7.50<sup>c</sup>±0.38</b>
P3	<b>33.55<sup>bc</sup>±2.63</b>	<b>33.85<sup>b</sup>±4.86</b>	<b>62.15<sup>c</sup>±9.54</b>	<b>7.45<sup>c</sup>±0.57</b>

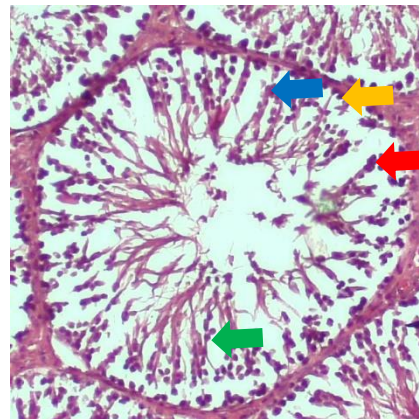
a, b, c, d Superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0.05$ ). K(-): Suspensi CMC Na 0,5%, K(+): Suspensi CMC Na 0,5% dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB, P1: Ekstrak buah bit 200mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3ml/kg BB, P2: Ekstrak buah bit 400mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB, P3: Ekstrak buah bit 800mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB.

Dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II), spermatid) maupun sel sertoli pada semua kelompok K(+) dan berbeda nyata dengan kelompok K(-) yang berarti terbukti terjadi penurunan sel spermatogenik dan sel sertoli pada tikus yang diberikan induksi CCl<sub>4</sub>. Kelompok yang tidak berbeda nyata dengan K(-)

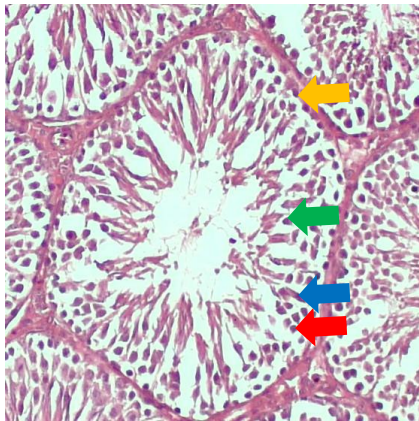
adalah kelompok P2 dan P3 yang berarti kelompok P2 menjadi dosis optimal dalam pencegahan terhadap penurunan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli dibandingkan dengan dosis pada kelompok P1 (200mg/kgBB) dan menjadi alternative dari dosis P3 (800 mg/kgBB) yang memiliki hasil tidak berbeda nyata dengan dosis P2 (400mg/kgBB).



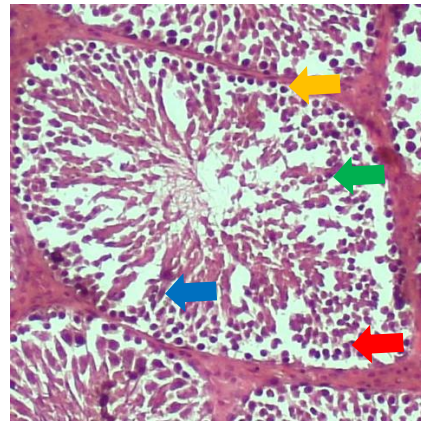
**K(-):** Suspensi CMC Na 0,5%



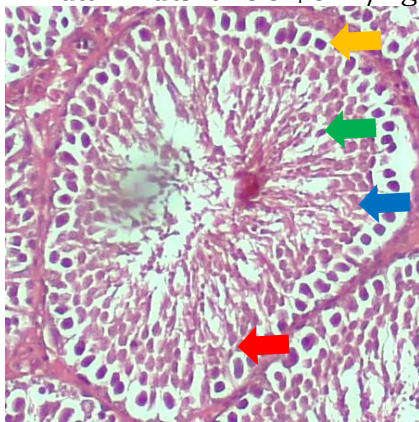
**K(+):** Suspensi CMC Na 0,5% dan induksi CCl<sub>4</sub> 3mL/kg BB



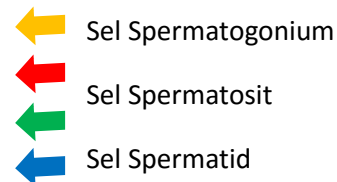
**P1:** Ekstrak buah bit 200mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3ml/kg BB.



**P2:** Ekstrak buah bit 400mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3ml/kg BB.



**P3:** Ekstrak buah bit 800mg/kg BB dan induksi CCl<sub>4</sub> 3ml/kg BB.



Gambar 2 Representasi preparat histologis tubulus seminiferus yang menunjukkan sel spermatogenik (spermatogonium, spermatosit (spermatosit I dan spermatosit II), spermatid) dan sel sertoli tikus setelah diberi ekstrak buah bit dan diinduksi CCl<sub>4</sub>, diamati pada mikroskop cahaya perbesaran 400x.

## DISKUSI

Hasil penelitian membuktikan bahwa jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli tikus yang diinduksi dengan CCl<sub>4</sub> terdapat perbedaan yang nyata dengan tikus yang tidak diberikan induksi CCl<sub>4</sub>. Terbukti bahwa pemberian induksi CCl<sub>4</sub> dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli melalui mekanisme oksidasi, peningkatan produksi ROS dan penurunan enzim antioksidan dalam tubuh. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed *et al.*, (2018) yang juga menunjukkan kelompok kontrol tikus jantan yang diberikan induksi

CCl<sub>4</sub> 24 jam sebelum penelitian berakhir menunjukkan penurunan pada berat testis, jumlah sperma normal, vitalitas sperma dan jumlah sperma. Dalam kelompok ini sel pada tubulus seminiferus testis mengalami kerusakan dan penurunan jumlah spermatozoa yang signifikan.

CCl<sub>4</sub> dimetabolisme oleh kinerja CP450 dan menghasilkan senyawa reaktif triklorometil radikal CCl<sub>3</sub> dan CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Senyawa hasil metabolisme CCl<sub>4</sub> ini akan bereaksi dengan PUFA untuk menghasilkan alkali dan peroksi radikal dan menghasilkan peroksidasi lemak yang sangat reaktif, merusak kerja

enzim dan akhirnya dapat menyebabkan berbagai kerusakan sel termasuk nekrosis (Sahreem, Khan, & Khan, 2011; Vuda et al., 2012). Kerusakan yang disebabkan oleh CCl<sub>4</sub> terjadi karena rekasi yang menyebabkan terbentuknya peroksidasi lemak, dari membrane sel, menurunkan jumlah antioksidan dan antioksidan enzimatik yang berperan untuk menekan terbentuknya stress oksidatif dan menjadi faktor penting untuk kerusakan akut maupun kronis pada beberapa organ (Mazani *et al.*, 2020). Radikal bebas yang diinduksikan melalui CCl<sub>4</sub> akan menimbulkan gangguan pada spermatogenesis dan membran sel spermatogenik. CCl<sub>4</sub> dapat memicu intoksikasi alat reproduksi jantan melalui kerusakan struktur testis, penurunan jumlah produksi testoteron, penurunan berat testis dan epididymis, penurunan jumlah spermatozoa, spermatozoa normal, viabilitas dan motilitas (Ahmed *et al.*, 2018).

Hasil penelitian ini menunjukkan dengan pemberian ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) dapat mencegah penurunan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli pada tikus jantan yang diinduksi dengan 3ml /kg BB CCl<sub>4</sub>. Buah bit kaya akan komponen antioksidan. Betanin sebagai penyusun pigmen utama yang menyebabkan warna merah pada buah bit memiliki kemampuan yang luar biasa untuk menangkal radikal bebas. Pemberian ekstrak buah bit sebelum induksi memperbaiki dan mengembalikan keseimbangan antara molekul oksidan dan antioksidan di dalam testis. Hal ini dapat menjelaskan mekanisme antioksidan ekstrak buah bit dalam melindungi induksi oksidatif perusakan jaringan testis oleh CCl<sub>4</sub>. Pada pemeriksaan histopatologi juga dapat diamati pada kelompok dengan perlakuan ekstrak buah bit menunjukkan efek perlindungan dalam

kerusakan jaringan testis disbanding dengan kelompok kontrol positif (K +) yang hanya diberikan induksi CCl<sub>4</sub> pada hari terakhir penelitian .

Tikus jantan yang diberikan ekstrak buah bit dengan dosis 200 mg/kgBB terjadi penurunan jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II) dan spermatisid) dan sel sertoli jika dibandingkan dengan tikus diberikan ekstrak buah bit dosis 400 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB. Hal ini disebabkan karena jumlah antioksidan yang diserap oleh tubuh kurang mencukupi dibandingkan dengan paparan radikal bebas dan produksi ROS yang di akibatkan induksi CCl<sub>4</sub>, sehingga antioksidan tak dapat bekerja secara optimal dan mengakibatkan terjadinya penurunan jumlah sel spermatogenik dan sel sertoli akibat serangan oksidatif oleh radikal bebas yang belum dapat dinetralisir oleh antioksidan dari ekstrak buah bit pada dosis 200 mg/kgBB.

Tikus jantan yang diberikan ekstrak buah bit dosis 800 mg/kg BB memiliki jumlah sel spermatogenik (spermatogonium, spermatisit (spermatisit I dan spermatisit II) dan spermatisid) dan sel sertoli yang tidak berbeda nyata dengan tikus dengan pemberian 400 mg/kg BB. Hasil penelitian ini tidak membuktikan bahwa dosis yang lebih tinggi tidak linier dengan peningkatan kemampuan antioksidan untuk mempertahankan sel spermatogenik dan sel sertoli dari kerusakan oksidatif yang diakibatkan radikal bebas oleh induksi CCl<sub>4</sub>

## **KESIMPULAN**

Pada hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Pemberian ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) memiliki efek proteksi dalam mempertahankan kemampuan spermatogenesis tikus putih (*Rattus novergicus*) dari induksi CCl<sub>4</sub> dilihat dari jumlah sel

spermatogonium, spermatisit, dan sel sertoli dengan hasil dengan dosis 400mg/kg BB, sedangkan dilihat dari jumlah sel spermatid dosis terbaik adalah 800 mg/kg BB. Dari hasil tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi antioksidan pada bagian lain buah bit pada sistem reproduksi dan organ tubuh lainnya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdel Moneim A. E. 2016. Prevention of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced toxicity in testes of rats treated with *Physalis peruviana* L. fruit. *Toxicology and industrial health*, 32(6), 1064–1073.  
<https://doi.org/10.1177/0748233714545502>
- Adawiah, D. S., & Muawanah, A. 2015. Aktivitas antioksidan dan kandungan komponen bioaktif sari buah namnam. *Jurnal. Kimia. Val. J. Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, 1(2), 130-136.
- Ahmed, M. A., Hamid, A. K., & Tayawi, H. M. 2018. Silymarin effect as an antioxidant to improve damages induced by CCl<sub>4</sub> on some characteristics of male rats reproductive system. *Tikrit Journal of Pure Science*, 23(2).
- Albasher, G., Albrahim, T., Alsultan, N., Alfaraj, S., Alharthi, M. S., Kassab, R. B., & Moneim, A. E. A. 2020. Red beetroot extract mitigates chlorpyrifos-induced reprotoxicity associated with oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(4), 3979-3991.
- AL-Janabi, Q. A. R., Shaban, R. K., & AL-Kraie, N. I. H. 2019. The effectiveness of the protective role of beetroot juice for the male reproductive system of albino rats against the toxicity of cadmium chloride. *Tikrit Journal of Pure Science*, 24(1), 43-51.
- Al-Masri, S.A. 2015. Effect Of Pumpkin Oil and Vitamin E on Lead Induced Testicular Toxicity in Male Rats. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 25(1):72-77.
- Almuoswi, H. J. N., & Hatem, R. M, 2019.. Immuno-histological Study of Effectiveness of Red Beet Extraction against Methotrexate Toxicity Reproductive System in Male Rats. Agency For Toxic Substances And Disease Registry (ATSDR). 2017. Carbon Tetrachloride Toxicity. U.S.
- Babarykin, D., Smirnova, G., Pundinsh, I., Vasiljeva, S., Krumina, G., & Agejchenko, V. 2019. Red Beet (*Beta vulgaris*) Impact on Human Health. *Journal of Biosciences and Medicines*, 7(3), 61-79.
- Badade, Z. G., More, K., & Narshetty, J. 2011. Oxidative stress adversely affects spermatogenesis in male infertility.
- Ben Abdallah, F., Dammak, I., Attia, H., Hentati, B., & Ammar-Keskes, L. 2009. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in infertile men: correlation with semen parameter. *Journal of clinical laboratory analysis*, 23(2), 99-104.
- Borg, C. L., Wolski, K. M., Gibbs, G. M., & O'Bryan, M. K. 2010. Phenotyping male infertility in the mouse: how to get the most out of a 'non-performer'. *Human reproduction update*, 16(2), 205–224.  
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmp032>
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. 2015. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801-2822.
- Da Silva, D. V. T., Baião, D. D. S., Silva, F. D. O., Alves, G., Perrone, D., Mere Del Aguila, E., and Paschoalin, V. M. F. 2019. Betanin, a Natural Food Additive: Stability, Bioavailability, Antioxidant and Preservative Ability Assessments. *Molecules*, 24(3), 458.

- Dutta, S., Majzoub, A., & Agarwal, A. 2019. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab journal of urology*, 17(2), 87-97.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hargono F. R., P. M. Lintong, C. F. Kairupan. 2013. Gambaran Histopatologik Testis Mencit Swiss (*Mus musculus*) yang Diberi Kedelai (*Glycine max*) dan Paparan dengan Asap Rokok. *Jurnal e-Biomedik*. 1(2):824-829.
- Hidayah, A. S. A. 2016. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Dipapar Pb [Thesis]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. P. 7.
- Hill, M. A. 2020. *UNSW embryology*. University of New South Wales. ISBN: 978 0 7334 2609 4
- Indumathi, D., Sujithra, K., Srinivasan, S., & Vinothkumar, V. 2017. Protective Effect of Betanin Against Streptozotocin-Nicotinamide Induced Liver, Kidney and Pancreas Damage by Attenuating Lipid by Products and Improving Renal Biomarkers in Wistar Rats. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 4: 160-170.
- Ismudiono, H. Anwar, P. Srianto, S.P. Madyawati, A. Samik, dan E. Safitri. 2007.
- Buku Ajar Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Bagian Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kale, R., Sawate, A., Kshirsagar, R., Patil, B., & Mane, R. 2018. Studies on evaluation of physical and chemical composition of beetroot (*Beta vulgaris L.*). *International Journal Clinic Science*, 6(2), 2977-79.
- Kaur, G., Thompson, L. A., & Dufour, J. M. 2014. Sertoli cells--immunological sentinels of spermatogenesis. *Seminars in cell & developmental biology*, 30, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.02.011>
- Khan, M. R., & Ahmed, D. 2009. Protective effects of *Digera muricata (L.) Mart.* on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 47(6), 1393-1399. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.03.020>
- Khojasteh, Seyed & Khamneh, Reihaneh. 2018. *Sophora pachycarpa Root Extract Improves Testicular Damage in Carbon-Tetrachloride Intoxicated Rats*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. In Press. 10.5812/zjrms.64950.
- Kumar, Yashwant. 2015. Beetroot: A Super Food. *International Journal of Engineering Studies and Technical Approach*. Vol. 1, No. 3.
- Kusriningrum. R.S. 2010. *Perancangan Percobaan*. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP). Surabaya. p. 273.
- Lue, Y. H., A. P. Hikim, R. S. Swerdloff, P. Im, K. S. Taing, T. Bui, A. Leung, C. Wang. 1999. Single Exposure to Heat Induces Stage-Specific Germ Cell Apoptosis in Rats : Role of Intratesticular Testosterone on Stage Specificity. *Endocrinology Journal*. 140(4):1709-1717.
- Luiz R. França, Takehiko Ogawa, Mary R. Avarbock, Ralph L. Brinster, Lonnie D. Russell, Germ Cell Genotype Controls Cell Cycle during Spermatogenesis in the Rat, *Biology of Reproduction*, Volume 59, Issue 6, 1 December 1998, Pages 1371-1377, <https://doi.org/10.1095/biolreprod59.6.1371>



- Leeson, C.R., T.S. Leeson, A.A. Paparo. 2012. Textbook of Histology. 5th Edition. Jakarta: EGC.
- Makker, K., Agarwal, A., & Sharma, R. 2009. Oxidative stress & male infertility. *Indian Journal of Medical Research*, 129(4), 357.
- Maula, I. F. 2014. Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Mani, S. 2015. Production of Reactive Oxygen Species and It's Implication in Human Disease. *Free Radicals in Human Health and Disease*, p. 3-15.
- Mazani, M., Banaei, S., & Rezagholizadeh, L. (2020). Feverfew attenuates carbon tetrachloride-induced testicular damage in rats. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 9(1), 42-47. <https://doi.org/10.15171/jhp.2020.06>
- Mbikay M. 2012. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia. *Front Pharmacol.* 3(24):1-12
- Meles, Dewa & Mustofa, Imam & Wurlina, Wurlina & Susilowati, Suherni & Utama, Suzanita & Suwasanti, Niluh & Putri, Desak. (2021). The Restorative Effect of Red Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit Extract on Pulmonary Tissue of Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed to Cigarette Smoke. *Veterinary Medicine International*. 2021. 1-10. [10.1155/2021/9931001](https://doi.org/10.1155/2021/9931001).
- Mohamad, K., S. Novelina, I K. M. Adnyanye, S. Agungpriyono. 2001. Morfologi dan kandungan karbohidrat kelenjar aksesoris organ reproduksi tikus jantan pada umur sebelum dan setelah pubertas. *Hayati*. 8(4):91-97.
- Neama, H. J., Jabar, H., Almuoswi, N., Rasha, A., & Hatem, M. .2019. The Lepidoptera Research Foundation. *The Journal of Research on the Lepidoptera*, 50(4), 187-195. <https://www.researchgate.net/publication/344207844>
- National Academies Press (NAP). 2014. Chapter 2: Carbon Tetrachloride Acute Exposure Guideline Levels. *National Research Council*, 17: 121-124.
- National Center for Biotechnology Information 2020. PubChem Compound Summary for CID 5943, Carbon tetrachloride. Retrieved November 1, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carbon-tetrachloride>. [25 September 2020]
- National Institute of Occupational Safety and Health Recommended Exposure Limit (NIOSH). 2014. Carbon Tetrachloride. <https://www.cdc.gov/niosh/idlh/56235.html> [25 September 2020]
- Ozougwu, J. C. (2016). The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*. 2016, 3(6): 1-8.
- Payne, A. H., and Hales, D. B. 2004. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr. Rev.* 25, 947-970.
- Phaniendra, A., Jestadi, D., and Periyasamy, L. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014 July 15, 30(1): 11-26.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.

\*\*\*