

---

## Histopathological Changes of Testes and Testosterone Level of Mice that are Exposed to Permot Leaf Mosquito Mat (*Passiflora foetida*)

Rina Priastini Susilowati

Department of Biology, Faculty of Medicine, Krida Wacana Christian University, Jakarta

Corresponding author: [rinapriastini67@gmail.com](mailto:rinapriastini67@gmail.com)

**Abstract.** In this study, mice testicular degeneration was influenced by exposure to the mosquito mat made from transfluthrin 3000 ppm and permot leaf mosquito mat which were evaluated based on observations on testicular histopathological changes and testosterone level. Fifteen Balb C male mice aged 2-3 months with a body weight of 25-30 g were divided into five groups, namely A, B, C, D, and E, with each group consisting of 3 replications. Group A was the negative control group (without exposure), group B was the exposure group for the mosquito mat made from transfluthrin 3000 ppm, group C, D, and E were the exposure groups of mosquito mat with permot leaves doses of 1000 ppm, 2000 ppm and 3000 ppm. Each exposure group was given treatment 8 hours per day from 18.00 - 04.00 for 3 months. The results showed a significant decrease in testicular weight between the control group and the treatment group. There were also significant differences in the testosterone level observed in the treatment group, as well as observations on the spermatogenic index (IS). For histopathological observation of testicular mice, there was a reduction in epithelial cell spermatogenic and diameter of seminiferous tubule. The results of the Kruskal Wallis test showed a significant difference between the control group and the treatment group of the mosquito mat made from transfluthrin 3000 ppm. The conclusion is that exposure to mosquito mat made of permot peaves up to a 3000 ppm dose is safe to use and can kill the *Aedes aegypti* mosquito effectively.

**Keywords:** testes, testosterone, mosquito mat, permot leaves, histopatological changes



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2017 by author and Universitas Negeri Padang.

### 1. PENDAHULUAN

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *A. aegypti* sebagai vektor utama (Hadinegoro dan Satari, 2002). Demam Berdarah Dengue (DBD) atau Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus Dengue Famili Flaviviridae yang secara klinis mempunyai tingkatan manifestasi yang

berbeda, bergantung dari serotipe virus Dengue. DBD ditularkan melalui gigitan nyamuk *A. aegypti* (Pinto dan Filipe, 1973; Tolle, 2009).

Salah satu upaya memutus mata rantai penyebaran *A. aegypti* tersebut adalah dengan cara pengendalian vektor secara kimia dan pengelolaan lingkungan. Selama ini pengendalian *A. aegypti* umumnya dilakukan dengan menggunakan insektisida sintetik. Hal ini dikarenakan insektisida sintetik dianggap efektif, praktis, manjur dan dari segi ekonomi lebih menguntungkan. Namun, hal ini perlu diwaspadai karena penggunaan insektisida sintetik secara terus menerus akan menimbulkan pencemaran lingkungan, kematian berbagai macam makhluk hidup lain dan menyebabkan serangga menjadi resisten, bahkan dapat menyebabkan mutasi gen pada spesies ini. Metcalf dan Luckmann (1982) menyatakan bahwa insektisida sintetik bersifat bioaktif, mengandung bahan kimia yang sukar mengalami degradasi di alam sehingga residunya dapat mencemari lingkungan dan dapat menurunkan kualitas lingkungan. Disamping itu, paparan insektisida sintetik ke dalam rantai makanan dapat menyebabkan kematian beberapa makhluk hidup lain yang bukan sasaran dan akhirnya akan mengacaukan keseimbangan ekosistem.

Salah satu pengendalian secara kimiawi adalah penggunaan obat nyamuk mat. Obat nyamuk mat termasuk bahan penghasil asap berinsektisida yang banyak digunakan untuk mengurangi gigitan nyamuk dan mengurangi kepadatan nyamuk baik oleh peneliti maupun masyarakat. Obat nyamuk mat termasuk yang mudah digunakan, efektif dan murah (Rozendaal, 1997). Selain itu, Wigati (2006) menyatakan bahwa obat nyamuk mat dapat dimanfaatkan untuk perlindungan diri dari gigitan nyamuk termasuk *Aedes aegypti* yang merupakan vektor demam berdarah.

Melihat kerugian berupa efek samping yang ditimbulkan oleh insektisida sintetik tersebut maka dibutuhkan suatu usaha untuk mendapatkan bahan alternatif yang lebih ramah lingkungan tetapi juga efektif dalam mengendalikan populasi nyamuk khususnya *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida botani atau bioinsektisida sebagai pengganti insektisida sintetik nantinya diharapkan dapat mengurangi masalah pencemaran lingkungan. Hal ini juga dinyatakan oleh Syahputra (2001) bahwa insektisida hayati memiliki sifat yang tidak stabil dan memungkinkan untuk dapat didegradasi secara alami sehingga tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan.

Oleh karena itu dalam penelitian ini dibuat obat nyamuk mat berbahan daun permot (*Passiflora foetida*). Tanaman permot mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tannin, sterol dan senyawa lain yang dapat digunakan sebagai bahan aktif insektisida alami (Wijayakusuma, 1995; Wolfman et al., 1984). Dan untuk mengetahui tingkat keamanannya terhadap organ reproduksi mencit jantan dan kadar testosteronnya.

## **2. AHAN DAN METODE**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana Jakarta, dengan rentang waktu bulan Maret 2018 hingga Juni 2020.

### **2.1 Penyiapan Sampel**

Obat nyamuk mat sintetis yang digunakan sebagai kelompok kontrol positif adalah yang banyak beredar di masyarakat berbahan transflutrin. Obat nyamuk mat berbahan daun permot dibuat dengan mengeringanginkan daun permot, kemudian diblender hingga halus ditimbang sebanyak 40 g dimasukkan ke dalam 100 mL akuades yang telah dididihkan dan ditambah dengan 10 g tepung kanji agar padat. Diaduk hingga homogen kemudian dimasukkan ke dalam cetakan dan dioven hingga kering.

### **2.2 Perlakuan Hewan Coba**

Untuk menguji efek samping paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin dan berbahan daun permot dengan dosis bertingkat digunakan hewan coba mencit jantan. Dalam penelitian ini ingin diketahui efeknya terhadap organ reproduksi mencit dan kadar testosteronnya. Kelompok penelitian dibagi menjadi 5 yaitu kelompok control negative (A) tanpa paparan obat nyamuk mat, kelompok control positif (B) dengan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin, kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot 1000 ppm (C), daun permot 2000 ppm (D), dan daun permot 3000 ppm (E), dengan ulangan sebanyak 3 ekor mencit (Susilowati, 2014). Paparan obat nyamuk mat dilakukan selama 8 jam sehari dari pukul 18.00 hingga 04.00 selama 3 bulan (Garba et al., 2007). Data penelitian yang dikumpulkan adalah mengetahui perubahan histopatologis testis dengan mengukur indeks spermatogenik (IS), diameter tubulus seminiferous dan tebal epitel tubulus seminiferous, serta kadar testosteron mencit.

### **2.3 Pengukuran Testosteron Mencit**

Sampel darah diambil dari plexus retroorbitalis setelah dikorbankan nyawanya dengan anestesi. Darah dimasukkan ke tabung effendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum darah kemudian digunakan untuk analisis kadar hormon testosteron. Pengujian kadar testosteron menggunakan kit hormon testosteron untuk darah mencit. Pengukuran hasil kadar testosteron dilakukan dengan metode Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA) dengan Testosterone ELISA Kit (DRG Testosterone ELISA EIA-1559, DRG Instruments, Jerman). Hasil dibaca pada panjang gelombang 450 nm dengan spektrofotometer (Microlab).

### **2.4 Gambaran Histologipatologi Testis**

Mencit dibedah untuk pengambilan organ testis. Setelah mencit dibedah, maka testis dibersihkan dengan larutan NaCl 0,9% dan dikeringkan dengan kertas tisu. Fiksasi

testis dilakukan dengan larutan buffer formalin. Testis yang telah difiksasi dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat 50 hingga 100%, alkohol absolut:xilol, xilol:paraffin (1:1), kemudian paraffin murni I, II dan III. Setelah itu dilakukan pembenaman jaringan dalam blok paraffin. Penyayatan organ dilakukan secara melintang (ketebalan 5 mikrometer), lalu pita paraffin ditempelkan pada gelas benda dengan Meyer's albumin. Setelah kering, preparer dimasukkan ke dalam xilol murni (15 menit), alkohol bertingkat 95% hingga 50%, akuades, lalu pewarna Hematoxylin. Preparat dicuci air mengalir dan akuades, alkohol bertingkat 30 hingga 70% lalu ke pewarna Eosin 0,5% dilanjutkan ke dalam alkohol 70 hingga 100% dan xilol murni. Preparat ditutup gelas penutup dengan bantuan balsam Canada.

Pemeriksaan histopatologi testis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali (10x10) dan 400 kali (10x40). Sediaan histologi testis kemudian difoto dengan kamera mikroskop digital dengan software Optilab Biewer (Olympus). Pengukuran tebal epitel tubulus seminiferous testis dilakukan pada 20 tubulus seminiferus yang utuh dan bundar secara acak dengan software Image Raster (Micronos).

## **2.5 Analisis Hasil**

Analisis hasil untuk penelitian ini menggunakan program SPSS versi 25. Semua data kuantitatif yang dikumpulkan akan diuji dengan uji One Way Anova. Uji One Way Anova dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan efek karena perlakuan yang berbeda antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat. Perbedaan dinyatakan bermakna apabila  $p < 0,05$ . Apabila terjadi perbedaan yang bermakna maka pengujian dilakukan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **3.1 Perubahan Histopatologis Testis**

Perubahan histopatologis testis mencit memperlihatkan efek paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol tanpa paparan dan kelompok paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm, dapat dilihat pada Gambar 1. Testis kelompok kontrol dan kelompok perlakuan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm memperlihatkan struktur testis yang normal dengan tubulus seminiferus yang normal juga, dimana didalamnya terjadi proses spermatogenesis yang perkembangannya dimulai dari sel spermatogonia, spermatosit primer, spermatid dan spermatozoa. Sedangkan pada testis mencit kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm memperlihatkan struktur tubulus seminiferus yang tidak banyak berisi sel-sel

spermatogenik. Hal ini dapat dilihat lebih jelas dengan nilai indeks spermatogenik (IS) pada Tabel 2, antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm, serta kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm.

Selain itu pada Tabel 1 diperlihatkan tidak adanya perbedaan yang bermakna untuk pengukuran diameter tubulus seminiferus dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit, baik pada kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm, hingga kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm. Hal ini berarti paparan obat nyamuk mat tidak menyebabkan perubahan struktur tubulus seminiferus mencit.

Tabel 1. Rerata diameter tubulus seminiferus dan tebal epitel tubulus seminiferus mencit

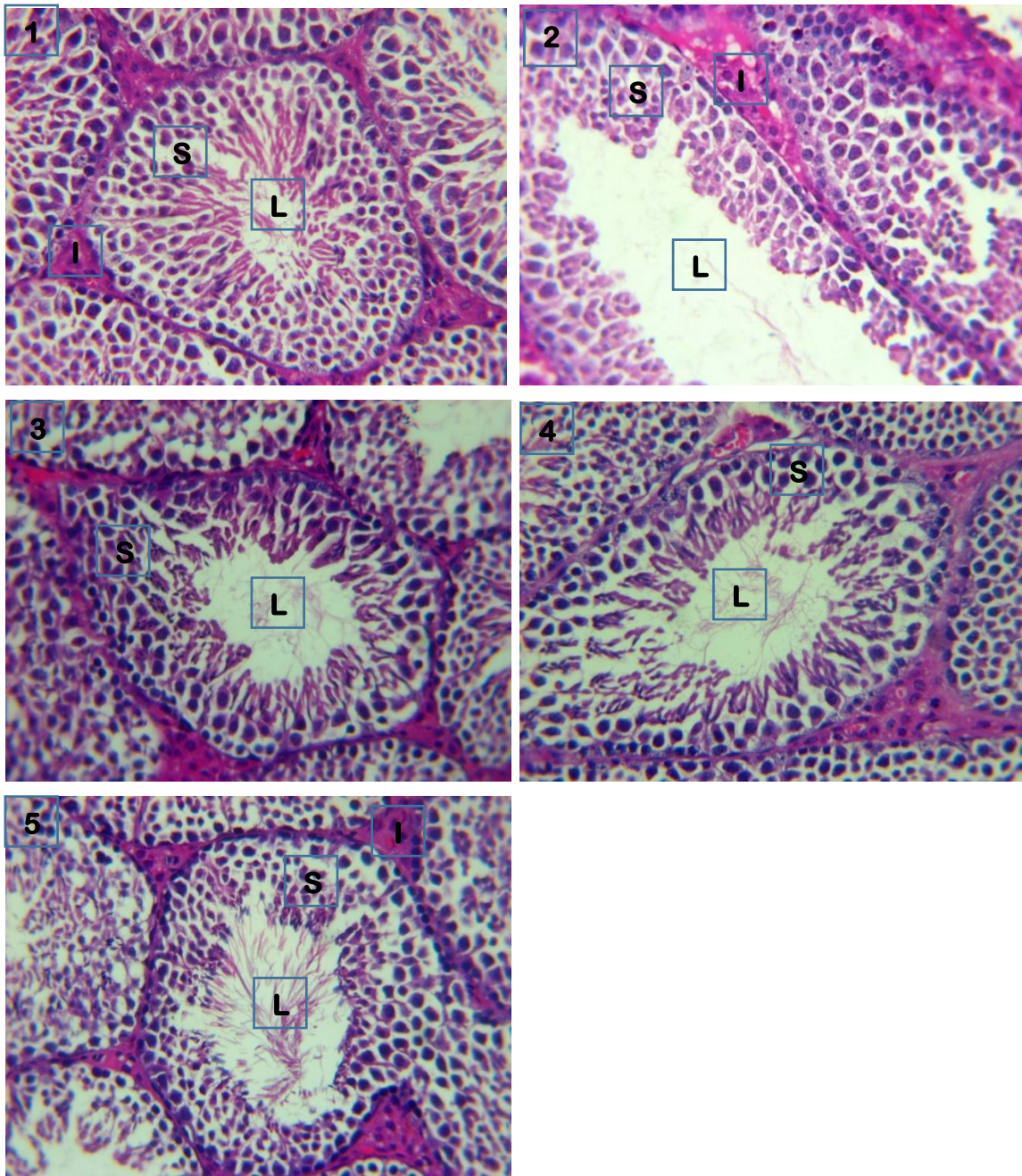
Kelompok	Diameter tubulus seminiferus ( $\mu\text{m}$ )	Tebal epitel tubulus seminiferus ( $\mu\text{m}$ )
A	122,83 $\pm$ 1,18	50,33 $\pm$ 0,68
B	121,65 $\pm$ 1,69	49,32 $\pm$ 0,86
C	121,95 $\pm$ 1,69	49,62 $\pm$ 0,62
D	122,02 $\pm$ 0,33	49,45 $\pm$ 1,05
E	121,73 $\pm$ 0,83	49,87 $\pm$ 1,28

Keterangan: hasil tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ )

A (kelompok control tanp paparan), B (kelompok paparan perlakuan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm), C (kelompok paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot 1000 ppm), D (daun permot 2000 ppm), E (daun permot 3000 ppm)

### 3.2 Indeks Spermatogenesis

Pengamatan aktivitas spermatogenesis dalam tubulus seminiferous meliputi pengamatan sel-sel spermatogenik pada asosiasi sel tahap ke-7 siklus spermatogenesis yang meliputi spermatogonium, spermatisit, spermatid. Setelah diidentifikasi jenis sel-sel spermatogenik kemudian dihitung jumlah masing-masing jenis sel spermatogenik sehingga didapatkan indeks spermatogenesis dengan rumus (Weissbach dan Ibach, 2006). Tabel 2 menampilkan rerata penghitungan sel-sel spermatogenik di dalam tubulus seminiferus mencit, yang hasil akhirnya dapat diperoleh menjadi indeks spermatogenesis. Penurunan jumlah sel-sel spermatogenik dijumpai pada mencit kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm. Sedangkan kelompok control dan kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm memiliki jumlah sel spermatogenik yang tetap (tidak mengalami penurunan).



Gambar 1. Potongan melintang testis mencit, (1) kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk mat, (2) kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm, (3) kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot 1000 ppm, (4) daun permot 2000 ppm, (5) daun permot 3000 ppm; pewarnaan HE dan pembesaran x400. Keterangan gambar: (L) lumen, (S) sel-sel spermatogenik, (I) sel interstitial atau sel Leydig

Tabel 1. Rerata jumlah spermatogenik dan indeks spermatogenik mencit

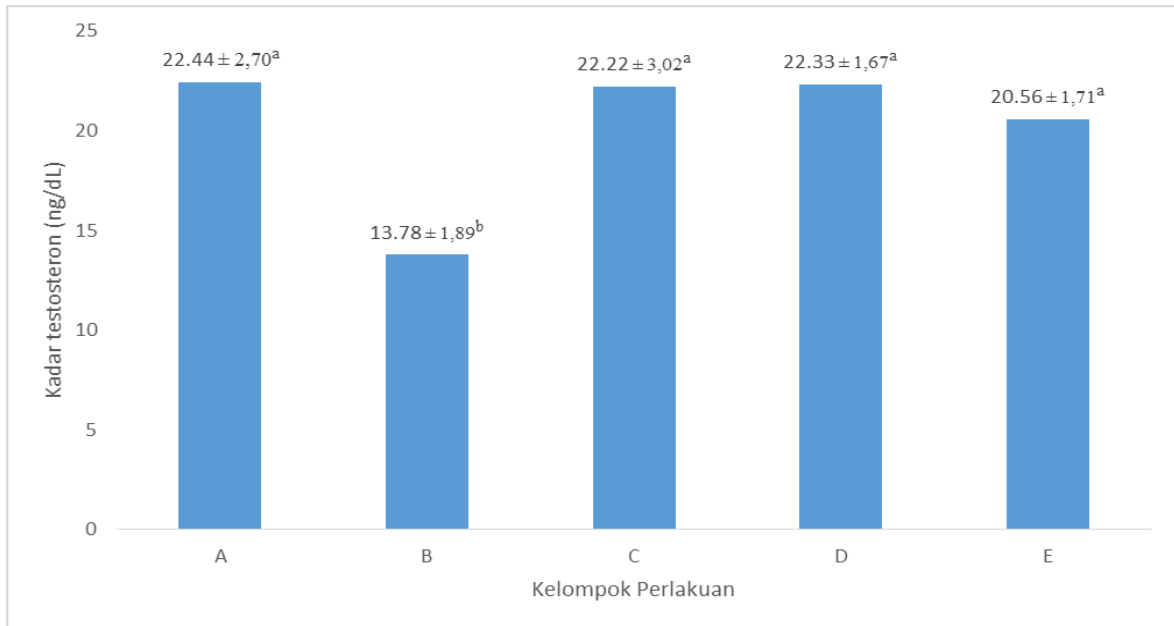
Kelompok	Jumlah spermatogonia	Jumlah spermatosit	Jumlah spermatid	Indeks spermatogenesis (IS)
A	53,00 ± 1,43 <sup>a</sup>	80,00 ± 1,35 <sup>a</sup>	141,00 ± 2,50 <sup>a</sup>	80,66
B	34,98 ± 1,48 <sup>b</sup>	47,15 ± 1,44 <sup>b</sup>	29,32 ± 0,86 <sup>b</sup>	68,81
C	53,62 ± 0,58 <sup>a</sup>	79,28 ± 1,90 <sup>a</sup>	140,12 ± 1,93 <sup>a</sup>	80,36
D	52,01 ± 0,32 <sup>a</sup>	80,02 ± 1,15 <sup>a</sup>	141,02 ± 0,90 <sup>a</sup>	80,95
E	51,73 ± 0,83 <sup>a</sup>	79,55 ± 0,88 <sup>a</sup>	140,73 ± 1,18 <sup>a</sup>	80,98

Keterangan: huruf yang berbeda menandakan adanya perbedaan yang bermakna ( $p < 0,01$ )  
A (kelompok control tanp paparan), B (kelompok paparan perlakuan obat nyamuk mat berbahan translutrin 3000 ppm), C (kelompok paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot 1000 ppm), D (daun permot 2000 ppm), E (daun permot 3000 ppm)

### 3.3 Evaluasi Hormon Testosteron

Testosteron merupakan salah satu hormon steroid. Semua hormon steroid mamalia dibentuk dari kolesterol lewat pregnenolon melalui serangkaian reaksi yang terjadi di dalam mitokondria atau reticulum endoplasma sel adrenal. Turunnya kadar kolesterol dalam darah menyebabkan berkurangnya bahan pembentuk hormon steroid, salah satunya adalah testosteron. Testosteron dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berperan dalam proses spermatogenesis yang terjadi pada tubulus seminiferus testis. Adanya penurunan testosteron memberikan pengaruh terhadap struktur testis antara lain diameter tubulus seminiferus dan sel-sel spermatogenik. Penghitungan rerata testosteron pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Elpiana (2011) menyatakan bahwa hormon testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel-sel spermatosit. Testosteron berperan pada pembelahan profase meiosis pertama tahap diakinesis, yaitu pada saat dimulainya pembelahan metaphase. Selain itu, testosteron merupakan hormon androgen terpenting yang memicu pembentukan sel-sel spermatozoa fungsional, memelihara kelenjar-kelenjar asesori sistem reproduksi jantan, menstimulasi pertumbuhan serta mendeterminasi karakteristik seksual sekunder jantan. Yahaya dan Ajuogu (2014) mengatakan testosteron adalah hormon vital untuk mengatur distribusi lemak tubuh, massa otot, densitas tulang, serta kadar glukosa darah. Rachmadi pada tahun 2008, menyatakan testosteron merupakan hormon yang memberikan stimulus seksual untuk mendorong aktivitas seksual khususnya pada hewan jantan (Rachmadi, 2008).



Gambar 2. Grafik kadar testosteron mencit perlakuan paparan obat nyamuk mat

Penurunan testosteron akibat paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin dapat menyebabkan turunnya nafsu seksual (libido), spermatogenesis, dan diameter tubulus seminiferus. Namun dalam penelitian ini, diameter tubulus seminiferus tidak mengalami penurunan. Bila kadar testosteron tinggi atau rendah (di bawah ambang normal) akan berakibat umpan balik negatif ke hipotalamus yang mengakibatkan proses spermatogenesis terganggu. Sebaliknya apabila kadar testosteron normal, maka akan menggerakkan testis untuk melakukan proses spermatogenesis (Walker dan Cheng, 2005; Nurliani et al., 2005).

Kadar testosteron mengalami penurunan pada kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm ( $p < 0,01$ ). Sedangkan kadar testosteron pada kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk mat dan kelompok perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ).

Transflutrin yang terhirup akan masuk ke dalam aliran darah lalu menuju ke hati, mengalami detoksifikasi dan menghasilkan metabolit yang berperan sebagai radikal bebas. Selanjutnya radikal bebas tersebut akan masuk ke dalam peredaran darah kembali dan menuju ke seluruh tubuh termasuk testis. Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan termasuk gangguan dalam proses spermatogenesis.

Transflutrin dapat mengganggu proses spermatogenesis secara tidak langsung dengan mengurangi diameter tubulus seminiferus dan menurunkan berat testis pada tikus yang mengakibatkan penurunan produksi sperma tikus yang dapat dianalogikan pada



manusia. Obat antinyamuk yang dipaparkan mengandung radikal bebas yang dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Penurunan ini dapat disebabkan oleh adanya gangguan pada spermatogenesis.

Testosteron dan FSH secara sinergis diperlukan secara normal untuk proses spermatogenesis. Jika sekresi testosteron dan FSH terhambat maka spermatogenesis juga terganggu sehingga terjadi peningkatan abnormalitas primer pada spermatozoa. Terhambatnya sekresi testosteron juga menyebabkan gangguan maturasi spermatozoa di epididymis. Maturasi spermatozoa merupakan salah satu faktor endogen yang mempengaruhi motilitas spermatozoa sehingga 20 gangguan pada proses tersebut dapat menurunkan motilitas spermatozoa dan meningkatkan abnormalitas sekunder pada spermatozoa.

Kehidupan spermatozoa sangat tergantung kepada persediaan energi yang terkandung di dalam tubuhnya. Di luar alat kelamin jantan, spermatozoa mampu memakai sumber energi dari luar untuk kelanjutan hidupnya (Hardjopranjoto, 1995) misalnya fruktosa yang akan diubah menjadi asam laktat dan energi dengan bantuan enzim fruktolisin.

Terganggunya proses spermatogenesis merupakan salah satu faktor penyebab turunnya jumlah sperma yang diproduksi oleh jantan. Selain itu, proses pelepasan spermatid dari sel sertoli atau spermiasi juga merupakan faktor kunci dalam menentukan jumlah sperma. Karena apabila terjadi kegagalan spermiasi, sperma tidak dilepaskan dari sel sertoli tetapi akan dipertahankan dan difagosit. Hal ini diduga karena konsentrasi testosteron jumlahnya menurun. Penurunan sekresi testosteron ini disebabkan oleh menurunnya konsentrasi kolesterol sebagai prekursor sintesis testosteron akibat perlakuan paparan obat nyamuk mat berbahan transflutrin 3000 ppm.

Zhang pada tahun 2003 menyatakan hormon testosteron berperan penting dalam spermatogenesis dan maturasi spermatozoa di epididymis. Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa adanya gangguan terhadap sekresi testosteron dapat menyebabkan motilitas spermatozoa juga menjadi terganggu. Sedangkan Handayani (2001) menyatakan bahwa hormon testosteron sangat diperlukan selama tahap transformasi atau spermiogenesis dan maturasi spermatozoa di epididymis. Konsentrasi testosteron yang menurun akan mengakibatkan spermiogenesis terganggu, maturasi spermatozoa terganggu sehingga dihasilkannya abnormalitas spermatozoa.

#### 4. KESIMPULAN

Paparan obat nyamuk mat berbahan daun permot hingga dosis 3000 ppm aman digunakan karena tidak mempengaruhi perubahan histologi testis dan kadar testosteron yang dihasilkan pada mencit jantan setelah 3 bulan perlakuan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Elpiana. 2011. Pengaruh Monosodium Glutamat terhadap Kadar Hormon Testosteron dan Berat Testis pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Tesis. Padang: Universitas Andalas.
- Garba SH, Shehu MM, Adelaiye AB. 2007. Toxicological Effects of Inhaled Mosquito Coil Smoke on the Rat Spleen: a Haematological and Histological Study. *J Med Sci*. 7: 94 – 99.
- Hadinegoro SRH, Satari HI. 2002. Demam Berdarah Dengue. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Handayani, Hasanuddin, I., Anwar. 2012. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper battle* L.) sebagai Bioinsektisida terhadap Kematian Nyamuk *Aedes aegypti*. *Laporan Penelitian*. Makassar: Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasanuddin.
- Metcalf RL, Luckmann WH. 1982. Introduction to Insect Pest Management. New York: John Wiley and Sons.
- Nurliani A, Rusmiati R, Santoso HB. 2005. Perkembangan Sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus*). *Jurnal Penelitian Hayati*, 11: 77 – 79.
- Pinto MR, Filipe AR. 1973. Arbovirus Studies in Luanda, Angola. 1. Virological and Serological Studies During a Yellow Fever Epidemic. *Bulletin World Health Organization*, 49: 31-35.
- Rozendaal JA. 1997. Vector Control, Method for Use by Individuals and Communities. Geneva: World Health Organization.
- Susilowati RP. 2014. Daya Bunuh Obat Nyamuk Bakar Berbahan Ekstrak Daun Permot (*Passiflora foetida*) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Laporan Penelitian*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana.
- Syahputra E. 2001. Hutan Kalbar Sumber Pestisida Botani: Dulu, Kini dan Kelak. [Internet] [sitasi 02 Februari 2014]. Didapat dari <http://rudycr.tripod.com>.
- Walker WH, Cheng J. 2015. FSH and Testosterone signaling in Sertoli Cells. *Reproduction*, 130(1): 15 – 28.
- Weissbach L, Ibach B. 2006. Quantitative Parameters for Light Microscopic Assessment of Tubulus Seminiferi. *Fertil Steril*. 27(7): 837 – 874.
- Wigati RA. 2006. Inkriminasi Nyamuk *Anopheles vagus* donitz 1902 (Diptera: Culicidae) Sebagai Vektor Malaria di Kecamatan Kokap Kabupaten Kulon Progo Provinsi

Daerah Istimewa Yogyakarta. Yogyakarta: Penelitian Pascasarjana Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Gadjah Mada

Wijayakusuma HMH. 1995. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jakarta: Penerbit Pustaka Kartini.

Wolfman C, Viola H, Paladini AC, Dajas D, Medina JH. 1994. Possible Anxiolytic Effects of Chrysin, a Central Benzodiazepine Receptor Ligand Isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 47: 1-4.

Yahaya MA, Ajuogu PK. 2014. Response of Rabbit's Testosterone and Estrogen Status to Graded Levels of White Mangrove Plant (*Laguncularia racemosa*). *International Journal of Science and Nature*, 5(2): 196 – 198.

Zhang FP, Pakarainen T, Poutanen M, Toppari J, Huhtaniemi I. 2003. The Low Gonadotropin-Independent Constitutive Production of Testicular Testosterone is Sufficient to Maintain Spermatogenesis. *PNAS*. 100(23): 13692 – 13697.