

EFEK DAUN *Etlingera hemisphaerica* PADA PERBAIKAN SKORING SPERMATOGENESIS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI HgCl₂

**Liya Agustin Umar¹, Siti Habiburrahmah Ash Shadar², Kartika Sari³,
Hilda Taurina⁴, Marisadonna Asteria⁵, Aceng Ruyani⁶**
Universitas Bengkulu^{1,2,4,5,6}
RSUD dr. M. Yunus Bengkulu³
liyaagustinumar@unib.ac.id¹

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun *Etlingera hemisphaerica* terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi merkuri klorida yang dilihat dari gambaran histopatologi testis. Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimental *post-test-only control group design*. Pemberian ekstrak dilakukan selama tujuh hari secara *gavage*. Pengambilan organ testis dilakukan pada hari ke-9 setelah tikus dieuthanasia dan dilanjutkan pembuatan preparat testis. Penilaian kerusakan testis menggunakan *Johnsen score*. Data dianalisis menggunakan uji statistik non-parametrik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa antar kelompok uji memiliki nilai *p* yaitu 0,000. Adapun gambaran histopatologi testis yang di induksi HgCl₂ memiliki nilai *p* sebesar 0,005 dan pemberian ekstrak daun *E. hemisphaerica* pada tikus yang diinduksi HgCl₂ memperlihatkan nilai *p*= 0,008. Simpulan, pemberian ekstrak daun *E. hemisphaerica* pada *R. norvegicus* yang diinduksi merkuri klorida memberikan efek perbaikan pada spermatogenesis pada gambaran histopatologi testis *R. norvegicus*.

Kata Kunci: *Etlingera hemisphaerica*, HgCl₂, *Johnsen Score*, *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of administration of Etlingera hemisphaerica leaf extract on white rats (Rattus norvegicus) induced by mercury chloride as seen from the histopathological description of the testes. The research method used is experimental post-test-only control group design. The extract was administered for seven days by gavage. Testicular organ harvesting was carried out on the 9th day after the rats were euthanized and continued with making testicular preparations. Testicular damage was assessed using the Johnsen score. Data were analyzed using non-parametric statistical tests. The results showed that the test groups had a p-value of 0.000. The histopathological description of the testes induced by HgCl₂ had a p-value of 0.005 and the administration of E. hemisphaerica leaf extract in HgCl₂-induced mice showed a p-value of 0.008. In conclusion, administration of E. hemisphaerica leaf extract to R. norvegicus induced by mercury chloride improved spermatogenesis on the histopathological features of the R. norvegicus testes.

Keywords: *Etlingera hemisphaerica*, HgCl₂, *Johnsen Score*, *Rattus norvegicus*

PENDAHULUAN

Logam berat telah menjadi salah satu dari banyak kontaminan yang ditemukan di lingkungan, salah satunya adalah merkuri yang diketahui memiliki efek toksik pada fungsi testis (El-desoky et al., 2013). Merkuri (Hg) adalah salah satu jenis logam yang banyak ditemukan di alam dan tersebar dalam batu-batuan, biji tambang, tanah, air dan udara sebagai senyawa inorganik. Namun, umumnya kadar merkuri dalam tanah, air dan udara relatif rendah (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2016). Keracunan merkuri dapat terjadi akibat terhirup, konsumsi dan penyerapan melalui kulit. Merkuri menyebabkan toksisitas ginjal, neurotoksisitas, toksisitas reproduksi dan efek hematotoksik (Bas & Kalender, 2016). Merkuri dikenal dengan 3 bentuk, yaitu merkuri elemental (Hg^0), merkuri inorganik (Hg^{2+} dan Hg^{++}) dan merkuri organik (Broussard et al., 2002).

Merkuri klorida salah satu pro-oksidan yang menginduksi stres oksidatif menyebabkan kerusakan makromolekul seperti DNA, protein, lipid dan respirasi sel. Stress oksidatif dapat merusak membran mitokondria dan menyebabkan hilangnya fungsi potensial membran mitokondria. Keadaan ini mengakibatkan *mitochondrial permeability transition* yang menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria dan mengakibatkan kebocoran membran sehingga terjadi depolarisasi membran dan pengaktifan *apoptotic factor* yang akan menginduksi terjadinya proses apoptosis dan memicu banyak proses patologis dalam sistem reproduksi laki-laki (Adelati et al., 2016)

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun *E. hemisphaerica* menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Ruyani et al., 2018). Aktivitas senyawa flavonoid tersebut memiliki kemampuan terhadap pemulihan kerusakan organ tubuh akibat toksisitas logam berat merkuri (Jackie, 2011). Penelitian mengenai efek ekstrak daun *Etingera hemisphaerica* terhadap sistem reproduksi masih sedikit dan belum ada penelitian terkait mengenai efeknya terhadap gambaran testis. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun *Etingera hemisphaerica* terhadap tikus putih *Rattus norvegicus* yang diinduksi merkuri klorida yang dilihat dari gambaran histopatologi testis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimental *post-test-only-control group design*. Subjek penelitian adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley, berat badan 280-300g, usia 10-12 minggu, memiliki anatomi normal, sehat tanpa kelainan fisik, belum menerima perlakuan sebelumnya dan gerak aktif. Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu merkuri klorida ($HgCl_2$) merek MERCK, ekstrak daun *Etingera hemisphaerica* dosis 0,27 mg/gBB tikus dan dosis 0,55 mg/gBB tikus. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan dilakukan di Sumber Belajar Ilmu Hayati (SBIH) Ruyani. Hewan coba diadaptasi selama 7 hari dan dibagi kedalam 4 kelompok secara acak dengan masing-masing kelompok 5 ekor tikus penelitian.

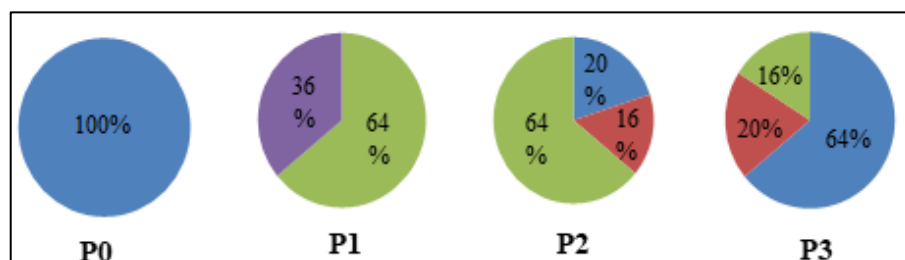
Kelompok kontrol (P0), kelompok kontrol positif (P1) diinduksi $HgCl_2$ 5 mg/kgBB tikus, kelompok perlakuan I (P1) diinduksi $HgCl_2$ 5 mg/kgBB tikus dan ekstrak daun *E. hemisphaerica* dosis 0,27 mg/gBB tikus, dan kelompok perlakuan II (P2) diinduksi $HgCl_2$ 5 mg/kgBB tikus dan ekstrak daun *E. hemisphaerica* dosis 0,5 mg/gBB tikus. Pemberian ekstrak daun *E. hemisphaerica* selama 7 hari

dengan metode *gavage* setelah 24 jam induksi HgCl₂ secara intraperitoneal (IP). Pada hari ke-16 penelitian tikus disuntikkan ketamin–xylazine sebagai analgesia dan anastesia, tikus di euthanasia dengan teknik dislokasi servikal dan laparotomi untuk diambil organ testis.

Organ testis kemudian dibuat preparat histopatologinya dan dinilai dengan *Johnsen Score*. Gambaran histopatologi pada kerusakan sel reproduksi testis penilaian menggunakan kriteria Johnsen dengan skor 1-10. Kriterianya sebagai berikut: (10) spermatogenesis lengkap, lumen tubulus terbuka, sel spermatozoa ≥ 5 ; (9) lumen tubulus tertutup, sel spermatozoa ≥ 5 ; (8) sel spermatozoa ≤ 5 ; 7, sel spermatozoa 0, sel spermatid ≥ 5 ; (6) sel spermatozoa 0, sel spermatid < 5 ; (5) sel spermatozoa dan sel spermatid 0, sel spermatosit ≥ 5 ; (4) sel spermatozoa dan sel spermatid 0, sel spermatosit < 5 ; (3) sel spermatogenik hanya terdiri atas sel spermatogonium; (2) sel spermatogenik 0, hanya ada sel sertoli; (1) tidak ada sel sama sekali dalam tubulus. Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dengan uji lanjutan *Post Hoc Mann-Whitney U*.

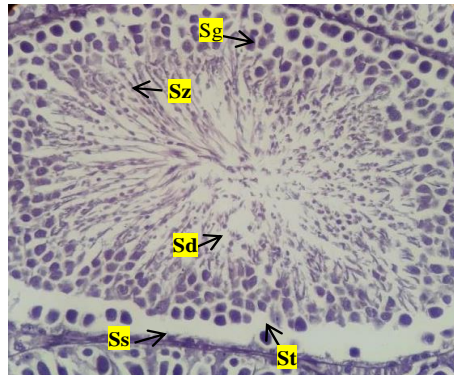
HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian diperoleh pola histopatologi *Johnsen Score* untuk seluruh kelompok perlakuan terdiri dari skor 10, skor 9, skor 8 dan skor 7. Skor yang paling banyak ditemukan merupakan skor 10 yaitu 46% dan skor 9 yaitu 9%, skor 8 yaitu 36% dan skor 7 yaitu 9%. Kategori *Johnsen Score* untuk setiap kelompok dapat dilihat pada gambar 1.

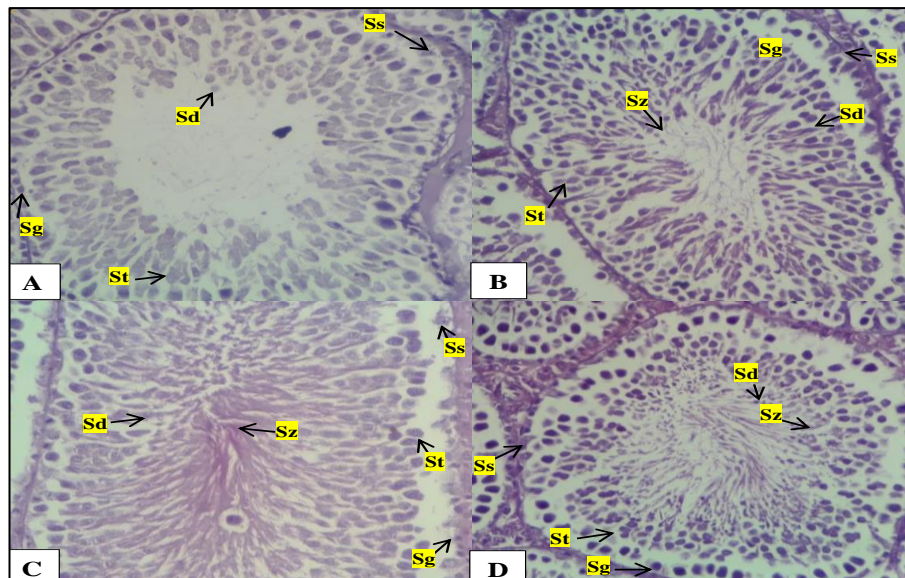


Gambar 1. Grafik Persebaran *Johnsen Score* per Kelompok (Ket: warna biru skor 10, warna merah skor 9, warna hijau skor 8 dan warna ungu skor 7)

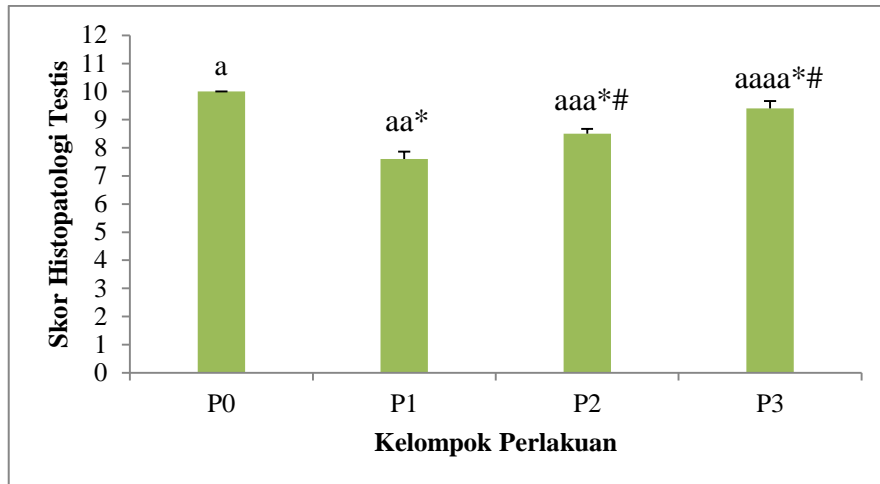
Total skor seluruh lapang pandang per sampel dilakukan uji normalitas distribusi data menggunakan *Shapiro-wilk*, didapatkan data tidak berdistribusi normal ($<0,05$) dengan nilai $p=0,031$, sehingga dilanjutkan dengan uji *non parametrik* yaitu uji *Kruskal Wallis*, dan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p<0,05$) dengan nilai $p=0,000$ yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna skor histopatologi testis *R. norvegicus* setelah perlakuan sesuai kelompok. Kemudian dilakukan uji *Post Hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan bermakna. Rerata *Johnsen Score* testis pada kelompok kontrol negatif, induksi HgCl₂, dosis ekstrak 0,27 mg/gBB, dosis ekstrak 0,55mg/gBB sebesar 10; 7,6; 8,5 dan 9,4 secara berurut. Hasil penelitian gambaran histopatologi masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2. Struktur histopatologi testis tikus (*R. norvegicus*). Kelompok kontrol negatif P0 dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x (Skor 10). Keterangan: Sg. Spermatogonium, St. Spermatosit, Sd. Spermatid, Sz. Spermatozoa, dan Ss. Sel Sertoli



Gambar 3. Struktur Histologi Testis Tikus *Rattus norvegicus*. A dan B: kelompok Kontrol Positif (P1) dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x. (A) Skor 7; (B) Skor 8; C: kelompok Perlakuan I (P2), Skor 9; D: Kelompok Perlakuan II (P3), Skor 10



Gambar 4. Grafik Uji *Post Hoc* Mann Whitney U pada Kelompok Perlakuan
Keterangan: *= Nilai dengan kelompok signifikansi P0 sebagai kontrol; #= Nilai signifikansi dengan kelompok P1 sebagai kontrol; 'a' nilai mean ± standar deviasi kelompok perlakuan; a= 10 ± 0 kelompok P0; aa= 7,6 ± 0,260 kelompok P1; aaa= 8,5 ± 0,167 kelompok P2; aaaa= 8,5 ± 0,167 kelompok P3

Hasil uji *Post Hoc* Mann-Whitney pada Gambar 4 didapatkan bahwa terdapat perbedaan skor kerusakan histopatologi testis pada tikus *R. norvegicus* yang bermakna antara kelompok P0 dengan kelompok P1 yaitu nilai $p = 0,005$. Hasil uji *Post Hoc* Mann-Whitney kelompok P0 dibandingkan dengan kelompok P2 dan kelompok P3 didapatkan hasil berbeda nyata kerusakan skor histopatologi organ testis dengan nilai p yaitu 0,005. Kelompok P1 yang diberikan HgCl_2 dibandingkan dengan kelompok P2 yang diberikan ekstrak *E. hemisphaerica* 0,27 mg/kgBB dan kelompok P3 yang diberikan Ekstrak *E. hemisphaerica* 0,55 mg/kgBB terdapat perbedaan kerusakan skor histopatologi organ testis yaitu nilai $p = 0,008$.

PEMBAHASAN

Induksi HgCl_2 pada tikus normal dapat menyebabkan kerusakan yaitu perubahan gambaran histopatologi. Penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan oleh El-desoky et al. (2013) yaitu tikus yang terpajan oleh HgCl_2 terjadi peningkatan MDA, penurunan GSH testis, penurunan enzim antioksidan testis SOD, CAT dan GPx serta terjadinya gangguan proses spermatogenesis pada beberapa tubulus seminiferus berupa penurunan spermatozoa. Merkuri klorida merupakan salah satu pro-oksidan yang menginduksi terjadinya stres oksidatif (Khan et al., 2004). Senyawa merkuri memiliki afinitas tinggi terhadap gugus biomolekul tiol (-SH), penipisan tiol intraseluler sebagai pemicu terjadinya produksi ROS oleh merkuri (Farina et al., 2003). Peningkatan kadar non protein -SH pada testis setelah paparan dapat merupakan respons adaptif terhadap stres oksidatif (Martinez et al., 2014).

Glutation adalah senyawa tiol yang merupakan antioksidan utama intraseluler penting yang secara spontan menetralkan beberapa ROS. Merkuri menurunkan GSH dalam jaringan testis yang membuat sel spermatogenik lebih rentan terhadap kerusakan oksidatif, terutama selama peningkatan produksi

radikal bebas. Glutation sebagai pembawa merkuri dan agen antioksidan yang memiliki peran spesifik dalam melindungi tubuh dari toksisitas merkuri. Glutation berikatan dengan merkuri dengan membentuk kompleks yang mencegah merkuri berikatan dengan protein seluler dan menyebabkan kerusakan pada enzim dan jaringan (Boujbiha et al., 2009).

Penurunan GSH sebagai antioksidan oleh merkuri dapat menjadi pemicu untuk produksi ROS yang menginduksi lipid. *Reactive oxygen species* adalah mediator penting dari fungsi sperma normal, jika produksi ROS yang berlebihan mengakibatkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran karena spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) pada membran plasma dan sitoplasma yang sangat rentan terhadap serangan ROS. Peroksidasi lipid PUFA mengalami degradasi oleh reaksi berantai yang mengarah ke produksi aldehida sitosolik termasuk MDA (Martinez et al., 2014; Jezek & Hlavata, 2005). Malondialdehid adalah salah satu produk utama asam lemak tak jenuh ganda. Peningkatan kadar MDA adalah indikator dari peroksidasi lipid. HgCl₂ meningkatkan kadar MDA dalam jaringan testis (Boujbiha et al., 2009). Peningkatan MDA dalam jaringan testis akan terjadi penekanan spermatogenesis dan kerusakan sperma. *Reactive oxygen species* dalam sitoplasma sel dapat meningkatkan produksi hidrogen peroksida dan peroksidasi lipid pada membran mitokondria, yang mengakibatkan hilangnya integritas membran dan akhirnya nekrosis sel atau apoptosis (Martinez et al., 2014; Jezek & Hlavata, 2005).

Penurunan SOD karena stres oksidatif dalam jaringan testis disebabkan oleh merkuri (Boujbiha et al., 2009). Enzim antioksidan SOD, CAT dan GPx merupakan pelindung terhadap toksisitas yang disebabkan oleh merkuri. Paparan merkuri dalam jangka panjang menurunkan aktivitas SOD di testis, pengurangan ini dapat meningkatkan kerusakan oksidatif karena akumulasi radikal superoksida dan hidrogen peroksida. Aktivitas katalase juga berkurang sementara aktivitas SOD meningkat pada semua organ reproduksi sebagai mekanisme kompensasi (Martinez et al., 2014). Penurunan aktivitas enzim menunjukkan kegagalan SOD pertahanan antioksidan setelah paparan merkuri yang berkepanjangan. Pengurangan aktivitas SOD dan CAT disebabkan oleh penurunan ekspresi enzim akibat langsung dari ROS karena penghambatan langsung dari merkuri (Bando et al., 2005).

Perubahan sel Sertoli dapat menyebabkan gangguan spermatogenesis, kehilangan sel germinal dan kerusakan sel sertoli menghasilkan penurunan pada laktat (Monsees et al., 2000). Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun *Etilingera hemisphaerica* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa tanin yang terkandung di dalam *Etilingera hemisphaerica* didapatkan hasil (++) sedangkan senyawa yang lainnya didapatkan hasil (+) (Ruyani et al., 2018).

Flavonoid berfungsi sebagai anti radikal bebas yaitu dengan cara mencegah kerusakan akibat radikal bebas secara langsung. Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif. Flavonoid menstabilkan ROS dengan bereaksi pada senyawa reaktif radikal karena reaktivitas tinggi gugus hidroksil pada flavonoid membuat radikal menjadi tidak aktif (Panche et al., 2016).

Flavonoid melindungi lipid terhadap kerusakan oksidatif. Ion logam bebas meningkatkan pembentukan ROS dengan mereduksi hidrogen peroksida dengan menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif, karena potensi redoks yang

lebih rendah, flavonoid mengurangi radikal bebas yang sangat teroksidasi seperti radikal superoksida, peroksil, alkoksil, dan hidroksil dengan cara menyumbangkan atom hidrogen untuk mengikat ion logam (Kumar & Pandey, 2013). Flavonoid juga memiliki efek aditif pada senyawa endogen dan meningkatkan fungsi antioksidan endogen itu sendiri (Robert et al., 2001). Selain itu, flavonoid berfungsi melindungi mitokondria dari kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif (Franco et al., 2010).

Saponin berperan sebagai antioksidan dalam menghambat radikal peroksil yang diinduksi oleh peroksidasi lipid (Necib et al., 2013). Selanjutnya, alkaloid berperan terhadap menurunkan peroksidasi lipid dan meningkatkan kadar GSH (Sasikumar, 2015). Adapun tanin merupakan antioksidan yang dapat berperan sebagai pro-oksidan untuk melawan kerusakan oksidatif dan berfungsi untuk melawan radikal bebas serta mereduksi senyawa lain yang berperan cepat dalam pengikat radikal hidroksil dan memiliki kemampuan untuk mengikat ion logam. Aktivitas yang dilakukan oleh antioksidan ini berupa reaksi secara enzimatik dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas dan *radical quenching agent*. Tanin termasuk metabolit sekunder golongan metabolit fenolik. Fenolik adalah senyawa dengan benzena tersubstitusi hidroksil dan relatif stabil untuk melawan radikal bebas (Kasote et al., 2015).

SIMPULAN

Pemberian ekstrak daun *E. hemisphaerica* pada *R. norvegicus* yang diinduksi merkuri klorida terbukti memberikan efek perbaikan pada skoring penilaian tahap spermatogenesis pada gambaran histopatologi testis *R. norvegicus* yang diinduksi merkuri inorganik.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelati, S., Juniarto, A. Z., & Miranti, I. P. (2016). Histopatologi Spermatogenesis Testis Tikus Wistar Diabetes Melitus. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5(4), 1760–1769. <https://doi.org/10.14710/dmj.v5i4.15962>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2016). *Merkuri pada Penambang Emas*. <http://ik.pom.go.id/v2016/artikel/Merkuri%20Pada%20Penambangan%20Emas.pdf>
- Bando, I., Sánchez Reus, M. I., Andrés, D., & Cascales, M. (2005). Endogenous Antioxidant Defence System in Rat Liver Following Mercury Chloride Oral Intoxication. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 19(3), 154–161. <https://doi.org/10.1002/jbt.20067>
- Bas, H., & Kalender, S. (2016). Antioxidant Status, Lipid Peroxidation and Testis-Histoarchitecture Induced by Lead Nitrate and Mercury Chloride in Male Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, 1–9. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016160151>
- Boujbiha, M. A., Hamden, K., Guermazi, F., Bouslama, A., Omezzine, A., Kammoun, A., & Feki, A. E. (2009). Testicular Toxicity in Mercuric Chloride Treated Rats: Association with Oxidative Stress. *Reproductive Toxicology*, 28(1), 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2009.03.011>
- Broussard, L. A., Hammett-stabler, C. A., & Winecker, Ruth Roper-Miller, J. D. (2002). The Toxicology of Mercury. *Laboratory Medicine*, 33(8), 614-625. <https://doi.org/10.1309/5HY1-V3NE-2LFL-P9MT>

- El-desoky, G. E., Bashandy, S. A., Alhazza, I. M., Al-othman, Z. A., Aboul-soud, M. A. M., & Yusuf, K. (2013). Improvement of Mercuric Chloride-Induced Testis Injuries and Sperm Quality Deteriorations by *Spirulina platensis* in Rats. *PLoS One*, 8(3), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059177>
- Farina, M., Brandão, R., De Lara, F. S., Pagliosa, L. B., Soares, F. A., Souza, D. O., & Rocha, J. B. T. (2003). Profile of Nonprotein Thiols, Lipid Peroxidation and δ -aminolevulinatase Dehydratase Activity in Mouse Kidney and Liver in Response to Acute Exposure to Mercuric Chloride and Sodium Selenite. *Toxicology*, 184(2–3), 179–187. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00576-0](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00576-0)
- Franco, J. L., Posser, T., Missau, F., Pizzolatti, M. G., Santos, A. R. S., Souza, D. O., Aschner, M., Rocha, J. B. T., Dafre, A. L., & Farina, M. (2010). Structure-Activity Relationship of Flavonoids Derived from Medicinal Plants in Preventing Methylmercury-Induced Mitochondrial Dysfunction. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(3), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.07.003>
- Jackie, T., Haleagrahara, N., & Chakravarthi, S. (2011). Antioxidant Effects of *Etlintera Elatior* Flower Extract Against Lead Acetate-Induced Perturbations in Free Radical Scavenging Enzymes and Lipid Peroxidation in Rats. *BMC Research Notes*, 4, 1-7. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-67>
- Ježek, P., & Hlavatá, L. (2005). Mitochondria in Homeostasis of Reactive Oxygen Species in Cell, Tissues, and Organism. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 37(12), 2478–2503. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.05.013>
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982–991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- Khan, A. T., Atkinson, A., Graham, T. C., Thompson, S. J., Ali, S., & Shireen, K. F. (2004). Effects of Inorganic Mercury on Reproductive Performance of Mice. *Food and Chemical Toxicology*, 42(4), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2003.10.018>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Martinez, C. S., Escobar, A. G., Torres, J. G. D., Brum, D. S., Santos, F. W., Alonso, M. J., Salaices, M., Vassallo, D. V., Peçanha, F. M., Leivas, F. G., & Wiggers, G. A. (2014). Chronic Exposure to Low Doses of Mercury Impairs Sperm Quality and Induces Oxidative Stress in Rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 77(1–3), 143–154. <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.867202>
- Monsees, T. K., Franz, M., Gebhardt, S., Winterstein, U., Schill, W. B., & Hayatpour, J. (2000). Sertoli Cells as a Target for Reproductive Hazards. *Andrologia*, 32(4–5), 239–246. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0272.2000.00391.x>
- Necib, Y., Bahi, A., Zerizer, S., Abdennour, C., & Boulakoud, M. S. (2013). Effect of Virgin Olive Oil (*Olea europea*. L) on Kidney Function

- Impairment and Oxidative Stress Induced by Mercuric Chloride in Rats. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 9(4), 415–422. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2013.415.422>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An Overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, 1–3. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., van Norren, K., & van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids a Review of Probable Mechanisms of Action. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418–425. <https://doi.org/10.1093/ajcn/74.4.418>
- Ruyani, A., Putri, R. Z. E., Jundara, P., Gresinta, E., Ansori, I., & Sundaryono, A. (2018). Protective Effect of Leaf Ethanolic Extract *Etilingera hemisphaerica* Blume Against Mercuric Chloride Toxicity in Blood of Mice. *Journal of Dietary Supplements*, 16(1), 51–65. <https://doi.org/10.1080/19390211.2018.1429516>
- Sasikumar, V. (2015). Protective Effect of Alkaloids from *Amaranthus viridis* Linn. Against Hydrogen Peroxide Induced Oxidative Damage in Human Erythrocytes (RBC). *International Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1(1), 49–53. <https://doi.org/10.17352/ijcem.000011>