

Potensi Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Sebagai Antifertilitas Melalui Tampilan Immunohistokimia Caspase 3 Aktif Pada Testis Serta Penilaian Kuantitas dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.)

Maria Lestari^{1*}; M. Pandapotan Nasution² dan Sry Suryani¹

¹Bagian Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara

²Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara

*Korespondensi: sevenandmia@gmail.com / maria_cyutoo@yahoo.com

Abstract. Control of male fertility is one of the government efforts to reduce the number of population. Several researches have been done to make a male contraceptive, one of them is using herb to effect male reproductive system. *Aloe vera* (*Aloe vera* L.) has been widely cultivated by the people and used as materials for food and drugs. One of the benefits of this plant is its potential antifertility. For this research aims to test the antifertility potential of ethanol extract in *Aloe vera* (*Aloe vera* L.) leaf. in male mice (*Mus musculus* L.) DDW (Double Ditch Webster) strain. This is an experimental research with complete randomization. Extract administered orally once a day for four weeks to of 24 male mice which divided into four groups: control group (0.5 ml/kgBW Aqudest), treatment group dosage 5mg/kgBW, 10mg/kgBW, 15mg/kgBW extract. We observed the expression of active caspase-3 microscopically through immunohistochemical appearance, quantity (number of spermatozoa) and quality (viability of sperm, sperm morphology and motility). The results were statistically analyzed using one-way ANOVA followed by multiple comparison (post hoc - Bonferroni test). The results showed between ethanol extract of *Aloe vera* leaf with the first dosage (5mg/kgBW), second dosage (10mg/kgBW) and the third dosage (15mg/kgBW) a significant reduction of the quantity and quality of spermatozoa ($p < 0.05$). on the other hand activity of caspase 3 expression active has increased significantly ($p < 0.05$) in spermatogonial cells of seminiferous tubules during the administration of ethanol extract of *Aloe vera* (*Aloe vera* L.) leaf. This shows an increase in the incidence of apoptosis during spermatogenesis. From these results it can be concluded that the ethanol extract of *Aloe vera* leaf has potency to be an antifertility drug that can later be developed for the manufacture of male contraception.

Keywords: *aloe vera* extract, caspase-3, spermatozoa, quantity, quality

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang mengalami peningkatan jumlah penduduk yang cukup pesat. Berdasarkan hasil sensus tahun 2010 bahwa jumlah penduduk Indonesia sebanyak 237.641.326 jiwa. Dalam periode sepuluh tahun terakhir jumlah penduduk Indonesia meningkat dengan laju pertumbuhan per tahun sekitar 1,49 persen sementara itu pada periode sepuluh tahun sebelumnya (1990-2000) laju pertumbuhan penduduk per tahun sekitar 1,44 persen (Badan Pusat Statistik, 2013).

Salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan jumlah penduduk diatas adalah penerapan keluarga berencana (KB). Program KB telah dikenal sejak lama dengan menggunakan berbagai alat kontrasepsi. Perkembangan alat kontrasepsi selama ini masih terfokus kepada kaum perempuan sedangkan pendekatan terhadap konteks

pengendalian fertilitas laki - laki masih sangat kurang. Oleh karena itu banyak peneliti yang memperkenalkan kontrasepsi pria non hormonal yang memiliki mekanisme berbeda dengan hormonal yaitu tanpa mempengaruhi jalur hipotalamus hipofisis - testis untuk menghambat spermatogenesis atau menghambat motilitas sperma (Meriggiola & Pelusi, 2006). Kontrasepsi non hormonal tersebut sering dibuat dalam bentuk pil kontrasepsi yang berbahan dasar dari berbagai tanaman yang memiliki potensi sebagai antifertilitas.

Indonesia kaya akan tanaman obat yang baru sebagian kecil dimanfaatkan (Handayani, 2007). Salah satu tumbuhan tradisional yang juga banyak dibudidayakan khususnya di Indonesia yang memiliki potensi sebagai antifertilitas adalah tumbuhan Lidah buaya (*Aloe vera*) (Sharma *et al.*, 2013; Phokharkar *et al.*, 2010). Tumbuhan Obat Lidah buaya (*Aloe vera*)

dikenal sebagai tumbuhan yang memiliki banyak khasiat. Tumbuhan ini tergolong ke dalam suku Liliaceae.

Daun lidah buaya mengandung tanin, saponin dan flavonoid yang diduga mempengaruhi proses spermatogenesis dan maturasi sperma. Dengan adanya tanin, saponin dan flavonoid maka diharapkan daun lidah buaya ini mampu berperan sebagai salah satu alternatif dalam kontrasepsi pria (Hidayat, 2009). Oyeopo *et al.* (2011) dalam hasil penelitiannya menyampaikan bahwa pemberian ekstrak air gel Lidah buaya pada tikus menurunkan secara signifikan jumlah spermatozoa dan motilitasnya. Selain itu dilaporkan juga adanya penurunan berat testis setelah pemberian ekstrak air gel Lidah buaya. Penelitian Gupta *et al.* (2013) menyampaikan bahwa kandungan polisakarida yang terdapat pada daun Lidah buaya memiliki potensi sebagai imunostimulan yang dapat dijadikan sebagai agen antifertilitas pada sekelompok tikus betina. Hal ini dibuktikan pada kelompok tikus betina yang diberikan polisakarida dari ekstrak daun Lidah buaya sebesar 4mg/kgBB memperlihatkan tidak adanya implant yang terbentuk pada saluran rahim. Sementara itu penelitian tingkat molekuler menyebutkan bahwa infertilitas pria dilaporkan berhubungan dengan gangguan pada DNA mitokondria (mtDNA) dan apoptosis (Darmawan, 2007).

Selama spermatogenesis kematian sel secara terprogram (apoptosis) memainkan peran penting untuk menghilangkan sel - sel germinal yang cacat atau yang membawa mutan DNA. Pada proses fisiologi ini dapat terjadi disregulasi sehingga apoptosis sel germinal dapat menyebabkan infertilitas pria. Apoptosis sel germinal juga biasa dihasilkan dari gangguan eksternal seperti perubahan hormonal atau paparan bahan kimia beracun atau radiasi yang dapat menyebabkan penurunan jumlah sperma (Hadi, 2011). Zha *et al.* (2008) dalam penelitiannya menyampaikan bahwa obat antifertilitas pada pria melalui kontrasepsi dapat menekan proses spermatogenesis. Mekanisme ini juga berkorelasi dengan proses apoptosis sel - sel spermatogonia. Sampai saat ini caspase 3 (bentuk aktif dari procaspase3) merupakan jenis caspase mamalia yang paling dimengerti spesifisitas dan perannya pada apoptosis (Fan *et al.*, 2005). Pada sel yang mengalami apoptosis caspase 3 merupakan eksekutor utama yang dapat diaktivasi oleh kedua jalur

baik itu jalur ekstrinsik maupun intrinsik. Untuk mendeteksi dan menilai aktivitas apoptosis pada jaringan caspase 3 jauh lebih baik. Hal ini didasari melalui metode pewarnaan imunohistokimia yang mudah, sensitif, dan dapat diandalkan sehingga direkomendasikan untuk digunakan pada deteksi dan penilaian apoptosis jaringan (Nurfaziyah *et al.*, 2011). Pencapaian keadaan apoptosis diatas merupakan indikator suatu pemberian obat antifertilitas baik modern maupun tradisional khususnya pada pria. Mengingat resiko dari penggunaan obat antifertilitas konvensional yang cukup membahayakan maka peneliti ingin menggunakan yang berbahan dasar dari salah satu jenis tumbuhan yang terdapat dalam jumlah banyak di alam serta pemanfaatannya yang cukup banyak terutama dalam bidang kesehatan.

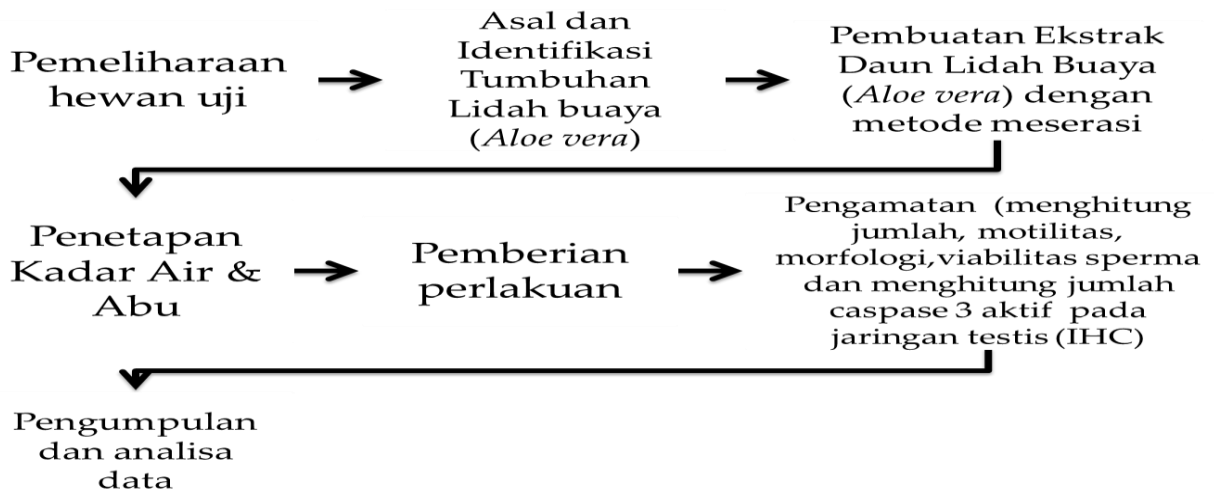
METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang didesain mengikuti Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 6 ulangan (n=6). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan dan Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Murni Teguh Medan. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* L.) Strain DDW (*Double Distch Webster*) yang diperoleh dari *animal house* Fakultas Farmasi. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer (Wahyuni, 2010)¹⁴ dimana $\{(t-1)(n-1)\} \geq 15$.

Kriteria inklusi: *Mus musculus* L. Strain DDW (*Double Distch Webster*), jenis kelamin jantan, sehat dan aktif, umur \pm 12 minggu, mempunyai berat badan berkisar 25-30 g dan belum pernah digunakan untuk penelitian. Kriteria eksklusi: mencit dalam keadaan sakit, bergerak tidak aktif dan berat badan < 25g dan > 30 g. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Lidah buaya yang telah diidentifikasi di Pusat Penelitian Botani Biologi LIPI Bogor. Parameter yang diamati meliputi ekspresi caspase 3 aktif melalui tampilan imunohistokimia, kuantitas (jumlah spermatozoa) kualitas (viabilitas spermatozoa, morfologi spermatozoa dan motilitas spermatozoa) yang diamati secara mikroskopik. Hasil pengamatan selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan uji

ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan test).
multiple comparison (pos hoc - bonferroni

Diagram alir penelitian

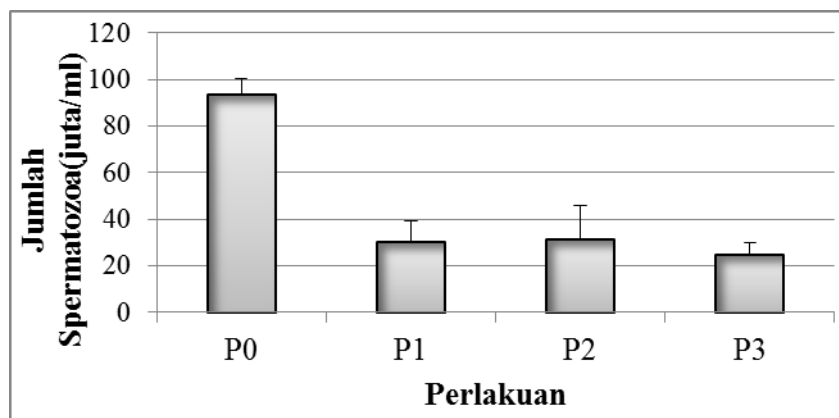


HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Profil data hasil perlakuan

Tabel 1. Gambaran jumlah spermatozoa P3 (15mg/kgBB)

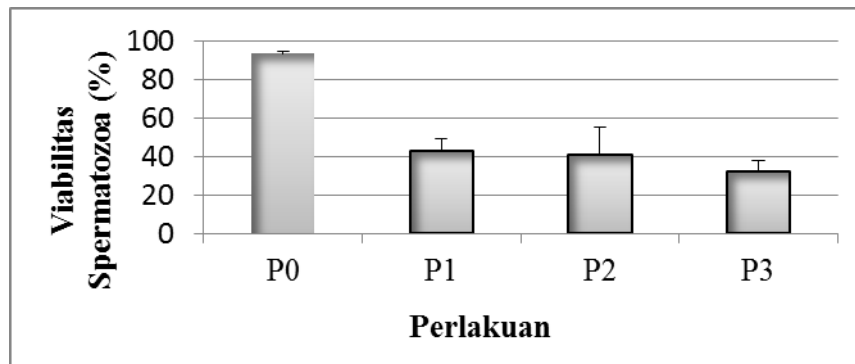
Kelompok Perlakuan	n (Ulangan)	Jumlah Spermatozoa (x±SD)
P0	6	93.64 ±6.71
P1	6	30.11 ± 9.06
P2	6	31.28 ± 14.63
P3	6	24.67 ± 5.25



Gambar 1. Profil kelompok kontrol dan perlakuan

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) (%)

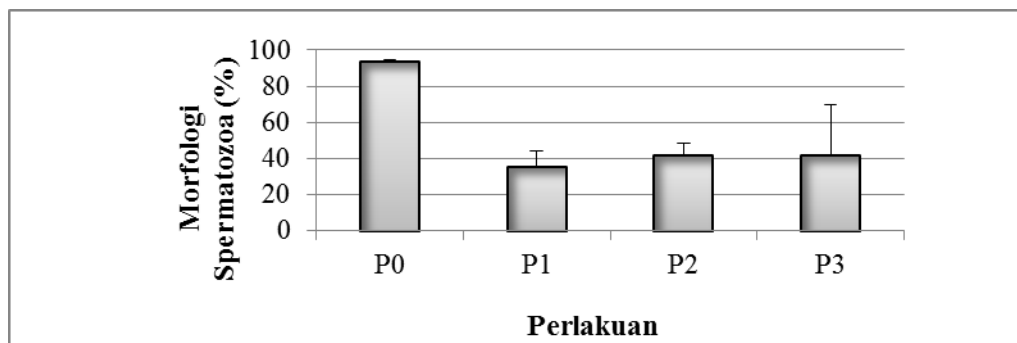
Kelompok Perlakuan	n (Ulangan)	Viabilitas Spermatozoa (%±SD)
P0	6	93.47 ±0.97
P1	6	43.22 ± 5.84
P2	6	40.78 ± 14.63
P3	6	32.48 ± 5.25



Gambar 2. Profil viabilitas spermatozoa

Tabel 3. Morfologi normal spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) (%)

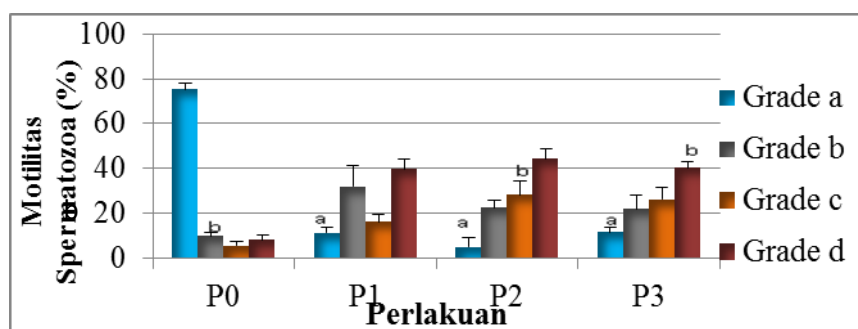
Kelompok Perlakuan	n (Ulangan)	Morfologi Spermatozoa (%±SD)
P0	6	93.42 ± 0.91
P1	6	35.19 ± 9.22
P2	6	41.64 ± 6.60
P3	6	41.72 ± 27.80



Gambar 3. Profil morfologi normal kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Tabel 4. motilitas spermatozoa mencit (*Mus musculus L.*) (%)

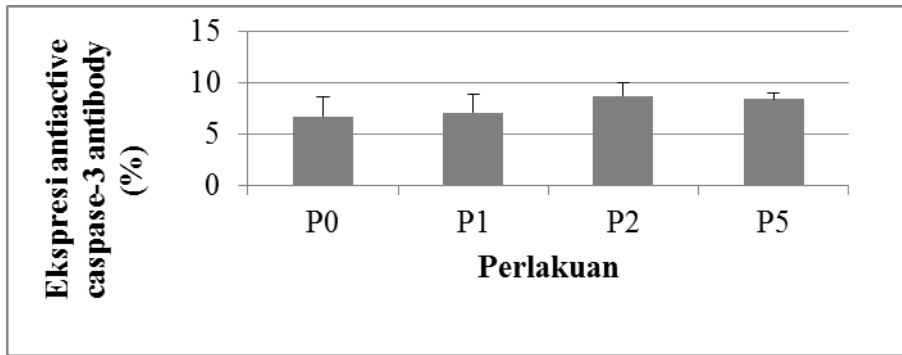
Kelompok Perlakuan	n (Ulangan)	Grade a	Grade b	Grade c	Grade d
P0	6	75.42±2.67	11.47±2.66	5.00±4.42	11.53±2.32
P1	6	10.14±1.23	32.03±9.30	22.50±3.18	21.94±6.07
P2	6	5.56±1.72	16.44±3.06	28.33±6.33	26.25±5.16
P3	6	8.33±1.83	39.78±4.58	44.17±4.61	40.28±3.06



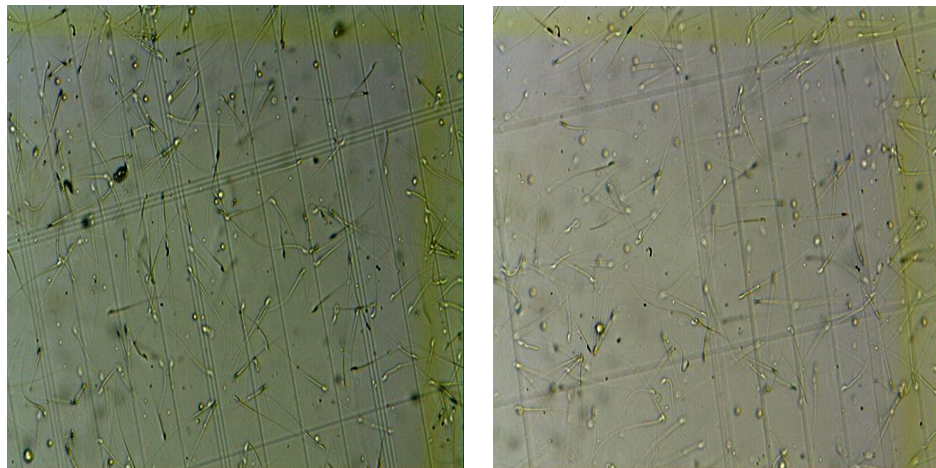
Gambar 4. Profil motilitas spermatozoa kelompok perlakuan dan kontrol.

Tabel 5. Aktivitas anti active caspase-3 antibody (%)

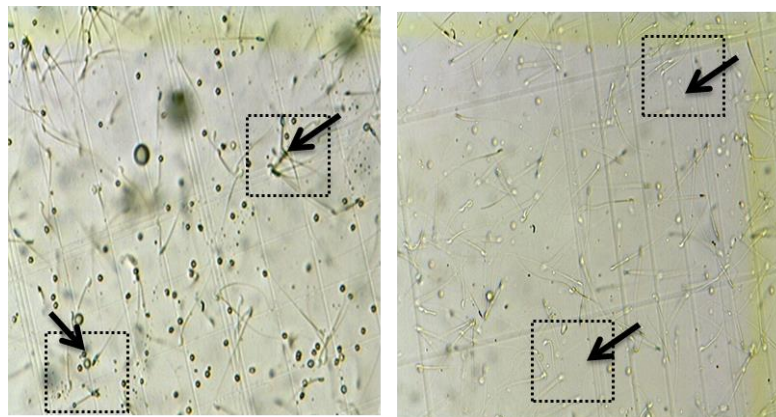
Kelompok Perlakuan	n (Ulangan)	Ekspresi anti active caspase-3 antibody (%±SD)
P0	6	6.75 ± 1.95
P1	6	7.13 ± 1.79
P2	6	8.71 ± 1.34
P3	6	8.42 ± 0.56



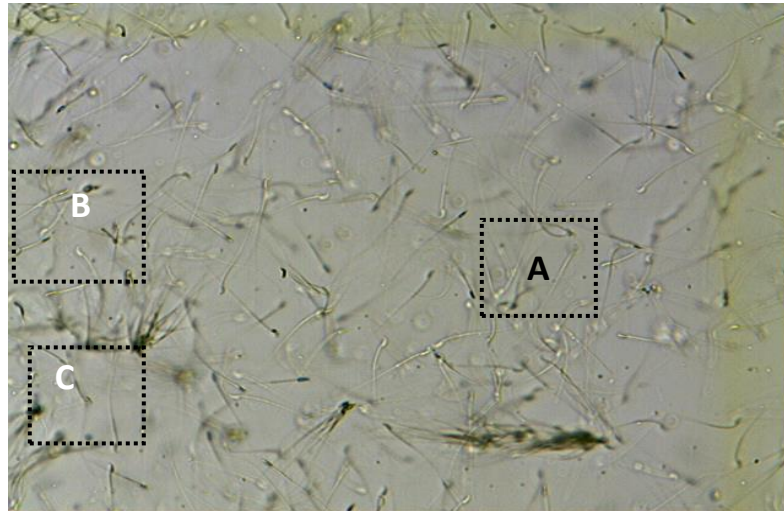
Gambar 5. Profil aktivitas anti active caspase-3 antibody kelompok kontrol dan perlakuan



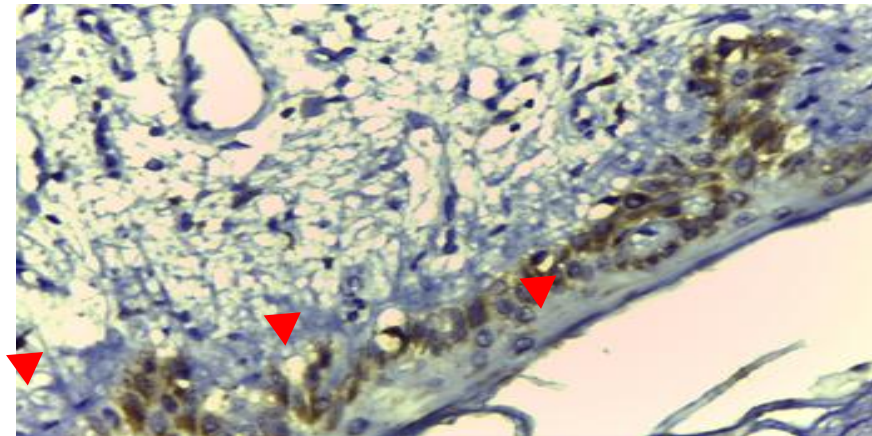
Gambar 6. Hasil pengamatan jumlah spermatozoa



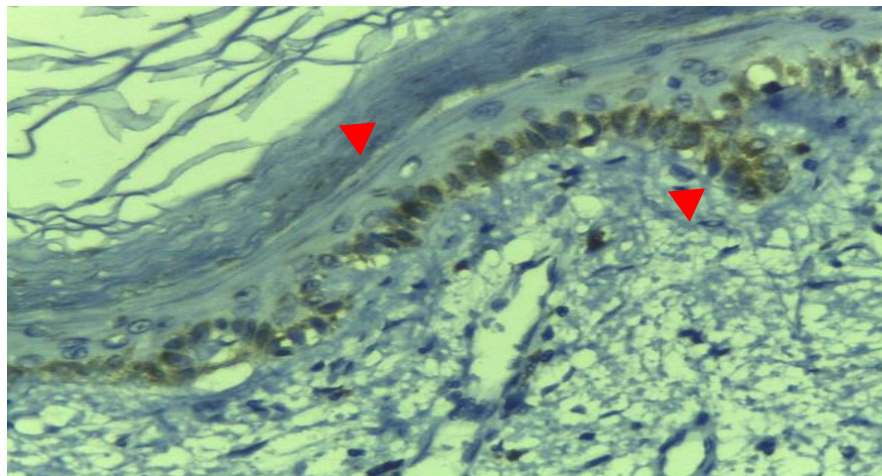
Gambar 7. Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa



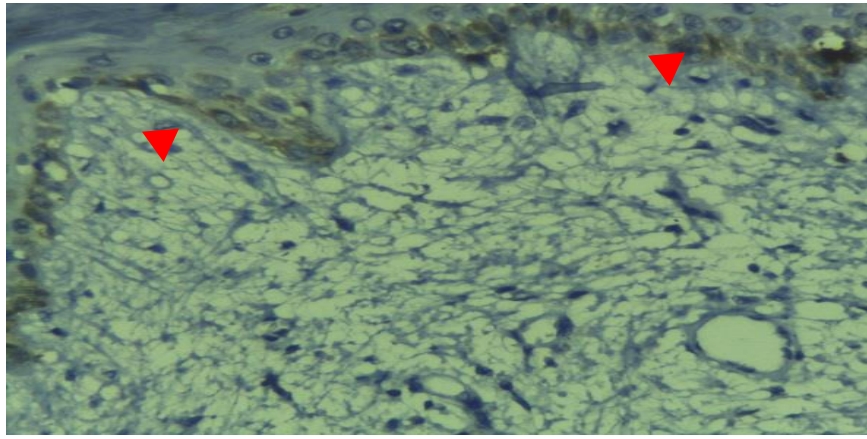
Gambar 8. Hasil pengamatan morfologi spermatozoa



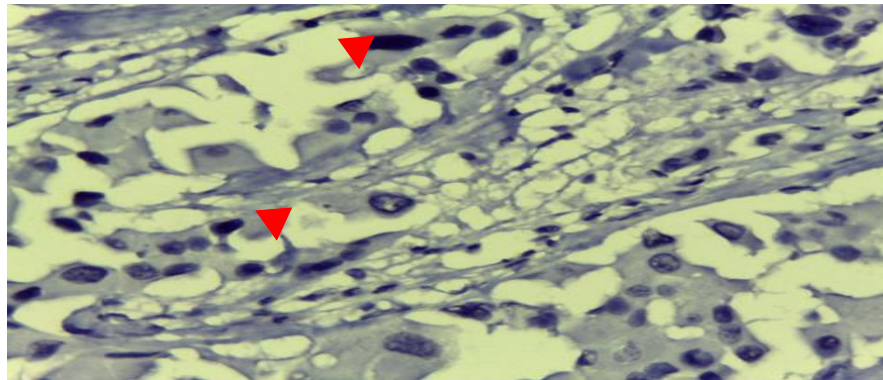
Tampilan kuat pada kontrol positif anti active caspase-3 (perbesaran 400x)



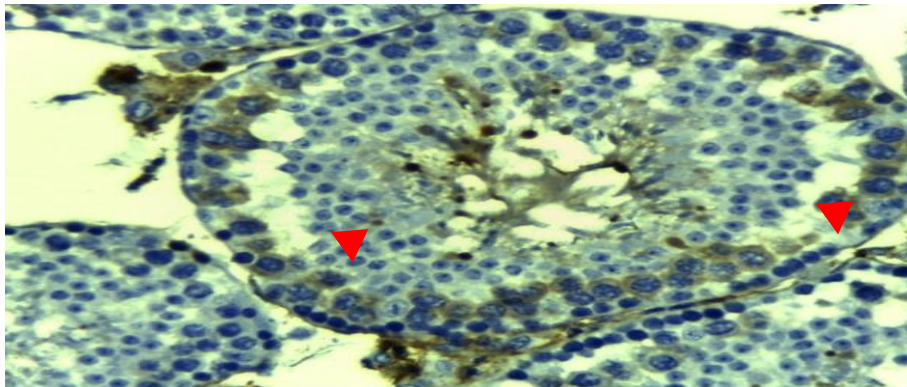
Tampilan sedang pada kontrol positif anti active caspase-3 (perbesaran 400x)



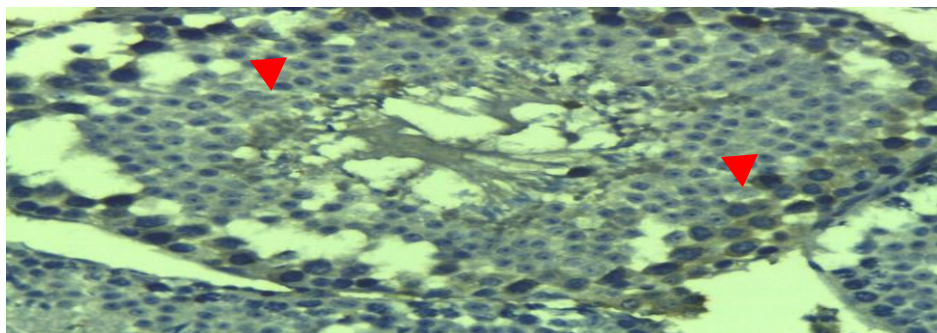
Tampilan lemah pada kontrol positif anti active caspase-3 (perbesaran 400x)



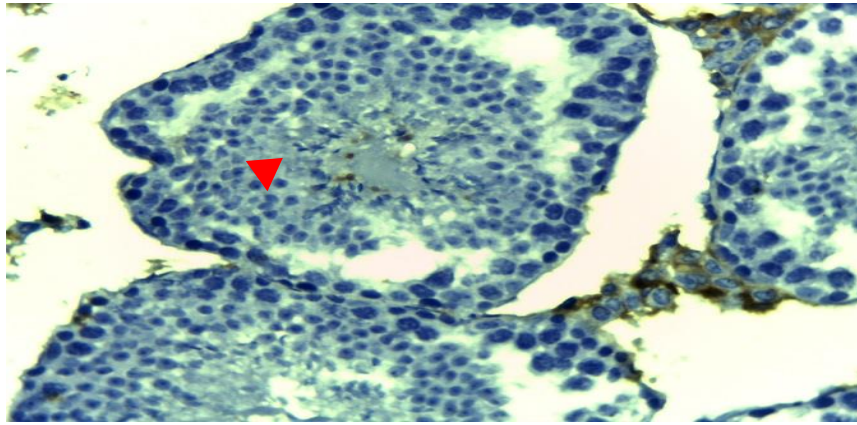
Tampilan pada kontrol negatif (perbesaran 400x)



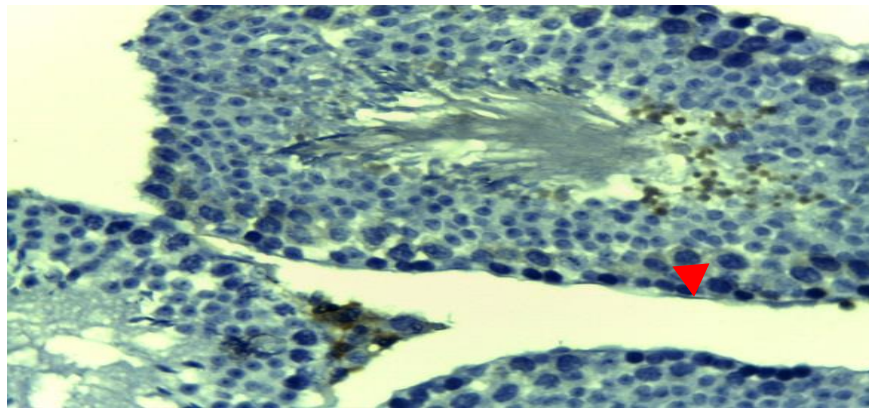
Tampilan positif kuat pada kelompok perlakuan (perbesaran 400x)



Tampilan positif sedang pada kelompok perlakuan (perbesaran 400x)



Tampilan positif lemah pada kelompok perlakuan (perbesaran 400x)



Tampilan positif lemah pada kelompok perlakuan (perbesaran 400x)

Gambar 9. Hasil pulasan imunohistokimia dengan *anti active caspase-3 antibody*

PEMBAHASAN

Adanya penurunan konsentrasi sperma kemungkinan karena terjadinya penghambatan pada spermatogenesis khususnya pada tahap spermiogenesis yaitu pada saat transformasi morfologik spermatid yang berdiferensiasi sepenuhnya membentuk spermatozoa. Penghambatan tersebut dapat berupa penghambatan oleh suplai senyawa kimia yang berlebih sehingga menimbulkan toksisitas yang cukup tinggi. Demikian pula Ogbuewu *et al.* (2011) melaporkan bahwa efek spermisida dari tanaman merupakan hasil dari kandungan senyawa fitokimia. Hal ini didukung juga oleh Hossain *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa bagian daun dari tanaman *Aloe vera* L. memiliki pengaruh terhadap kondisi kesuburan pada tikus jantan dengan pemberian dosis 70-100mg/kgBB.

Pada dasarnya proses spermatogenesis terjadi di tubulus seminiferus testis. Dimana didalamnya terdapat sel-sel induk spermatozoa atau spermatogonium, sel sertoli

yang berfungsi memberi makan spermatozoa juga sel leydig yang terdapat pada jaringan interstitial yang berfungsi menghasilkan testosteron. Adanya gangguan pada organ reproduksi ini akibat zat kimia tersebut secara tidak langsung akan mempengaruhi proses spermatogenesis (Guyton & Hall, 2001 dalam Heryani *et al.*, 2011). Zha *et al.* (2008) menyatakan bahwa mekanisme kerja obat antifertilitas pada jantan berkaitan dengan apoptosis sel-sel spermatogenik. Selain itu penurunan jumlah spermatid akhir dapat pula disebabkan oleh penurunan kadar testosteron. Sewanirusike & Gundidza (2011) melaporkan bahwa penurunan spermatogenesis berkaitan dengan kekurangan testosteron.

Susetyarini (2009) dalam penelitiannya menyampaikan bahwa salah satu kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid dapat menghambat kerja enzim aromatase yang merupakan enzim yang dapat mengkatalis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormon testosteron yang

penting untuk meningkatkan daya hidup spermatozoa. Sementara itu immobilitas sperma yang disebabkan oleh kandungan senyawa pada tanaman dapat berupa kematian sel (Lohiya *et al.*, 2000), kerusakan sel membran (Chakrabarti *et al.*, 2003), penurunan ATP dan kerusakan kromatin (Hikim *et al.*, 2000). Hasil penelitian ini menunjukkan kemungkinan adanya efek spermisid dari ekstrak yang berasal dari kandungan triterpen dan saponin yang merusak sperma.

Spermatozoa tidak dapat hidup lebih dari 1-2 jam tanpa ada glikolisis yang aktif. Metabolisme spermatozoa erat hubungannya dengan ATP (Adenosin Tri Phospat) karena energi yang terkandung dalam bahan tersebut dibutuhkan untuk motilitas dan mempertahankan keseimbangan osmotik. Seiring dengan hal tersebut perombakan ATP di dalam selubung mitokondria yang berada pada bagian tengah ekor spermatozoa melalui reaksi penguraian menjadi Adenosin Diphospat (ADP) dan Adenosin Monophospat (AMP) dimana jika ATP dan ADP habis maka spermatozoa akan berhenti bergerak. Selain itu plasma semen yang terganggu akibat senyawa kimia juga mempengaruhi motilitas spermatozoa tersebut. Hal ini dikarenakan plasma semen merupakan sarana untuk berenang sekaligus sebagai sumber energi bagi spermatozoa, yang dapat dimanfaatkan untuk bergerak aktif (motil) (Hafez, 2000).

Apoptosis atau program kematian sel merupakan proses normal yang terjadi pada proses spermatogenesis mamalia yang bertujuan untuk menjaga homeostatis dan mempertahankan keseimbangan antara sel-sel germinal dan sel sertoli. Komponen yang menjadi pusat berjalannya proses apoptosis tersebut melibatkan kelompok caspase atau kelompok enzim protease sistein yang berperan penting dalam mengatur dan mengeksekusi kematian sel secara apoptosis (Reed, 2000).²⁴ Infertilitas pria menunjukkan korelasi positif dengan jumlah sperma yang mengalami apoptosis (Wang *et al.*, 2003). Kemungkinan peningkatan jumlah apoptosis karena terikutnya sperma yang belum matang ketika ejakulasi (Cayli *et al.*, 2004).

Apoptosis dan kerusakan DNA dapat mencegah proses pemasakan sperma. Akibatnya pasien mungkin menjadi azoospermia sebagai akibat dari ketidakseimbangan dalam jalur ini (Agarwal dan Said, 2005). Albadri *et al.*, (2013) dalam penelitiannya menyampaikan bahwa mencit

yang diberikan perlakuan alkohol 3g/kgBB secara signifikan mengalami penurunan baik dalam jumlah dan motilitas spermatozoanya dimana akibat dari penurunan ini akan menyebabkan infertilitas.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun Lidah buaya (*Aloe vera*) dapat menurunkan kuantitas (Jumlah Spermatozoa mencit) dan kualitas (viabilitas, morfologi, motilitas) spermatozoa mencit. Hal ini diikuti juga dengan adanya peningkatan aktivitas caspase 3 aktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dr. Pandapotan Nasution, MPS, Apt., dr. Sry Suryani, M. Kes, dr. M.Rusdah SpOG (K), M.Ked, dan dr. Feby Yanti Harahap, M.Ked (PA), SpPA yang telah banyak memberikan bimbingan selama penelitian hingga penyelesaian penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2013. Laporan Bulanan Data Sosial Ekonomi. Edisi ke-43
- Meriggiola, M. C. & Pelusi, G. 2006. Advances in male hormonal contraception. *Expert Opin Investig Drug*, **15**(4):389-97
- Handayani, L. 2007. Pil Kontrasepsi Laki-laki dengan Bahan Dasar Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F). *Maj Kedok Indon*, **5**(7):281
- Sharma, P., Sharma, S., Agarwal, M. & Joshi, S.C. 2013. A review on antifertility efficacy of plants in males. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **4**(4):413-428
- Pokharkar, R.D., Saraswat, R.K. & Kotkar, S. 2010. Survey of plants having antifertility activity from western ghat area of Maharashtra state. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, **4**(2):71-75
- Hidayat, L. 2009. Efek Pemberian infusa daun lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap jumlah spermatozoa mencit (*Mus musculus*). Penelitian kesehatan seri, 26
- Oyeopo, A.O., Oremosu, A. A., Akang, E. N., Noronha, C.C. & Okanlawon, A. O. 2011. Effects of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) aqueous leaf extract on testicular weight, sperm count and motility of adult

- male Sprague-dawley rats. *Journal of American Science*, **7(4)**:31-33
- Gupta, E., Pereira, L. Dugar, F. & Rajesh, L. 2013. Polysaccharides From Aloe Leaf Mucilage As Potential Immunological-Based Anti-Fertility Agents. *International Pharmaceutical Science And Research*, **4(1)**:440-444
- Darmawan, H. 2007. Production of ROS and its effects on mitochondrial and nuclear DNA, human spermatozoa, and sperm function. *Med J Indones*, **16(2)**:132-133
- Hadi, P. 2011. Apoptosis Pada Sperma Sebagai Petanda Adanya Gangguan Kesuburan. *Majalah Kesehatan Pharmamedika*, **3(2)**:282-285
- Zha, S.W., Sha, J. & Huang, Y.F. 2008. Male antifertility drugs and cell apoptosis. *Nat J Andro*, **14**:75-78
- Fan, T.J.L. H., Han, R. S., Cong, J. & Liang. 2005. Caspase Family Proteases an Apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin*, **37(11)**:719-727
- Nurfaiziyah, A., novrial, D. & wijayana, K, A. 2011. Efek pemberian ekstrak tempe kedelai (glycine max) terhadap ekspresi caspase-3 mencit galur C3H model karsinogenesis payudara. *Mandala of Health*, **5(2)**
- Wahyuni, A.S. 2010. Statistika kedokteran disertai aplikasi SPSS, bamboedoea communication. Jakarta
- Ogbuwu, I.P., Unamba-Oparah, I.C, Odoemenam, V.U., Etuk, I.F. & Okoli, I.C. 2011. The potentiality of medicinal plants as the source of new contraceptive principles in males. *North Am J Med Sci*, **3**:255-263
- Hossain, M.S., Rashid, A.N.M.M.O., Md, N., Towfique. & Sen, M.K. 2013. A review on ethnopharmacological potential of Aloe vera L. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, **2(2)**:113-120
- Heryani, L., Susari, N. & Kardena, I.M. 2011. Paparan Formalin Menghambat Proses Spermatogenesis pada Mencit. *Jurnal Veteriner*, **12(3)**:214-220
- Sewani-Rusike, C.R. & Gundidza, M. 2011. Antifertility effects of oldenlandia affinis in male rats-a preliminary study. *Afr J Tradit Compl Altern Med*, **8**:425-428
- Susetyarini, R., E. 2009. Efek senyawa aktif daun beluntas terhadap kadar testoteron Tikus putih (ratus norwegicus) jantan. *GAMMA*, **5(1)**: 21-27
- Lohiya, N.K., Kothari, L.K., Manivannan, B., Mishra, P.K. & Pathak, N. 2000. Human sperm immobilization effect of Carica papaya seed extracts: an in vitro study. *Asian J Androl*, **2**:103-109
- Chakrabarti, K., Pal, S. & Bhattacharyya, A.K. 2003. Sperm immobilization activity of Allium sativum L. and other plant extracts. *Asian J Androl*, **5**:131-135
- Hikim, A.P., Lue, Y.H., Wang, C., Reutrakul, V., Sangsuwan, R. & Swerdloff, R.S. 2000. Posttesticular antifertility action of triptolide in the male rat: evidence for severe impairment of cauda epididymal sperm ultrastructure. *J Androl*, **21**:431-437
- Hafez, B. & E.S.E. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animal 7th Edition*. Lippincott William & Wilkins: Baltimore, USA
- Reed J., C. 2000. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol*, **157**:1415-1430
- Wang, X., Sharma, R.K., Sikka, S.C., Thomas, A.J., Falcone, T. & Agarwal, A. 2003. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril*, **80**:531-535
- Cayli, S., Sakkas, D., Vigue, L., Demir, R. & Huszar, G. 2004. Celluler maturity and apoptosis in human sperm: creatine kinase, caspase 3 and Bcl-XL levels in mature and diminished maturity sperm. *Mol Hum Reprod*, **10**: 365-372
- Agarwal, A., Prabakaran, S. & Said, T. 2005. Prevention of oxidative stress injury to sperm. *J Androl*, **26**:654-60
- Albadri, C.T., Al, A.I.M. & Hiba, H.M.A. 2013. Alcohol consumption and its effect on testicular structure and on sperma count and motility in parent mice and their offsprings. *IMJM (The International Medical Journal Malaysia)*, **12(1)**: 45-46