

Bobot Badan Mencit (*Mus musculus L.*) setelah Pemberian Ekstrak Ethanol Daun Nimba (*Azadirachta indica*) Secara Oral Selama 21 Hari

Mice (*Mus musculus L.*) Body Weight After Treated Orally with Ethanolic Neem (*Azadirachta Indica*) Leaf Extract During 21 Days

Agung Janika Sitaswi

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang

Email: agssiwi@yahoo.co.id

Diterima 28 Desember 2017 / Disetujui 23 Januari 2018

ABSTRAK

Penggunaan Nimba sebagai tanaman obat perlu dikaji dengan lebih teliti karena memiliki beberapa senyawa yang bersifat toksik. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh penggunaan ekstrak ethanol daun *A. indica* sebagai bahan obat herbal terhadap perubahan bobot badan mencit jantan. Ekstraksi daun Nimba dilakukan dengan teknik maserasi menggunakan ethanol 70%. Dua puluh empat mencit Swiss Webster jantan dewasa dengan usia 2.5 bulan digunakan sebagai hewan uji. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dengan empat perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu P0 (akuades), P1, P2, dan P3 berupa ekstrak ethanol daun Mimba dengan dosis 8, 11.2 dan 14 mg/kgBB/hari. Perlakuan diberikan secara oral selama 21 hari. Pengamatan bobot badan dilakukan pada awal perlakuan, dilanjutkan setiap tujuh hari. Konsumsi pakan diukur setiap tiga hari. Konsumsi minum diukur setiap hari. Data dianalisa dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata bobot badan hewan uji pada akhir perlakuan adalah 36.62 ± 3.52 untuk P0, 33.02 ± 1.69 untuk P1, 32.40 ± 2.89 untuk P2 dan 32.93 ± 1.79 untuk P3. Bobot badan hewan uji kelompok kontrol menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.05$) dengan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3. Konsumsi minum hewan uji kelompok kontrol menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.05$) dengan kelompok perlakuan P2 dan P3 tetapi konsumsi pakan menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p > 0.05$). Dapat disimpulkan bahwa paparan ekstrak ethanol daun Nimba menyebabkan penurunan bobot badan hewan uji.

Kata kunci: nimba, bobot badan, mencit

ABSTRACT

The use of Neem as a medicinal plant needs to be studied more thoroughly because it has several compounds that are toxic. The aim of this research was to examine the effect of ethanol extract of *A. indica* as an herbal medicine on male mice body weight changes has been done. Neem leaf extraction was done by a maceration technique using ethanol 70%. Twenty-four of Swiss Webster male mice with 2.5 months in age were used as testing animals. The study was conducted using Completely Randomized Design, with four treatments group and 6 replications in each. The treatments groups were P0 that were treated with tap water; P1, P2, and P3 groups which treated with 8, 11.2 and 14 mg/kgBW/day respectively. Treatment was given orally for 21 days. Body weight observation was done at the beginning of treatment, continued every seven days. Feed consumption was measured every three days. Consumption of drinking water was measured daily. Data were analyzed with ANOVA followed by DMRT test. The results showed that the mean of animal body weight was 36.62 ± 3.52 ; 33.02 ± 1.69 ; 32.40 ± 2.89 ; 32.93 ± 1.79 for P0, P1, P2 and P3 groups respectively. The body weight of control group showed significantly different ($p < 0.05$) compared with all of treated groups. The water consumption of control group showed significant differences ($p < 0.05$) compared to P2 and P3 of treated groups, but there is no significant difference ($p > 0.05$) in feed consumption. It could be concluded that ethanolic Neem leaves extract exposure causes body weight decreases of mice.

Keywords: neem, body weight, mice

PENDAHULUAN

Nimba (*Azadirachta indica*) merupakan tanaman yang telah dikenal sebagai tanaman obat. Sharma (2013) menyatakan bahwa ekstrak tanaman nimba memiliki efek antiinflamasi, antidiabetes serta memiliki kemampuan sebagai antikanker. Ekstrak Nimba juga dapat digunakan sebagai antimalaria, spermisida, antituberkulosis, antipiretik, antivirus, antijamur, serta antiseboroik (Auta dan Hasan, 2016). Tanaman Nimba juga memiliki kemampuan sebagai antifertilitas (Auta and Hasan, 2016) tetapi mekanisme kerja senyawa tersebut belum diketahui dengan pasti (Sharma, 2013). Umadevi (2013) menyatakan bahwa efek antifertilitas ekstrak Nimba bersifat temporer, serta menunjukkan hasil yang sama pada hewan jantan maupun betina (Suryawanshi, 2011). Hasil penelitian Sitasiwi *et al.* (2017a) membuktikan bahwa aksi antifertilitas ekstrak daun Nimba menyebabkan level hormon estradiol 17- β mengalami penurunan yang signifikan pada mencit betina.

Tanaman Nimba tidak hanya mengandung senyawa golongan steroid seperti campesterol, beta-sitosterol, stigmasterol tetapi juga mengandung beberapa senyawa yang bersifat toksik. Beberapa senyawa yang bersifat toksik adalah azadirachtin, nimbin, nimbidin, dan salannin (Suryawanshi, 2011). Pankaj *et al.* (2011) menyatakan bahwa nimbidin merupakan senyawa utama yang terdapat dalam ekstrak tanaman nimba. Senyawa tersebut menunjukkan sifat toksik sampai konsentrasi tertentu. Senyawa lain yang diduga memiliki aktivitas toksik yang tinggi adalah azadirachtin (Pankaj *et al.*, 2011; Hashmat *et al.*, 2012; Koriem, 2013).

Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional umumnya dilakukan dengan alasan khasiat senyawa kimia yang terkandung didalamnya, walaupun dapat menyebabkan efek toksik (Omotayo *et al.*, 2012). Efek toksik suatu obat herbal tradisional yang memiliki aktivitas farmakologi harus diuji sebelum obat herbal tersebut digunakan dalam pelayanan kesehatan. Hal tersebut sesuai dengan Joshi *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa metode baku pengujian suatu senyawa anti-fertilitas terhadap hewan harus

dilakukan dengan tepat karena senyawa yang sama juga berpotensi mengganggu atau mempengaruhi fungsi beberapa organ dalam tubuh yang lain. Pengujian toksisitas tanaman obat tradisional juga dapat memberi keyakinan yang besar sehingga dapat diterima oleh masyarakat luas (Umadevi, 2013).

Sitasiwi dan Isdadiyanto (2017) membuktikan bahwa penggunaan ekstrak ethanol daun Nimba sebagai senyawa antifertilitas sampai dosis 14 mg/kgBB/hari selama 21 hari menyebabkan penurunan kadar Hb dan eritroist mencit jantan yang berbeda bermakna. Hal tersebut membuktikan terdapat efek yang merugikan. Kupradinun *et al.* (2012) menyatakan bahwa efek samping nimba diduga dapat menyebabkan kerusakan struktur hati dan ginjal. Sitasiwi *et al.* (2017b) telah membuktikan bahwa ekstrak ethanol daun Mimba menyebabkan peningkatan bobot hepar dan nilai *Hepatosomatic Index* mencit.

Hepatosomatic Index merupakan nilai yang menggambarkan jumlah senyawa toksik yang masuk serta menggambarkan ketersediaan energi dalam tubuh (Nunes *et al.*, 2011). Colville dan Bassert (2008) menyatakan bahwa hepar merupakan organ yang berfungsi sebagai tempat glukoneogenesis sehingga gangguan hepar akan menyebabkan penurunan ketersediaan energi. Omotayo *et al.* (2012) menyatakan gangguan ketersediaan energi diduga terjadi karena kenaikan enzim ALT, AST, ALP dan GGT yang menandakan kerusakan hepar serta terjadinya hemolisis dan obstruksi pada duktus biliaris. Kedua hal tersebut diduga merupakan faktor yang menyebabkan penurunan bobot badan. Berlatar belakang hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek pajanan ekstrak ethanol daun nimba terhadap perubahan bobot badan mencit jantan. Hasil penelitian ini diharapkan jadi bahan rujukan tentang tingkat keamanan penggunaan ekstrak ethanol daun nimba sebagai senyawa anti-fertilitas terhadap perubahan bobot badan.

METODE PENELITIAN

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan dewasa sebanyak 24 ekor. Usia hewan uji berumur 2.5 bulan, dengan bobot badan berkisar 25-30 g. Aklimasi hewan uji dilakukan selama dua minggu dalam kondisi laboratorium, masing-masing dengan kepadatan 3 ekor per kandang. Hewan uji diberi pakan berupa pellet 594 dan air minum berupa air kran secara *ad libitum*.

Cara Pembuatan ekstrak ethanol daun A. Indica

Pemilihan dan persiapan daun Nimba untuk ekstraksi dilakukan dengan metoda yang dilakukan oleh Sitasiwi *et al.* (2017a). Ekstraksi ethanol 70% dengan metode maserasi dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang. Serbuk hasil akhir ekstraksi ethanol selanjutnya dibuat sediaan bahan perlakuan dengan dosis 8.4, 11.2 dan 14 mg/kgBB/hari.

Cara Perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan (P0, P1, P2 dan P3), masing-masing dengan 6 ulangan. Kelompok P0 adalah hewan uji yang diberi perlakuan akuades, sedangkan P1, P2 dan P3 merupakan hewan uji yang masing-masing diberi ekstrak ethanol daun Nimba dengan dosis 8.4; 11.2; 14 mg/ekor/hari. Perlakuan diberikan setiap pagi hari selama 21 hari.

Bahan uji berupa serbuk ekstrak ethanol daun Nimba pada setiap dosis dilarutkan menggunakan air hangat. Bahan perlakuan diberikan menggunakan jarum gavage, dengan volume 0.3 mL/mencit/hari. Pemberian bahan uji dilakukan setiap pagi hari, pada pukul 09.00-10.00 pagi.

Pengambilan Data

Data penelitian berupa bobot badan hewan uji diukur pada awal perlakuan, selama perlakuan

dengan interval satu minggu, serta pada akhir perlakuan. Data pendukung berupa rata-rata konsumsi pakan dan air minum hewan uji selama perlakuan diukur setiap hari.

Analisis Data

Data berupa bobot badan, konsumsi pakan dan minum dianalisis dengan ANOVA. Hasil ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf signifikansi 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil *Analysis Of Varians* (ANOVA) dan uji lanjut Duncan pada penelitian mengenai efek ekstrak ethanol Daun Nimba terhadap pertambahan berat badan menit ditunjukkan pada Tabel 1. Rerata bobot badan hewan uji menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p > 0.05$) pada awal perlakuan sampai perlakuan hari ke-7 (Minggu I). Hal tersebut menunjukkan bahwa di awal perlakuan bobot hewan uji relatif seragam/homogen. Proses fisiologi hewan uji juga tidak terpengaruh oleh paparan bahan uji sampai perlakuan hari ke-7. Hal tersebut ditunjukkan dengan bobot badan yang tidak berbeda bermakna pada perlakuan hari ke-7 (Minggu II).

Rerata bobot badan hewan uji kelompok kontrol (P0) sampai perlakuan hari ke-14 (Minggu II) menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p > 0.05$) kelompok perlakuan 1 (P1), tetapi menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok perlakuan P2 dan P3. Hal tersebut membuktikan bahwa perlakuan ekstrak ethanol daun Nimba sampai dengan konsentrasi 11.2 mg/ekor/hari diduga sudah menyebabkan gangguan fungsi organ yang menyebabkan bobot badan kelompok perlakuan berbeda bermakna.

Tabel 1 juga menunjukkan rerata bobot badan hewan uji kelompok kontrol (P0) berbeda bermakna ($p < 0.05$) dengan semua hewan uji kelompok perlakuan ekstrak ethanol daun Nimba (P1, P2 dan P3) pada hari perlakuan ke-21 (Minggu III). Bobot badan hewan uji kelompok kontrol menunjukkan bobot badan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bobot hewan uji

kelompok perlakuan. Hal tersebut dapat diartikan bahwa paparan ekstrak ethanol daun Nimba dengan dosis 8.4 mg/ekor/hari memberikan

pengaruh yang signifikan terhadap bobot badan, jika paparan diberikan lebih dari 14 hari.

Tabel 1. Rerata bobot badan (gram) mencit selama perlakuan ekstrak ethanol daun Nimba secara oral selama 21 hari

Kelompok	Awal X ± SD	Minggu I X ± SD	Minggu II X ± SD	Minggu III X ± SD
P0 (0.3 mL akuades/ekor/hari)	26.86 ^a ± 2.12	29.67 ^a ± 2.97	33.96 ^a ± 3.35	36.62 ^a ± 3.52
P1 (8.4 mg/kgBB/hari)	27.23 ^a ± 1.56	29.73 ^a ± 3.56	33.65 ^a ± 3.46	33.02 ^b ± 1.69
P2 (11.2 mg/kgBB/hari)	25.95 ^a ± 2.55	28.78 ^a ± 2.34	30.07 ^b ± 0.74	32.40 ^b ± 2.89
P3 (14 mg/kgBB/hari)	26.93 ^a ± 1.47	29.57 ^a ± 3,21	30.18 ^b ± 0.31	32.93 ^b ± 1.79

Keterangan: Data disajikan berupa rata-rata (X) ± simpangan baku (SD) Rerata yang diikuti superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan uji ANOVA pada taraf kepercayaan 95

Salah satu faktor yang mempengaruhi bobot badan adalah nutrisi yang dikonsumsi hewan uji. Tabel 2 menunjukkan bahwa rerata konsumsi pakan pada kelompok kontrol (P0) yang berbeda tidak bermakna dengan kelompok perlakuan (P1,

P2, dan P3). Konsumsi air minum hewan uji kelompok kontrol menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan hewan uji kelompok P1, tetapi menunjukkan perbedaan bermakna dengan hewan uji kelompok P2 dan P3.

Tabel 2. Rerata konsumsi pakan dan air minum harian mencit jantan selama perlakuan ekstrak ethanol daun Nimba secara oral selama 21 hari

Kelompok	Konsumsi pakan (gram/ekor/hari) X ± SD	Konsumsi air minum (mL/ekor/hari) X ± SD
P0 (0.3 mL akuades/ekor/hari)	5.03 ^a ± 0.62	4.42 ^a ± 0.92
P1 (8.4 mg/kgBB/hari)	4.58 ^a ± 0.13	5.78 ^a ± 0.52
P2 (11.2 mg/kgBB/hari)	4.32 ^a ± 0.36	6.75 ^b ± 0.37
P3 (14 mg/kgBB/hari)	4.16 ^a ± 0.62	7.23 ^b ± 0.13

Keterangan: Data disajikan berupa rata-rata (X) ± simpangan baku (SD) Rerata yang diikuti superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan uji ANOVA pada taraf kepercayaan 95%

Hasil penelitian yang menunjukkan penurunan bobot badan sesuai dengan penelitian Ghimeray *et al.* (2008). Penelitian ini menggunakan ethanol sebagai bahan ekstraksi daun Nimba. Ethanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan zat yang memiliki polaritas rendah sampai tinggi (Samsudin, 2011). Ekstraksi ethanol bagian tanaman Nimba dapat menyebabkan beberapa senyawa aktif dapat terisolasi. Senyawa tersebut diantaranya azadirachtin, nimbin, nimbidin. Nimbin

merupakan senyawa yang berperan sebagai spermisidal (Pankaj *et al.*, 2011).

Azadirachtin merupakan senyawa yang bersifat sitotoksik (Kupradinun *et al.*, 2012; Auta and Hassan, 2016) sehingga diduga menyebabkan gangguan fungsi dan struktur organ, termasuk hepar dan ginjal (Kupradinun *et al.*, 2012). Efek sitotoksik tersebut menyebabkan hepar hewan uji pada kelompok perlakuan mengalami penurunan kemampuan dalam mengkonversi nutrisi menjadi sumber energi dalam tubuh (Auta and Hassan, 2016). Hal tersebut menyebabkan perbedaan

bermakna bobot badan hewan uji kelompok kontrol jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan, walaupun konsumsi pakan tidak menunjukkan perberbedaan bermakna. Biswas *et al.* (2002) menyatakan bahwa azadirachtin memiliki efek *anti-feedant* yang dapat diartikan menekan keinginan makan. Hal tersebut yang diduga menyebabkan penurunan konsumsi pakan pada hewan uji kelompok perlakuan, walaupun tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol.

Nimbidin, bahan aktif yang dapat terisolasi dengan ekstraksi ethanol, berfungsi sebagai *hypoglycaemic agent* (Pankaj *et al.*, 2011; Asif, 2013) sehingga diduga menyebabkan penurunan ketersediaan energi untuk metabolisme hewan uji. Colville and Bassert (2008) menyatakan bahwa penurunan ketersediaan energi dalam tubuh akan menyebabkan penurunan bobot badan karena hewan tidak dapat mensintesis komponen penyusun tubuh dengan sempurna. Nimbidin juga memiliki efek diuretik (Biswas *et al.*, 2002). Hal tersebut diduga menjadi penyebab hewan uji kelompok perlakuan mengkonsumsi lebih banyak air minum, jika dibandingkan hewan uji kelompok kontrol (Tabel 2.)

Penelitian menggunakan bahan uji dalam penelitian ini berkisar dari 8.4 mg/ekor/hari sampai 14 mg/ekor/hari. Kupradinun *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa toksisitas nimba pada tikus diperkirakan 0,25 g/kgBB. Dosis yang diberikan dalam penelitian ini masih di bawah dosis toksik Nimba untuk tikus, tetapi sudah menyebabkan penurunan bobot badan. Koriem (2013) menyatakan bahwa efek paparan senyawa toksik dipengaruhi oleh beberapa hal, diantaranya adalah strain hewan uji. Penelitian ini menggunakan *Mus musculus L.* strain Swiss Webster yang diduga bersifat lebih sensitif terhadap bahan uji yang diberikan sehingga menyebabkan penurunan bobot badan hewan uji di kelompok perlakuan. Bansal *et al.* (2010) menyatakan bahwa faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah lama paparan bahan uji. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan bahan uji selama 2 minggu belum mempengaruhi bobot badan, tetapi paparan bahan uji melebihi hari tersebut sudah mampu mempengaruhi bobot badan. Hal tersebut diduga karena selama dua minggu hewan uji masih

memiliki ketersediaan energi yang cukup dalam tubuh sehingga tidak mempengaruhi bobot badan. Paparan bahan uji setelah dua minggu diduga menyebabkan ketidakseimbangan antara laju biosintesa dengan degradasi makromolekul dalam tubuh sehingga menyebabkan penurunan bobot hewan uji yang signifikan.

Paparan ekstrak ethanol daun nimba juga diduga mengganggu biosintesa HDL dan trigliserida pada hewan uji. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Kupradinun *et al.* (2012) dan Koriem *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa ekstrak Nimba menyebabkan HDL serum dan triasilgliserol menurun secara signifikan. Triasilgliserol adalah komponen utama deposit lemak pada sel yang juga disintesa dalam hepar (Colville and Bassert, 2008). Penurunan biosintesa HDL dan triasilgliserol menyebabkan penurunan ketersediaan energi hewan uji kelompok perlakuan. Hal tersebut menyebabkan komponen energi yang berasal dari pakan dikonsumsi hanya digunakan untuk mencukupi kebutuhan energi pada hewan uji kelompok perlakuan, tidak digunakan untuk biosintesa makromolekul yang mempengaruhi bobot badan. Gangguan biosintesis HDL dan triasilgliserol akibat paparan ekstrak ethanol daun nimba pada hewan uji kelompok perlakuan pada akhirnya menyebabkan perbedaan bobot badan yang signifikan antara hewan uji kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

Berdasar hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak ethanol daun Nimba dengan dosis sampai 14 mg/kgBB/hari menyebabkan penurunan bobot badan mencit (*Mus musculus L.*).

DAFTAR PUSTAKA

- Asif, M., 2013. A review on Spermicidal activities of *Azadirachta indica*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(5): 61-80.
- Auta, T. dan A.T. Hasan, 2016. Reproductive toxicity of aqueous wood-ash extract of *Azadirachta indica* (neem) on male albino

- mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction* x(x):1- 5.
- Bansal, P., R. Bansal, V. Gupta, 2010. Antifertility effects of *Azadirachta indica* (Neem) - A Review. *Annals of Biological Research*. 1(2): 108-113.
- Biswas, K., I. Chattopadhyay, R.K. Banerjee, and U. Bandyopadhyay, 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*. Vol. 82 (11): 1336-1435.
- Colville, T. and J.M. Bassert, 2008. Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians. 2nd Edition. Mosby Elsevier. United Kingdom.
- Ghimeray, A.K., C.Jin, B.K. Ghimire, D.H. Cho, 2009. Antioxidant activity and quantitative estimation of azadirachtin and nimbin in *Azadirachta Indica* A. Juss grown in foothills of Nepal. *Afri J Biol*. 8: 3084-3091.
- Hashmat, I., H. Azad and A. Ahmed, 2012. Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) - A Nature's Drugstore: An overview. *International Research Journal of Biological Sciences*. Vol. 1(6): 76-79.
- Joshi, M., K. Gaonkar, S. Mangoankar, S. Satarkar, 2011. Pharmacological investigation of Areca catechu extracts for evaluation of learning, memory and behavior in rats. *International Current Pharmaceutical Journal*. 1(6): 128-132.
- Koriem, K.M.M., 2013. Review on pharmacological and toxicological effects of oleum azadirachti oil. *Asian Pac J Trop Biomed*. 3(10): 834-840.
- Kupradinun, P., A. Tepsuwan, N. Tanthasri, N. Meesiripan, S. Tunsakul, W. Tompat, Y. Jarratwisautpom, W.R. Kusamran, 2012. Toxicity Testing of Flowers of Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss). *Thai J. Vet. Med*. 40(1): 47-55.
- Nunes, C., A. Silva, and E. Soares, 2011. The Use of Hepatic and Somatic Indices and Histological Information to Characterize the Reproductive Dynamics of Atlantic Sardine *Sardina pilchardus* from the Portuguese Coast Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science. 3:127–144.
- Omotayo, A., T. Ashafa, L. O. Orekayo, M. T. Yakubu, 2012. Toxicity profile of ethanolic extract of *Azadirachta indica* stem bark in male Wistar rats. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2(10): 811-817.
- Pankaj, S., T. Lokeswar, B. Mukesh, and B. Vishnu, 2011. Review on Neem (*Azadirachta indica*): A thousand problem one solution. *International Research Journal of Pharmacy*. 2(12): 97-102.
- Samsudin, 2011, *Biosintesa Dan Cara Kerja Azadirachtin Sebagai Bahan Aktif Insektisida Nabati*, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri, Sukabumi.
- Sharma, R.K., A.K. Goyal, R.A. Bhat, 2013. Antifertility of Plants Extracts on Female Reproduction: A Review. *IJBS*. 3(3): 493-514.
- Sitasiwi, A.J., S. Isdadiyanto, S.M. Mardiaty, 2017a. The Estradiol 17- β Concentration in Mice after Treated with Ethanolic Leaf Extract of *Azadirachta indica* (Neem). *Proceeding of International Conference on Global Resource and Conservation*.
- Sitasiwi, A.J., and S. Isdadiyanto, 2017b. Kadar Hemoglobin dan Jumlah Eritrosit Mencit (*Mus musculus*) Jantan setelah perlakuan dengan ekstrak etanol daun Nimba (*Azadirachta indica*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 2(2): 161-167
- Sitasiwi, A.J., S. Isdadiyanto, S.M. Mardiaty, 2017. Effect of ethanolic Neem leaf extract as an herb contraceptive on Hepato-somatic Index of the male mice (*Mus musculus*). *Abstract of International Seminar on New Paradigm and Inovation on Natural Science and Its Application. Science and Mathematics Faculty. Diponegoro University*.
- Suryawanshi, J. A. S., 2011. Neem-natural contraceptive for male and female—an overview. *IJBB*. 1(2): 1-6.

*Bobot Badan Mencit (Mus musculus L.) setelah Pemberian Ekstrak Ethanol Daun Nimba
(Azadirachta indica) Secara Oral Selama 21 Hari*

Umadevi, K., P.K. Sampath Khumar, D. Bhowmik,
S. Duraivel, 2013. Medicinal Plants with
Potential Antifertility Activities. *Journal of
Medicinal Plants Studies*. 1(1): 26-33.