

## INHIBIN B: KANDIDAT KONTRASEPSI PRIA BERBASIS HORMON PEPTIDA

### *Inhibin B: The Candidate of Male Hormonal Contraception*

Muslim Akmal<sup>1</sup>, Aulanni'am<sup>2</sup>, Muhammad Aris Widodo<sup>3</sup>, Sutiman B. Sumitro<sup>4</sup> dan Basuki B. Purnomo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Embriologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Malang

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

<sup>4</sup>Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang

E-mail: muslim\_akmal70@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek injeksi inhibin B sebagai kandidat kontrasepsi pria berbasis hormon peptida terhadap berat badan, berat dan panjang testis, dan duktus epididimis. Sebanyak 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 4 bulan dengan berat badan 150-200 g dikelompokkan secara acak ke dalam 4 kelompok, yaitu kontrol (KO), KI, KII, dan KIII. Kelompok kontrol, tikus hanya diinjeksi dengan 0,1 ml PBS tanpa inhibin B; Kelompok KI, KII, dan KIII tikus diinjeksi dengan 25, 50, dan 100 pg inhibin B/ekor. Injeksi dilakukan secara intra peritoneal sebanyak 5 kali dengan selang waktu 12 hari selama 48 hari. Injeksi pertama, isolat inhibin B dilarutkan dalam PBS sebanyak 0,05 ml dan diemulsikan dengan 0,05 ml *Freud's complete adjuvant* (FCA). Pada injeksi kedua, ketiga, keempat, dan kelima menggunakan inhibin B dalam PBS 0,05 ml dan diemulsikan dengan 0,05 ml *Freud's incomplete adjuvant* (FICA). Pada hari keenam setelah injeksi terakhir, tikus dikorbankan secara *dislocatio cervicalis* setelah terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat badan. Berat testis dan duktus epididimis ditimbang dengan menggunakan timbangan elektrik, sedangkan diameter dan panjang testis dan duktus epididimis diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) antara kelompok kontrol dan perlakuan terhadap berat badan, berat, panjang, dan diameter testis dan duktus epididimis. Penelitian ini menyimpulkan bahwa inhibin B berpotensi dikembangkan sebagai kandidat kontrasepsi pria berbasis hormon peptida yang aman dan *reversible*.

Kata kunci: inhibin B, spermatogenesis, kualitas spermatozoa, kontrasepsi

### ABSTRACT

*Inhibin B is a dimeric gonadal peptide hormone that negatively regulate the secretion of follicle-stimulating hormone (FSH) from the anterior pituitary through a negative feedback mechanism. Feedback regulation of FSH is the best for male contraceptive development. Some evidence reported that the use of steroid hormone based as male contraception caused weight gain and testicular volume reduction. This study aims to find out the effect of inhibin B injection, which consist of peptide hormone based as male contraception on body weight, weight and length of the testes and epididymis duct. Thirty six of 4 months male rats were randomly divided into four treatment groups, each comprising of 6 rats. Group KO was control group, while group KI, KII, KIII were treatment groups which injected intraperitoneally with inhibin B at various doses of 25, 50, 100 pg/rat, respectively. Rats were injected 5 times with the interval of 12 days for 48 days. In the first injection, inhibin B mixed with 0.05 ml Phosphate Buffer Saline (PBS) and emulsified with 0.05 Complete Freund's Adjuvant (CFA), while the control group were only injected with 0.1 PBS without inhibin B (0 pg). The second to 5<sup>th</sup> injection were done with inhibin B in 0.05 ml PBS and emulsified with 0.05 Incomplete Freund's Adjuvant (IFA). Six days after last injection, all rats were weighed and dissected then followed by testis and epididymis duct collection. The weight of testes and epididymis duct measured by electric scale, while the diameter and length of the testes and epididymis duct were measured by shove. The result of this research showed that there were no significant differences ( $P>0.05$ ) between control and treatment groups of body weight, length, and diameter of the testes and epididymis duct. This study concluded that inhibin B has potency to be developed as a male contraception peptide hormone based, which is safe and reversible.*

Keywords: inhibin B, spermatogenesis, quality of sperm, contraception

### PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk dunia setiap tahun mengalami peningkatan yang sangat pesat dan fantastis. Pada tahun 1960, penduduk dunia berjumlah 3 milyar dan pada tahun 2000 telah meningkat secara drastis menjadi 6 milyar

jiwa (Crosignani, 2002). Pada Tahun 2006 jumlah penduduk dunia telah mencapai 6,5 milyar jiwa. Diperkirakan pada akhir tahun 2050, jumlah penduduk dunia mencapai 9,5 miliar jiwa (UNPD, 2000), sedangkan jumlah penduduk Indonesia pada tahun 2025 diperkirakan mencapai 273,65 juta (Fauzi *et al.*, 2005).

Lonjakan jumlah penduduk menyebabkan terjadinya sejumlah dampak yang kurang menguntungkan, seperti kerusakan lingkungan, pemanasan global, kelaparan, dan perkembangan penyakit (Page *et al.*, 2008). Untuk mencegah terjadinya "baby booming" di dunia maupun di Indonesia diperlukan upaya yang sistematis, terarah, dan terukur, yaitu dengan menggalakkan penggunaan kontrasepsi melalui program Keluarga Berencana (KB). Akan tetapi, program KB yang dilaksanakan belum dapat berjalan secara optimal akibat rendahnya partisipasi pria. Hal tersebut disebabkan oleh belum tersedianya sarana KB yang aman dan nyaman bagi pria.

Sistem reproduksi pria merupakan target yang potensial untuk pengembangan obat kontrasepsi baru (Anderson dan Baird, 2002). Salah satu metode kontrasepsi pada pria yang sedang giat dikembangkan oleh *World Health Organization* (WHO) dewasa ini adalah metode kontrasepsi hormonal pria (*Male Hormonal Contraception* = MHC). *Male Hormonal Contraception* merupakan kontrasepsi yang aman, mudah digunakan, dipercaya, dan bersifat *reversible* (Amory dan Bremner, 2005; Gu *et al.*, 2009) dan sangat efektif menekan produksi spermatozoa (Liu *et al.*, 2008). Selain itu, MHC dewasa ini telah menjadi suatu *exclusive goal* (Grimes *et al.*, 2006).

Pengembangan metode baru kontrasepsi yang efektif bagi pria menjadi prioritas utama organisasi kesehatan dunia. Hal tersebut dilatarbelakangi karena metode kontrasepsi seperti kondom, senggama terputus, dan vasektomi belum sepenuhnya akseptabel oleh banyak pasangan di dunia karena metodenya yang masih dianggap tidak *reversible*, sedangkan pemakaian MHC diyakini dan terbukti bersifat *reversible* (WHO, 1998). Bukti menunjukkan bahwa preparat hormonal mampu menekan produksi gamet pada pria sebagaimana halnya pada wanita (Kamischke dan Nieschlag, 2004).

Metode pendekatan MHC adalah metode pendekatan kontrasepsi berbasis induksi gangguan spermatogenesis. Spermatogenesis dikendalikan oleh sekresi gonadotropin, yaitu sekresi *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan produksi testosteron oleh *Luteinizing Hormone* (LH). Pengetahuan yang mendalam tentang mekanisme regulasi spermatogenesis oleh FSH dan LH menjadi topik penelitian yang menarik dalam bidang endokrinologi reproduksi pria, infertilitas, dan pengembangan kontrasepsi pria (Krishnamurthy *et al.*, 2000).

Sejumlah preparat hormonal kontrasepsi pria berbasis steroid, seperti testosteron, *testosteron enanthate*, *testosteron undecanoate*, dan lain-lain telah dikembangkan di sejumlah negara dan relatif dapat menekan produksi spermatozoa pada sejumlah relawan. Akan tetapi, fakta menunjukkan bahwa pemberian preparat berbasis steroid ternyata dapat menginduksi terjadinya obesitas dan reduksi volume testikular sebesar 25% (Bagatell *et al.*, 1994; Meriggiola *et al.*, 1995). Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian untuk mencari kandidat baru kontrasepsi pria berbasis non-steroid yang dapat digunakan oleh pria secara aman dan efektif.

Inhibin B merupakan hormon peptida gonadal dimerik yang secara selektif berpotensi menghambat sekresi FSH melalui mekanisme umpan balik negatif (Chada *et al.*, 2003). Inhibin B diproduksi oleh sel Sertoli (Luisi *et al.*, 2005; Winters *et al.*, 2006) dan merupakan bentuk utama inhibin pada pria dewasa (Mc Neilly *et al.*, 2002). Sekresi inhibin B oleh sel Sertoli dirangsang oleh FSH (Plant *et al.*, 2001; Crofton *et al.*, 2002), sebaliknya sekresi dan produksi FSH oleh kelenjar pituitari diregulasi oleh inhibin B (Boepple *et al.*, 2008). Studi tentang regulasi hormonal pada spermatogenesis sangat perlu dilakukan dalam upaya pengembangan kontrasepsi yang aman dan *reversible* pada pria (Cui *et al.*, 2006).

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek injeksi inhibin B terhadap berat badan, morfologi testis, dan cauda duktus epididimis tikus. Penelitian ini dapat dijadikan kajian awal terhadap upaya pengembangan inhibin B sebagai kandidat kontrasepsi pria berbasis hormon peptida untuk masa depan dengan menggunakan tikus putih jantan sebagai hewan coba.

## MATERI DAN METODE

Isolat inhibin B 32 kDa yang digunakan pada penelitian ini berasal dari hasil isolasi kultur sel Sertoli *Rattus norvegicus* umur 21 hari yang dikultur dengan menggunakan medium *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) dan *Fetal Calf Serum* (FCS) 10%. Konfirmasi isolat inhibin B dilakukan dengan menggunakan metode *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS PAGE), *Dot Blot*, *Western Blot*, dan elektroelusi. Perhitungan konsentrasi isolat inhibin B dengan metode *Indirect Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay* (ELISA) didapatkan konsentrasi inhibin B sebesar 1803,33 pg/ $\mu$ l. Konsentrasi inhibin B yang diperoleh ini selanjutnya dijadikan dasar untuk aplikasi

potensi inhibin B sebagai kandidat kontrasepsi pria berbasis hormon peptida dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba.

Pada penelitian ini digunakan 24 ekor tikus jantan umur 4 bulan dengan berat badan 150-200 gram dan dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola satu arah. Seluruh tikus dikelompokkan secara acak ke dalam 4 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok I (kontrol), II, III, dan IV masing-masing diinjeksi dengan inhibin B dengan dosis berturut-turut 0, 25, 50, dan 100 pg/ekor. Injeksi dilakukan secara intra peritoneal sebanyak 5 kali dengan selang waktu 12 hari selama 48 hari, yaitu berdasarkan masa satu siklus tubulus seminiferus, yaitu 12 hari dan satu masa spermatogenesis tikus, yaitu 48 hari (Johnson dan Everitt, 2000). Pada injeksi pertama, isolat inhibin B dilarutkan dalam PBS sebanyak 0,05 ml dan diemulsikan dengan 0,05 ml *Complete Freud's Adjuvant* (FCA). Pada kontrol, tikus diinjeksi dengan 0,1 ml PBS tanpa inhibin B (0 pg). Pada injeksi kedua, ketiga, keempat, dan kelima menggunakan inhibin B dalam PBS 0,05 ml dan diemulsikan dengan 0,05 ml *Incomplete Freud's Adjuvant* (IFA) (Wahyuningsih *et al.*, 2004). Pada hari keenam setelah injeksi terakhir, tikus dikorbankan secara *dislocatio cervicalis* setelah terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat badan. Testis dan duktus epididimis dipreparasi, kemudian ditimbang dengan menggunakan timbangan elektrik (Toledo, Japan), sedangkan panjang dan diameter testis diukur dengan menggunakan jangka sorong (Mitutoyo, Japan). Data pengukuran berat badan, panjang, serta diameter testis dan duktus epididimis dianalisis dengan uji ANOVA dan bila data signifikan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan menggunakan bantuan program *software* SPSS 13.0 for windows.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengukuran terhadap berat badan tikus, berat testis, diameter testis, panjang testis, berat duktus epididimis, panjang duktus epididimis, setelah injeksi inhibin B disajikan pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa injeksi inhibin B memperlihatkan adanya kecenderungan peningkatan berat badan hewan coba, namun hasil uji ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $P > 0,05$ ). Tabel 1 juga menunjukkan bahwa injeksi inhibin B menyebabkan adanya kecenderungan penurunan berat, diameter, dan panjang testis, namun hasil uji ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $P > 0,05$ ). Selain itu, pada Tabel 1 terlihat bahwa injeksi inhibin B memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan diameter dan panjang duktus epididimis, namun hasil uji ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan ( $P > 0,05$ ).

Secara keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil uji statistik tidak menunjukkan adanya pengaruh yang nyata injeksi inhibin B terhadap berat badan dan morfologi testis dan duktus epididimis. Hasil penelitian ini memberikan hasil yang berbeda dengan hasil penelitian terdahulu yang menggunakan kontrasepsi pria hormon berbasis steroid. Hasil penelitian Bagatell *et al.* (1994) dan Merigiola *et al.* (1995) menunjukkan bahwa pemberian preparat *testosteron enanthate* sebagai kontrasepsi pria berbasis steroid ternyata menyebabkan terjadinya penambahan berat badan (obesitas) dan reduksi volume testikular hingga mencapai 25%. Selain itu, penggunaan preparat

**Tabel 1.** Berat badan, berat testis, diameter testis, panjang testis, berat duktus epididimis panjang duktus epididimis tikus setelah injeksi dengan inhibin B

Kelompok Injeksi Inhibin B	Berat Badan (g) (X±SD)	Berat Testis (g) (X±SD)	Diameter Testis (mm) (X±SD)	Panjang Testis (mm) (X±SD)	Berat Duktus Epididimis (g) (X±SD)	Panjang Duktus Epididimis (mm) (X±SD)
KO (0 pg/ekor)	251,3±17,64 <sup>a</sup>	1,38±0,17 <sup>a</sup>	11,19±0,64 <sup>a</sup>	20,61±0,26 <sup>a</sup>	0,55±0,05 <sup>a</sup>	47,66±0,42 <sup>a</sup>
KI (25 pg/ekor)	260,8±18,56 <sup>a</sup>	1,32±0,14 <sup>a</sup>	11,05±0,29 <sup>a</sup>	20,52±1,22 <sup>a</sup>	0,54±0,05 <sup>a</sup>	46,31±2,30 <sup>a</sup>
KII (50 pg/ekor)	264,5±15,26 <sup>a</sup>	1,26±0,12 <sup>a</sup>	10,85±0,51 <sup>a</sup>	20,40±0,84 <sup>a</sup>	0,52±0,11 <sup>a</sup>	46,46±2,62 <sup>a</sup>
KIII (100 pg/ekor)	264,83±10,31 <sup>a</sup>	1,23±0,15 <sup>a</sup>	10,49±0,42 <sup>a</sup>	19,89±1,12 <sup>a</sup>	0,47±0,05 <sup>a</sup>	46,53±0,90 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P > 0,05$ )

kombinasi testosteron dan progestogen ternyata menyebabkan terjadinya peningkatan berat badan dan penekanan jumlah serum HDL kolesterol (Amory *et al.*, 2005). Kenyataan tersebut menunjukkan bahwa penggunaan inhibin B sebagai kandidat kontrasepsi pria berbasis hormon peptida terbukti aman bila dibandingkan preparat berbasis hormon steroid karena penggunaan inhibin B terbukti tidak mempengaruhi berat badan dan morfologi reproduksi pria (morfologi testis dan duktus epididimis) tetapi hanya mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dapat menyebabkan terjadinya infertilitas pada pria (data tidak ditampilkan).

Penelusuran sejumlah literatur menunjukkan bahwa masih sangat terbatas penelitian yang mencoba mengeksplorasi potensi inhibin B sebagai kandidat kontrasepsi berbasis hormon peptida. Hasil penelitian van Dissel-Emiliani *et al.* (1989) menunjukkan bahwa injeksi intraperitoneal cairan folikel sapi yang mengandung inhibin (inhibin total) selama 2 hari pada mencit, mengakibatkan terjadinya penurunan 91% spermatogonia A-4, 74% spermatogonia intermediate dan 67% spermatogonia B bila dibandingkan dengan kontrol. Selain itu, dilaporkan juga bahwa konsentrasi FSH menjadi 6% lebih rendah dari kontrol. Pada hamster, injeksi intratestikular cairan folikel sapi selama 4 hari menunjukkan terjadinya penurunan sejumlah spermatogonia A3, spermatogonia *intermediate*, spermatogonia B1 dan B2 mengalami penurunan masing-masing sebesar 86; 61; 55; dan 94% bila dibandingkan dengan kontrol. Selain itu, injeksi ekstrak inhibin yang berasal dari preparasi sel Sertoli selama 4 hari menyebabkan penurunan signifikan jumlah spermatogonia A3, spermatogonia *intermediate*, spermatogonia B, dan spermatogonia B2 masing-masing sebesar 90; 87; 66; dan 93%. Selanjutnya injeksi ekstrak inhibin asal preparasi sel Sertoli dosis tinggi selama 4 hari menyebabkan terjadinya penurunan signifikan jumlah spermatogonia *intermediate* sebanyak 87% dan spermatogonia B1 91% dibandingkan dengan kontrol.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa injeksi inhibin B tidak mempengaruhi secara nyata berat badan, morfologi testis, dan duktus epididimis tikus hewan sehingga inhibin B berpotensi dikembangkan sebagai kontrasepsi pria berbasis hormon peptida yang aman dan *reversible* di masa depan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini melalui Penelitian Hibah Doktor Tahun Anggaran 2009.

### DAFTAR PUSTAKA

- Amory, J.K. and W.J. Bremner. 2005. Oral testosterone in oil plus dutasteride: a pharmacokinetic study in men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 90:2610-2617.
- Anderson, R.A. and D.T. Baird. 2002. Male Contraception. **Endocrine Reviews.** 23(6):735-762.
- Bagatell, C.J., J.R. Heiman, A.M. Matsumoto, J.E. Rivier, and W.J. Bremner. 1994. Metabolic and behavioral effects of high-dose, exogenous testosterone in healthy men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 79:561-567.
- Boepple, P.A., F.J. Hayes, A.A. Dywer, T. Raivio, H. Lee, W.F. Crowley Jr, and N. Pitteloud. 2008. Relative roles of inhibin B and sex steroid in the negative feedback regulation of follicle-stimulating hormone in men across the full spectrum of seminiferous epithelium function. **J. Clin. Endocrin. Metab.** Doi:10.1210/jc.2007-2450:1-14.
- Chada, M., R. Prusa, J. Bronsky, K. Kotaska, K.K. Sidlova, M. Pechova, and L. Lisa. 2003. Inhibin B, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone during childhood and puberty in males: changes in serum concentration in relation to age and stage of puberty. **Physiol. Res.** 52:45-51.
- Crofton, P.M., A.E.M. Evans, N.P. Groome, M.R.H. Taylor, C.V. Holland, and C.J.H. Kelnar. 2002. Inhibin B in boys from birth to adulthood: relationship with age, pubertal stage, FSH and testosterone. **Clin. Endocrinol.** 56:215-221.
- Crosignani, P.G. 2002. Hormonal contraception: what is new?. **Human Reproduction Update.** 8(4):359-371.
- Cui, Y., Z. Chen, and J. Sha. 2006. Effects of reproductive hormones on spermatogenesis. **ZhongHua Nan Ke Xue.** 10(5):465-467.
- Fauzi, A., M. Lucianawaty, L. Hanifah, dan N. Bernadette. 2005. Penduduk Indonesia 2025 Akan Capai 273,65 Juta Jiwa. <http://situs.kesrepro.info/info/agu/2005/info02.htm>.

- Grimes, D.A., L.M. Lopez, M.F. Gallo, V. Halpern, K. Nanda, and K.F. Schulz. 2006. **Steroid hormones for contraception in men**. The Cochrane Library, Philadelphia.
- Gu, Y., X. Liang, W. Wu, M. Liu, S. Song, L. Cheng, L.Bo, C. Xiong, X. Wang, X. Liu, L. Peng, and K. Yao. 2009. Multicenter contraceptive efficacy trial of injectable testosterone undecanoate in Chinese men. **J. Clin. Endocrin. Metab.** First published ahead of print March 17, 2009 as doi:10.1210/jc.2008-1846.
- Johnson, M.H. and B.J. Everitt. 2000. **Essential Reproduction**. 5<sup>th</sup> ed. Blackwell Science Ltd.
- Kamischke, A. and P. Nieschlag. 2004. Progress towards hormonal male contraception. **Trends Pharmacol. Sci.** 25:49-57.
- Krishnamurthy, H., N. Danilovich, C.R. Morales, and M.R. Sairam. 2000. Qualitative and quantitative decline in spermatogenesis of the follicle stimulating hormone receptor knockout (FORKO) mouse. **Biology of Reproduction**. 62:1146–1159.
- Liu, P.Y., R.S. Swedloff, B.D. Anawalt, R.A. Anderson, W.J. Bremner, J. Elliesen, Yi-Qun Gu, W.M. Kersemaekers, R.I. McLachlan, M.C. Meriggiola, E. Nieschlag, R. Sitruk-Ware, K. Vogelsong, Xing-Hai Wang, F.C.W. Wu, M. Zitzmann, D.J. Handelsman, and C. Wang. 2008. Determinants of the rate and extent of spermatogenic suppression during hormonal male contraception: an integrated analysis. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 93(5):1774-1783.
- Luisi, S., P. Florio, F.M. Reis, and F. Petraglia. 2005. Inhibins in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis, conception, implantation and early pregnancy. **Human Reproduction Update**. 11(2):123-135.
- McNeilly, A.S., C.J. Souja, D.T. Baird, I.A. Swanston, J. McVerry, J. Cranfield, and G.A. Lincoln. 2002. Production of inhibin A not B in rams: changes in plasma inhibin a during testis growth, and expression of inhibin/activin sub unit mRNA and protein in adult testis. **J. Reproduction**. 123:827-835.
- Meriggiola, M.C., S. Marcovina, C.A. Paulsen, and W.J. Bremner. 1995. Testosterone enanthate at the dose 200 mg/week decreases hdl-cholesterol levels in healthy men. **Int. J. Androl.** 18:237-242.
- Page, S.T., J.K. Amory, and W.J. Bremner. 2008. Advances in male contraception. **Endocrine Reviews**. 29(4):465-493.
- Plant, T., S. Ramaswamy, and M. Gary. 2001. Regulation of primate spermatogenesis by the FSH-inhibin Feedback loop. **Mini symposium XIV**:73-79.
- UNDP. 2000. **World Population Prospects: The 2000 Revision**. New York, United Nations.
- Wahyuningsih, S.P.J., L. Suhargo, dan Kushendarsasi. 2004. Efek ekstrak testis terhadap jumlah implantasi dan jumlah anak pada mencit (*Mus musculus*). **Ber. Penel. Hayati**. 10:67-76.
- Winters, S.J., C. Wang, E. Abdelrahman, V. Hadeed, M. A. Dyky, and A. Brufsky. 2006. Inhibin B levels in healthy young adult men and prepubertal boys: is obesity the cause for the contemporary decline in sperm count because of fever sertoli cells?. **Journal of Andrology**. 27(4):560-564.
- WHO. 1998. Task force on post-ovulatory methods for fertility regulation. Randomised and controlled trial of levonorgestrel versus the Yuzpe regimen of combined oral contraceptives for emergency contraception. **Lancet**. 352:428-433.