

**EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (*Carica papaya linn*)
TERHADAP KADAR 17-β ESTRADIOL DAN FOLIKULOGENESIS
PADA MENCIT BETINA (*Mus musculus*)**

Yenny Puspitasari

Indonesia is a developing country with population density problem occupies the fourth rank of the world. One effort made to suppress the population growth is through family planning. One of the efforts to succeed family planning is the development of raw materials from papaya for antifertility natural ingredients. The purpose of this research was to study the effects of ethanol papaya extract seeds on antifertility in female mice. The benefits of this research was to provide information about the use of ethanol papaya extract seeds as antifertility in animals and make ethanol extract of papaya seeds as an alternative contraceptive drug. This study used post-test only control group design. Samples were taken in random. The independent variable was ethanol papaya extract seeds in various doses. The dependent variables were folliculogenetic examination and the examination of 17-β estradiol levels. Data analysis to determine the different mean number of follicles and the levels of blood 17-β estradiol were performed with one-way ANOVA test. Ethanol extract of papaya seeds in dose of 30 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg lowered the number of tertiary and de Graaf follicles, while primary and secondary follicles did not decrease. The number of primary follicles are significantly different ($p < 0,05$). 17-β estradiol in the dose group was decreasing along the increase of the doses. Levels of 17-β estradiol in blood showed significant differences ($p < 0.05$). The correlation between the number of primary, secondary, tertiary, and de Graaf follicles with 17-β estradiol levels were not statistically significant ($p > 0.05$) for the P1, P2, P3, P4, P5. Ethanol extract of papaya seeds is proved to decrease the number of tertiary and de Graaf follicles in the ovary and decrease the levels of 17-β estradiol in blood, causing infertility in women.

Keywords: *ethanol extract of papaya seeds, folliculogenesis, levels of 17-β estradiol*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara dengan jumlah penduduk terbanyak ke-empat di dunia setelah RRC, India dan Amerika Serikat : yaitu sekitar 238 juta jiwa ditahun 2010 dengan laju pertumbuhan penduduk 1,3%, dan jumlah penduduk terbanyak terdapat di Pulau Jawa sebesar 58% dengan kepadatan penduduk 124 orang/km² terutama di wilayah DKI Jakarta dengan nilai kepadatan penduduk hampir 14.440 orang/km². Indonesia juga merupakan salah satu Negara berkembang dengan berbagai jenis masalah. Masalah utama yang dihadapi di Indonesia adalah dibidang kependudukan yang

terus meningkat pertumbuhan penduduknya. Keadaan penduduk yang demikian telah mempersulit usaha peningkatan dan pemerataan kesejahteraan rakyat. Semakin tinggi pertumbuhan penduduk semakin besar usaha yang dilakukan oleh pemerintah untuk mensejahterakan rakyat. Oleh karena itu pemerintah terus berupaya untuk menekan laju pertumbuhan dengan Keluarga Berencana (KB). Untuk mencapai sasaran dan tujuan dari kebijakan dalam sektor kependudukan telah dirumuskan berbagai kebijaksanaan, antara lain meliputi peningkatan kualitas penduduk, pengendalian pertumbuhan, dan kualitas penduduk dalam rangka

menekan dan mengendalikan pertumbuhan penduduk (BPS dan BKKBN,2011).

Salah satu usaha yang dilakukan untuk menekan pertumbuhan penduduk adalah melalui program Keluarga Berencana. Program Keluarga Berencana yang ditawarkan saat ini adalah alat kontrasepsi wanita, yaitu tablet, AKDR (Alat Kontrasepsi Dalam Rahim), foam tablet (*vaginal tablet*) dan sebagainya (Meles dan Sastrowardoyo, 2001). Salah satu jenis alat kontrasepsi yang banyak digunakan adalah kontrasepsi oral yaitu dengan mengkonsumsi obat atau pil. Namun kandungan kimia yang terdapat didalam pil dapat menyebabkan efek samping pada pengguna obat tersebut.

Sebagai upaya untuk mensukseskan program KB berbagai cara kontrasepsi telah diterapkan, salah satunya dengan memperbaiki bahan baku obat antifertilitas yang mempunyai efek samping seminimal mungkin dan memberi khasiat maksimum, diantaranya obat antifertilitas yang berasal dari tanaman, mengingat Indonesia kaya akan berbagai macam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat antifertilitas. Selama ini bahan baku masih diimpor dari luar negeri, dengan demikian swasembada dalam penyediaan bahan baku obat antifertilitas mempunyai arti yang sangat penting. Pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku obat di Indonesia telah dilakukan sejak dahulu, terutama sebagai bahan baku obat tradisional menunjukkan kecenderungan untuk meningkat pemanfaatannya (Padmawinata dkk) yang dikutip Uddin (2004).

Tanaman merupakan sumber utama yang digunakan sebagai obat-obat baru, termasuk obat kontrasepsi. Berbagai jenis tumbuhan liar ada di Indonesia dapat dijadikan bahan alami untuk membuat obat kontrasepsi. Obat-obat alami tersebut

diharapkan aman jika dikonsumsi oleh masyarakat tanpa menimbulkan bahaya efek samping yang merugikan (Astirin dan Muthmainah, 2002).

Diantara berbagai jenis tumbuhan liar yang dapat digunakan sebagai obat tradisional yang penting untuk diteliti adalah tanaman pepaya (*Carica papaya l.*). Kandungan kimia yang terdapat pada pepaya adalah mengandung spektrum yang luas dari *phytochemical* termasuk, polisakarida, vitamin, mineral, enzim, protein, alkaloid, glikosida, lemak dan minyak, lektin, saponin, flavonoid, sterol, dll (Krisna *et al.*, 2008). Menurut Udoh (1998) biji pepaya (*Carica papaya*) sebagai antifertilitas sudah diketahui sejak tahun 1970, menyebabkan kuantitas dan kualitas sperma menurun. Potensi antifertilitas ini diperkuat oleh adanya penelitian yang menunjukkan bahwa didalam biji pepaya terkandung senyawa antifertilitas yaitu saponin. Bahan aktif pepaya yaitu triterpenoid saponin yang merupakan salah satu turunan steroid, bahan aktif steroid dan triterpenoid diduga sebagai bahan aktif yang bekerja sebagai faktor antifertilitas. Kedua bahan aktif tersebut diduga mampu mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus hipofise yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi GnRH yang kemudian akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Limbong, 2007; Garor *et al.*, 2009; Borrow *et al.*, 2001). Bahan antifertilitas yang bekerja pada poros hipotalamus-hipofise-ovarium mempunyai aktifitas gonadotropin, dengan mekanisme umpan balik negatif dari hipotalamus yang menyebabkan penurunan produksi GnRH. Hal ini akan berpengaruh pada sekresi FSH dan LH dari hipofisa anterior, sehingga sekresi FSH dan LH rendah, dimana kedua hormon ini sangat berpengaruh

dalam pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel ovarium serta proses ovulasi (Gomes, 2001 dalam Wurlina dkk, 2005). Menurut Robinson (1995), triterpenoid adalah turunan lipid yang dianggap berperan sebagai senyawa antara dalam biosintesis steroid, senyawa ini harus dibuat sekurang-kurangnya dalam jumlah kecil oleh semua makhluk yang mensintesis steroid. Dalam jumlah besar zat aktif triterpenoid yang merupakan turunan lipid diduga mampu menyebabkan penghambatan pelepasan LH dan FSH. Menurut Francis *et al.*, (2002) saponin mempunyai pengaruh negatif terhadap reproduksi ternak seperti aborsi atau kematian, menyebabkan steril dan penghentian proses kebuntingan. Saponin berperan besar dalam pengeluaran hormon *luteinizing*. Saponin steroid secara langsung menghambat kerja gen yang bertanggungjawab dalam proses steroidogenesis dan menekan perkembangan sel granula yang diatur oleh hormon perangsang folikel dalam ovarium.

Sebagai upaya pendayagunaan sumber daya alam nabati sebagai bahan obat, serta guna menunjang program nasional dalam bidang keluarga berencana maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya*) terhadap kadar 17- β estradiol dan folikulogenesis pada mencit betina (*Mus musculus*). Selanjutnya penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pikiran sebagai obat kontrasepsi bagi wanita.

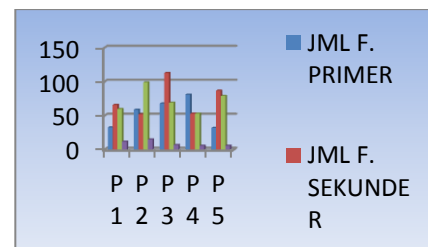
METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium, menggunakan rancangan *post test only control group design*. Sampel diambil secara acak. Variabel independen pemberian ekstrak

etanol biji pepaya berbagai dosis. Variabel dependen pemeriksaan folikulogenesis, pemeriksaan kadar 17- β estradiol. Analisis data untuk mengetahui beda rata-rata jumlah folikel dan kadar 17- β estradiol darah dengan Uji Anova satu arah. Analisis data untuk korelasi antara kadar 17- β estradiol darah dengan jumlah folikel pada proses folikulogenesis dilakukan dengan uji korelasi bivariat.

HASIL

Penelitian efek ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya linn*) terhadap kadar 17- β estradiol dan folikulogenesis ini dilakukan pada mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c yang berjumlah 5 ekor / kelompok, terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan. Perlakuan terdiri dari P1 (diberikan CMCNa 0,5%), P2 (ekstrak etanol biji pepaya 30 mg/kg BB), P3 (ekstrak etanol biji pepaya 100 mg/kg BB), P4 (ekstrak etanol biji pepaya 300 mg/kg BB), P5 (0,03 mg *Ethinylestradiol* dan 0,15 mg *Levonogestrel* 0,2 mg/kg BB). Variabel yang diukur adalah jumlah folikel ovarium dan kadar 17- β estradiol darah mencit. Data jumlah folikel primer, sekunder, tertier dan folikel de Graff disajikan pada Gambar 1.

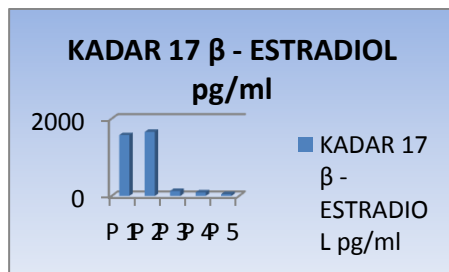


Gambar 1. Grafik jumlah folikel ovarium mencit pada semua kelompok perlakuan

Gambar 1 menunjukkan semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya maka jumlah folikel primer akan semakin banyak, sedangkan untuk jumlah folikel sekunder

semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya jumlah folikel sekunder tidak tetap karena pada tahap pertumbuhan folikel primer dan sekunder tidak bergantung pada hormon gonadotropin, untuk jumlah folikel tersier dan folikel de Graaf semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya jumlahnya akan semakin menurun karena pada tahap pembentukan folikel tersier dan folikel de Graaf tergantung hormon gonadotropin.

Variabel terakhir yang diukur adalah kadar 17-β estradiol darah mencit. Kadar 17-β estradiol yang terdeteksi pada P1, P2, P3, P4, P5. Pada kelompok P2 dengan perlakuan 30 mg/kgBB kadar 17-β estradiol lebih tinggi, sedangkan pada kelompok P3 dan P4 semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya semakin menurun kadar 17-β estradiol. Data kadar 17-β estradiol darah mencit disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik kadar 17-β estradiol darah mencit (pg/ml) pada berbagai kelompok perlakuan

Kadar 17-β estradiol darah pada kelompok P1 sampel dikorbankan pada fase estrus sehingga didapatkan kadar 17-β estradiol tinggi, sedangkan pada kelompok P2, P3, P4 dan P5 sampel dikorbankan pada fase anestrus, dari Gambar 2 semakin tinggi dosis ekstrak etanol biji pepaya kadar 17-β estradiol semakin menurun.

Uji normalitas yang digunakan adalah *One - Sample Kolmogorov-Smirnov Test*. Hasil uji tersebut adalah untuk jumlah folikel sekunder

dan folikel de graaf ovarium seperti pada Tabel 1 dan kadar 17-β estradiol darah mencit berada dalam distribusi data tidak normal ($p < 0,05$) seperti pada Tabel 1. Sedangkan hasil uji normalitas untuk folikel primer dan folikel tersier berada dalam distribusi data normal ($p > 0,05$) seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji normalitas jumlah folikel ovarium dan kadar 17-β estradiol

Hasil uji normalitas	Nilai signifikansi (p)
Folikel Primer	0,200
Folikel Sekunder	0,000
Folikel Tersier	0,200
Folikel de Graaf	0,020
Kadar 17-β estradiol	0,000

Hasil uji homogenitas dari semua data menunjukkan bahwa hanya data jumlah folikel primer dan folikel tersier yang memiliki varians yang homogen ($p > 0,05$) seperti pada Tabel 2, sehingga data pada penelitian ini dapat dilanjutkan dengan uji Anava satu arah.

Tabel 2. Nilai signifikansi (p) hasil uji homogenitas jumlah folikel ovarium mencit

Variabel	Jenis Folikel	
	Primer	Tersier
Jumlah folikel	0,270	0,449

Hasil Uji Anova satu arah terdapat pada Tabel 3. Jumlah folikel primer saja yang berbeda bermakna ($p < 0,05$), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji BNT. Variabel yang tidak bermakna dengan uji Anova satu arah tidak diuji BNT.

Tabel 3. Nilai signifikansi (p) hasil uji beda antar kelompok

Variabel	Jenis Folikel	
	Primer	Tersier
Jumlah Folikel	0,011*	0,318

Keterangan : *) Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Kelompok data yang bermakna dengan uji Anava satu arah dilanjutkan dengan uji BNT, yaitu data jumlah folikel primer. Perbedaan diantara semua kelompok seperti pada Tabel 4. Hasil dikatakan berbeda bermakna jika $p < 0,05$.

Tabel 4. Hasil uji lanjut menggunakan uji BNT pada jumlah folikel primer ovarium mencit

Kelompok	Nilai Signifikan si (p)	Ket.
P1 – P2	0,421	Tidak ada
P3	0,164	beda
P4	0,029	Tidak ada
P5	1,000	beda
		Beda
		Tidak ada
		beda
P2 – P3	0,972	Tidak ada
P4	0,579	beda
P5	0,385	Tidak ada
		beda
		Tidak ada
		beda
P3 – P4	0,900	Tidak ada
P5	0,145	beda
		Tidak ada
		beda
P4 – P5	0,025	Beda

Data yang diuji dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis adalah data yang berada dalam distribusi tidak normal ($p < 0,05$), berdasarkan dari hasil uji normalitas maka data jumlah folikel sekunder dan folikel de Graaf ovarium dan kadar 17-β estradiol darah mencit dilakukan uji Kruskal-Wallis. Hasil uji beda tersebut dapat dilihat pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Nilai signifikansi (p) hasil uji beda jumlah folikel ovarium mencit

Variabel	Jenis Folikel	
	Sekunder	de Graaf
Jumlah folikel	0,269	0,196

Tabel 6. Nilai signifikansi (p) hasil uji beda kadar 17-β estradiol darah mencit

Variabel	Nilai signifikansi (p)
Kadar 17β-estradiol	0,035*

Keterangan : *) Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Data yang dikorelasikan adalah antara jumlah folikel dengan kadar 17-β estradiol darah mencit pada semua kelompok. Hasil uji korelasi tersebut dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Korelasi antara jumlah folikel ovarium dengan kadar 17-β estradiol darah mencit

Sig	Kl	F.Pri	F.Se	F.Te	F.de
Korel	p	mer	kund	rsier	Graaf
asi			er		
Pears					
on					
Kada	P1	0,784	0,058	0,626	0,150
r 17-β	P2	0,769	0,765	0,952	0,105
estra	P3	0,333	0,234	0,188	0,949
diol	P4	0,458	0,852	0,480	0,495
	P5	0,556	0,857	0,777	0,375

Korelasi antara jumlah folikel primer, sekunder, tersier, de Graaf dengan kadar 17-β estradiol pada kelompok P1, P2, P3, P4, P5 menunjukkan tidak ada korelasi yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$).

Efek Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Jumlah Folikel Ovarium Mencit (Mus musculus)

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji pepaya menyebabkan perbedaan yang bermakna terhadap jumlah folikel primer. Jumlah folikel primer semakin meningkat seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak etanol biji pepaya. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan folikel primer tidak tergantung hormon gonadotropin. Jumlah folikel sekunder dan folikel de Graaf tidak ada perbedaan yang bermakna dari pemberian ekstrak biji pepaya dosis 30 mg/kg BB, 100 mg/kg BB maupun

300 mg/kg BB dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif maupun kelompok kontrol positif. Jumlah folikel sekunder jumlahnya tidak tetap seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak etanol biji pepaya, sedangkan jumlah folikel de Graaf semakin menurun seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak etanol biji pepaya. Hal ini disebabkan pertumbuhan folikel sekunder tidak tergantung hormon gonadotropin. Untuk jumlah folikel tersier dan folikel de graaf mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak etanol biji pepaya. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan folikel tersier dan folikel de graaf tergantung hormon gonadotropin setelah adanya pertumbuhan folikel dominan di ovarium.

Penurunan jumlah folikel tersier dan folikel de graaf ovarium seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol biji pepaya pada masing-masing tahapan folikulogenesis disebabkan oleh kandungan saponin didalam ekstrak etanol biji pepaya. Saponin berperan besar dalam pengeluaran hormon luteinizing. Saponin steroid secara langsung menghambat kerja gen yang bertanggungjawab dalam proses steroidogenesis dan menekan perkembangan sel granula yang diatur oleh hormon perangsang folikel dalam ovarium. Aktifitas bahan antigonadotropin dengan mekanisme umpan balik negatif mengakibatkan penurunan sekresi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) pada poros hipotalamus – hipofise anterior sehingga mengakibatkan penurunan sekresi hormon gonadotropin (FSH dan LH) dari kelenjar hipofise anterior sehingga mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel ovarium serta gangguan proses ovulasi (Meles dkk, 1992). Dalam penelitian ini didapatkan pertumbuhan folikel primer yang semakin tinggi pada kelompok P2,

P3, P4 dan folikel sekunder jumlahnya tidak tetap pada P3 paling banyak, hal ini disebabkan adanya gangguan sekresi *Luteinizing Hormone* sehingga dapat mempengaruhi ovarium dalam produksi androgen meningkat sehingga bisa menyebabkan gangguan folikulogenesis.

Efek Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Kadar 17β – Estradiol Darah Mencit (Mus musculus)

Pada pemeriksaan darah mencit untuk pengukuran kadar 17-β estradiol didapatkan adanya penurunan kadar 17-β estradiol seiring kenaikan dosis ekstrak etanol biji pepaya yang diberikan. Pada kelompok kontrol negatif kadar 17-β estradiol tinggi, sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadar 17-β estradiolnya rendah setelah diberikan pil kontrasepsi kombinasi. Pada saat pengorbanan kelompok kontrol negatif mencit pada fase estrus, sehingga estrogen yang dihasilkan pada keadaan maksimal, sedangkan untuk mencit kelompok P2, P3, P4, P5 dikorbankan saat fase anestrus dimana kondisinya mengalami anovulasi sehingga estrogen yang dihasilkan pada keadaan minimal (Salisbury dan VanDenmark, 1984; Kusumawati, 2004).

Pengukuran kadar 17-β estradiol pada fase diestrus tidak menggambarkan kadar estrogen yang optimal karena tidak terdapat folikel dominan yang menghasilkan estrogen yang optimal. Estrogen akan di produksi optimal pada fase proliferasi dan menjelang ovulasi, yaitu pada fase proestrus akhir atau fase estrus (Salisbury dan VanDenmark, 1984; Kusumawati, 2004).

Mencit yang digunakan untuk penelitian ini awalnya seragam pada fase estrus saat sebelum diberikan perlakuan tiap kelompoknya, kemudian diberikan perlakuan selama 9 hari dan pada hari ke 10

dilakukan pemeriksaan swab vagina untuk mengetahui fase estrus mencit. Hasilnya mencit kelompok P2, P3, P4, P5 berada pada fase anestrus. Keberadaan mencit pada fase anestrus sesuai dengan yang diharapkan supaya mencit anovulasi sebagai dampak dari pemberian ekstrak etanol biji pepaya dan pemberian pil kontrasepsi oral untuk kelompok kontrol positif. Pemberian ekstrak etanol biji pepaya dapat mengganggu proses folikulogenesis dan steroidogenesis, sehingga perkembangan folikel dan sintesis hormon steroid terhambat (Meles dkk., 1992).

Korelasi antara Jumlah Folikel Ovarium dengan Kadar 17-β estradiol Darah Mencit (Mus musculus)

Data yang dapat dilakukan uji korelasi adalah jumlah folikel ovarium terhadap kadar 17-β estradiol pada semua kelompok perlakuan. Hasil statistik menunjukkan tidak ada korelasi yang bermakna antara jumlah folikel primer, sekunder, tersier, de Graaf dengan kadar 17-β estradiol pada kelompok P1, P2, P3, P4, P5 tidak menunjukkan korelasi yang bermakna secara statistik ($p > 0,05$).

Kadar 17-β estradiol yang rendah pada hasil penelitian ini dipengaruhi oleh jumlah folikel de Graaf yang sedikit akibat pemberian ekstrak etanol biji pepaya, karena secara teori jumlah folikel mempengaruhi sintesis estrogen. Hasil penelitian ini belum dapat membuktikan secara bermakna kekuatan korelasi diantara keduanya karena koefisien korelasinya masih belum kuat. Hal ini dapat disebabkan oleh besar dan selisih dosis ekstrak etanol biji pepaya yang masih belum dapat memberikan efek bermakna terhadap folikulogenesis secara keseluruhan.

Sebab lain adalah pengorbanan di fase anestrus yang menyebabkan tidak semua kadar 17-

β estradiol darah terdeteksi. Data tersebut menjadi kurang optimal untuk dikorelasikan lebih baik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol biji pepaya dosis 30 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB menurunkan jumlah folikel tersier dan folikel de graaf tapi tidak menurunkan folikel primer dan folikel sekunder pada proses folikulogenesis
2. Kadar 17-β estradiol pada kelompok dosis 30 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB semakin menurun seiring dengan kenaikan dosis ekstrak etanol biji pepaya yang diberikan
3. Jumlah folikel pada proses folikulogenesis akibat pemberian ekstrak etanol biji pepaya dosis 30, 100, 300 mg/kg BB tidak berkorelasi dengan kadar 17-β estradiol darah mencit.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak etanol biji pepaya dengan dosis 30 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB minimal selama 9 hari dapat menurunkan jumlah folikel tersier dan folikel de graaf di ovarium mencit, sehingga konsumsi ekstrak biji pepaya akan memberi efek antifertilitas, dalam hal ini menggunakan mencit betina sebagai model. Dosis mencit tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan dosis terkecil dibawah 30 mg/kg BB yang dapat mempengaruhi fertilitas wanita jika ekstrak biji pepaya dikonsumsi manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Astirin, O.P dan Muthmainah. 2002. *Struktur Histologis Ovarium Tikus (Rattus novergicus) Gravid Setelah*

- Pemberian Ekstrak Momordica Charantia L. Jurnal Pharmacon. Jakarta. 26-30
- Biro Pusat Statistik, Badan Koordinasi Keluarga Berencana Nasional, Depkes, Macro International Inc, *Survey Demografi dan Kesehatan Indonesia*, 2011 : XXIV+228
- Budiarto E, 2003. *Metodologi Penelitian Kedokteran*, Sebuah Pengantar. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran. EGC, 15.
- Burrow, M.E., S.M. Bone, B.M. Coelin, L.I. Meinik, B.N. Duana, S.W. Canter, T.E. Wiese, T.E. Cleveland and J.A. Mc. Lachlan. 2001. *Phytochemical Gliceolins Isolated from Soy Medicine Antihormonal Effect Through Esterogen Receptor Alpha and Beta*. J. Clin. Endocrinol. Metab. Apr. 86 (4). P; 1750-1758.
- Dahlan S, 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta : Penerbit Salemba Medika.4
- Dharma SJ, Modi DN and Nandedkar TD, 2009. *Gene expression profiling during early folliculogenesis in the mouse ovary*. Fertility and Sterility 91 (5): 2025-2036.
- Francis, G., Z. Kerem, H.P.S. Makkar and K. Becker. 2002. *The Biological action of saponins in animal system: review*. BRITISH JOURNAL OF NUTRITION 88:587-605.
- Ganong, W.F. 2003. *Review of Medical Physiology*. International Edition. Mc Graw Hill Book. San Fransisco.
- Garor R, Abir R, Erman A, Felz C, Nitke and Fish B, 2009. *Effect of Basic Fibroblast Grotwh Factor on In Vitro Development of Human Ovarian Primordial Follicles*. Fertility and Sterility 91(5): 1967-1975.
- Gomes et al., (2001) Gomez, Y, P.N. Velazques, I.D. Pelalta, M.C. Mendez, F. Vilchia, M.A.O. Juarez and E. Pedenernera. 2001. *Follicle Stimulating Hormone Regulates Steroigenic Enzymes in Culture Cells of The Chick Embryo Ovary*. Gen Comp Endocrinol. Vol 121 (3).
- King SR and Lavoie HA, 2009. *Regulation of the early steps in gonadal steroidogenesis*. In : Reproductive endocrinology, a molecular approach. New York : Springer, 175.
- Krishna, K.L., Paridhavi, M., Patel, J.A. 2008. *Review on Nutritional, medicinal and Pharmacological Properties of Papaya (Carica papaya Linn)*. Institute of Pharmacy. Nirma University of Science & Technology. Gujarat. India
- Kusumawati D, 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press, 5-6, 49-50,67-68.
- Limbong, Theresia. 2007. Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Batang Pakettu (*Ficus superba* Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Dalam Abstrak Jurnal Penelitian*. Surabaya: Universitas Airlangga
- Meles, D.K dan W. Sastrowardoyo. 2001. *Efek Infusa Impatiens Balsamia Linn pada Stadium Pembelahan Sel (Cleavage) dalam Upaya Pencarian Obat Antifertilitas*. PPOT. Lemlit. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ridwan, 2009. *Dasar-Dasar Statistika*. Bandung : Penerbit Alfabeta, 217-222; 238-243.
- Sugiyono, 2008. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Penerbit Alfabeta, 72-80.
- Tjokroprawiro A, Pudjirahardjo WJ, dan Putra ST, 1996. *Pedoman Penelitian Kedokteran*. Surabaya: Airlangga University Press, 54-55.
- Uddin, M. 2004. *Pengaruh Pemberian Ekstrak daun Jarong (Achyranthes aspera Linn) Per Oral terhadap Jumlah embrio Mencit*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

Udoh, P. 1998. *Studies on Infertility Effect of Pawpaw Seeds (Carica papaya) on the Gonads of Male Albino Rats*. Pub. Med. Departement of Biological Sciences. University of Calabar. Nigeria.

Wurlina, MS dkk. 2005. Pengaruh Antifertilisasi Achyranthes Aspera Linn Terhadap Perkembangan Siklus Folikel Ovarium Dan Siklus Folikel Ovarium Dan Siklus Vagina Pada Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Universitas Airlangga.