



Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji *Luffa acutangula*, *Roxb* pada Mencit Betina Galur *Swiss Webster* terhadap Lama Siklus Estrus dan Jumlah Folikel Muda

The Effect of Oral Administration of Luffa acutangula, Roxb Seed Extract on Female of Mice Swiss Webster Strain on the Estrous Cycle Period and the Number of Immature Follicles

Endang Purwaningsih

Department of Biology, Faculty of Medicine, YARSI University Jakarta

KEYWORDS Cucurbitacine; antifertility; proestrous; metestrous

ABSTRACT *The purpose of the present study was to investigate the effect of oral Luffa acutangula, Roxb seed extract respectively in the estrous cycle period and the total number of immature follicles on female mice, Swiss Webster strain. In this study, experimental animals were divided to 5 treatment groups. The first 3 mice of each group were treated with 200, 300 and 400 mg/kg body weight of seed extract orally. The remaining 2 mice served as treated control (given aquabidest only) and same control. Treatment with seed extract of each group was given everyday for 20 and 40 days. All female mice which were treated with various doses (200, 300 and 400 mg/kg body weight) of Luffa acutangula, Roxb seed extract showed the highly significant difference in the estrous cycle period and the number of immature follicles compared to control groups on day 20 and 40. The duration of estrous cycle of the treatment group was longer and the number of immature follicles were decreased; and the duration cycle was longer significant for the 40 day.*

Indonesia sebagai negara kepulauan di daerah tropis, kaya akan species flora. Dari empat puluh ribu jenis flora yang ada di dunia, tigapuluh ribu diantaranya tumbuh di Indonesia. Dari jumlah tersebut 26% telah dibudidayakan, sedangkan sisanya masih tumbuh liar (Djamal, 1982).

Penggunaan obat tradisional (terutama tumbuh-tumbuhan) saat ini umumnya berdasarkan pengalaman empiris saja (Santoso, 1983). Untuk itu diperlukan pendekatan ilmiah guna membawa obat tradisional ke dalam praktek kedokteran dan pelayanan kesehatan formal.

Beberapa tumbuhan di Indonesia telah diketahui mempunyai efek antifertilitas dengan bahan aktif antifertilitas yang umumnya berupa steroid, contohnya ialah diosgenin, cucurbitacin, and stigma sterol.

Sudah terkoleksi 87 species tumbuhan di Indonesia yang dipakai kaum wanita untuk tujuan kontrasepsi. Sekitar 60 species telah diteliti efek antifertilitasnya pada hewan coba betina dan manusia. Hasil penelitian tersebut menunjukkan, bahwa tumbuhan itu dapat bersifat sebagai antigonadotropik, anti implantasi, anti ovulasi, dan akibat dari berbagai sifat tersebut adalah penurunan jumlah kelahiran (Sumantri & Sugiharjo, 1977). Salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai obat antifertilitas adalah *Luffa acutangula*, *Roxb* (oyong/gambas).

Correspondence:

Dra. Endang Purwaningsih, MS., Department of Biology, Faculty of Medicine, YARSI UNIVERSITY Jakarta, Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Tel. 021-4206674-76, Facksimile: 021-4243171

Penelitian terdahulu mengenai kandungan zat aktif dalam tanaman oyong diketahui, bahwa biji tanaman oyong sebagian besar mengandung bagian yang pahit seperti cucurbitacin, sapogenin (Perry & Metzger, 1980); selain itu juga mengandung saponin, kolin dan asam hidrosianin (Duke, 1987), cucurbitacin diketahui bersifat sitotoksik.

Dixit dkk (1978) telah membuktikan, bahwa cucurbitacin pada tanaman oyong dapat menghambat proses spermatogenesis pada anjing berupa penurunan jumlah sel spermatogenik di dalam tubulus seminiferus dan penurunan motilitas dan morfologi sperma epididimis. Selain itu Purwaningsih & Susmiarsih (1998) melaporkan, bahwa secara *in vitro* ekstrak biji tanaman oyong dapat menurunkan kualitas sperma manusia berupa penurunan motilitas, viabilitas dan integritas membran sperma. Selanjutnya diketahui pula, bahwa ekstrak buah oyong yang masih muda (biasa dikonsumsi sebagai sayur) juga dapat menurunkan kualitas sperma manusia secara *in vitro* (Purwaningsih, 1999).

Dari penelitian di atas, diketahui bahwa tanaman oyong dapat berpengaruh terhadap sistem reproduksi pria/jantan, baik melalui jalur testikuler maupun postestikuler. Namun demikian, belum diketahui apakah ekstrak biji tanaman oyong juga dapat berpengaruh terhadap sistem reproduksi wanita/betina, khususnya terhadap lama siklus estrus dan jumlah total folikel muda. Untuk itu telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak biji oyong terhadap parameter fertilitas tersebut pada mencit betina galur *Swiss Webster*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

1. Biji oyong (*Luffa acutangula*, Roxb)
Biji oyong yang digunakan adalah biji oyong yang sudah tua, diperoleh di daerah Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta.

2. Hewan coba
Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit betina *Mus musculus*, L galur *Swiss Webster* yang berumur sekitar 2 bulan sebanyak 30 ekor. Mencit betina yang digunakan mempunyai berat badan sekitar 25–30 gram dan mempunyai siklus estrus normal, yaitu 4–5 hari. Mencit yang digunakan diperoleh dari Bagian Biologi FKUI.
3. Makanan dan minuman mencit.
Makanan mencit berupa makanan baku yang berbentuk pellet berwarna kuning kecoklatan yang diperoleh dari pasar makanan ternak di Jatinegara, Jakarta Timur. Air minum yang digunakan adalah berupa air PAM.
4. Zat warna Giemsa, untuk pembuatan apus vagina.
5. Bahan-bahan kimia untuk membuat sediaan histologi ovarium.

Cara kerja

1. Pemberian Perlakuan
Mencit yang diberi perlakuan adalah mencit betina. Sesuai dengan rancangan penelitian, maka perlakuan dibagi menjadi 10 kelompok, yaitu :
Kelompok I : Perlakuan dengan dosis 200 mg/kg bb selama 20 hari
Kelompok II : Perlakuan dengan dosis 300 mg/kg bb selama 20 hari
Kelompok III : Perlakuan dengan dosis 400 mg/kg bb selama 20 hari
Kelompok IV : Kontrol dengan perlakuan akuabides/placebo selama 20 hari
Kelompok V : Kontrol tanpa perlakuan selama 20 hari
Kelompok VI : Perlakuan dengan dosis 200 mg/kg bb selama 40 hari
Kelompok VII : Perlakuan dengan dosis 300 mg/kg bb selama 40 hari
Kelompok VIII: Perlakuan dengan dosis 400 mg/kg bb selama 40 hari

- Kelompok IX : Kontrol dengan perlakuan akuabides / placebo selama 40 hari
- Kelompok X : Kontrol tanpa perlakuan selama 40 hari

Jumlah ulangan untuk tiap kombinasi perlakuan ditentukan dengan menggunakan rumus Freederer, yaitu: $(t - 1)(n - 1) > 15$

t = jumlah perlakuan (5×2); n = jumlah ulangan, maka jumlah ulangan minimum tiap kelompok perlakuan adalah 3 kali.

2. Pemilihan hewan coba

Mencit yang sudah beradaptasi dengan lingkungannya dipilih untuk mendapatkan keseragaman, yaitu mencit-mencit yang mempunyai siklus estrus teratur/normal 4–5 hari (Rugh, 1968; Ganong, 1991). Siklus estrus ditentukan berdasarkan siklus epitel vagina dengan membuat sediaan apus vagina setiap hari pada waktu yang sama. Bila selama 4 siklus berturut-turut mencit mempunyai siklus 4–5 hari, maka mencit dapat digunakan sebagai hewan coba.

Mencit yang terpilih sebagai hewan coba kemudian ditimbang berat badannya dan dipilih mencit yang memiliki berat badan antara 25–30 gram. Selanjutnya mencit ditempatkan dalam kandang yang beralaskan serbuk kayu gergaji. Tiap kandang berisi satu ekor mencit dan diberi label sesuai perlakuannya.

3. Pengamatan siklus estrus

Siklus estrus diamati pada sediaan vagina. Pembuatan sediaan apus vagina dilakukan sebelum pemberian ekstrak biji oyong secara oral. Prosedur membuat sediaan apus vagina adalah sebagai berikut:

Gelas obyek dibersihkan dengan alkohol 70%. Selanjutnya teteskan akuades di atas gelas obyek tersebut. Jarum ose yang disterilkan dengan alkohol 70%. Jarum ose tersebut kemudian dioleskan secara perlahan-lahan ke dalam jaringan mukosa vagina. Ose yang mengandung getah vagina ter-

sebut dioleskan ke dalam setetes akuades di atas gelas obyek, kemudian diuat apus setipis mungkin. Setelah kering difiksasi dengan alkohol 95% selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air. Sediaan diwarnai dengan pewarna Giemsa 5% selama 20 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan pada suhu kamar. Identifikasi tiap fase siklus estrus dari sediaan apus vagina mencit di amati di bawah mikroskop cahaya (Clayden, 1971). Perhitungan terhadap lamanya siklus estrus (hari) dilakukan pengamatan mulai berlangsungnya fase estrus dari siklus estrus sebelumnya sampai ke fase estrus siklus berikutnya (Martin, 1985) yang mengkategorikan siklus estrus menjadi 4 fase yaitu: estrus, metestrus, diestrus dan proestrus.

4. Pembuatan ekstrak biji oyong (*Luffa acutangula*, Roxb)

Biji oyong yang sudah tua dibersihkan, dijemur ditempat teduh (tidak terkena sinar matahari langsung). Setelah kering seluruh biji tersebut (kulit + daging biji) digiling sampai halus hingga berbentuk tepung halus. Bubuktersebut kemudian disaring dengan alkohol 96% menggunakan soklet. Kemudian alkohol tersebut dipisahkan dengan vakum destilasi sehingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang sesuai dosis yang diperlukan. Untuk dosis 200 mg/kg bb adalah $0,0284 \text{ kg} \times 200 \text{ mg} = 0,071 \text{ mg/ekor/hari}$ dalam 0,5 ml akuabides dan untuk dosis 400 mg/kg bb adalah $0,0284 \text{ kg} \times 400 \text{ mg} = 0,142 \text{ mg/ekor/hari}$ dalam 0,5 ml akuabides.

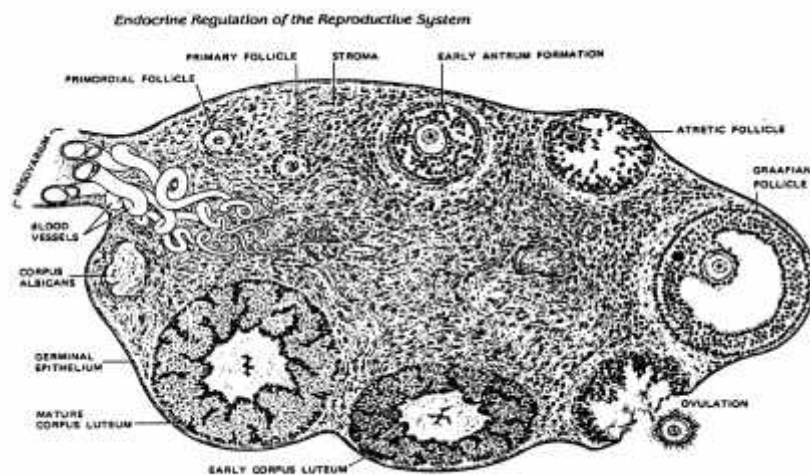
5. Perlakuan hewan coba

Hewan coba dikelompokkan secara acak dan setiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit betina, masing-masing mewakili perlakuan yang diberikan. Tiap perlakuan ditandai dengan melakukan pemotongan kecil pada kuping. Pemberian perlakuan dilakukan pada stadium awal metestrus mencit, untuk mencegah perkembangan sel-sel folikel sedini mungkin. Perlakuan diberikan

selama 20 hari dan 40 hari atau masing-masing 4 kali dan 8 kali siklus estrus.

6. Pembuatan sediaan histologi ovarium. Pembuatan sediaan histologi ovarium dilakukan setelah akhir waktu perlakuan yang telah ditetapkan. Prosedurnya adalah sebagai berikut: Mencit yang telah selesai perlakuan kemudian dikorbkan dengan cara dibius dengan eter dan selanjutnya dibedah. Jaringan ovarium diambil, dibersihkan dari jaringan lain kemudian kedua jaringan ovarium (kanan dan kiri) ditimbang. Kedua ovarium tersebut selanjutnya

difiksasi dalam larutan Bouin selama 24 jam. Setelah fiksasi, dilakukan proses dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi paraffin (*embedding*), pengirisan dengan mikrotom, perekatan pada gelas obyek, deparafinisasi, rehidrasi dan terakhir dilakukan pewarnaan dengan menggunakan zat warna Hematoksilin-Eosin (HE) (Clayden, 1971). Perhitungan jumlah folikel muda dilakukan dengan menghitung jumlah folikel primer, folikel sekunder dan folikel tersier pada setiap potongan ovarium (Gambar 1).



Gambar 1. Siklus hidup ovarium (Adashi, 1991).

HASIL

1. Lama siklus estrus

Pemberian ekstrak biji oyong (*Luffa acutangula*, Roxb) pada mencit betina strain *Swiss Webster* terhadap lama siklus estrus menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Pemberian perlakuan dapat memperpanjang lama siklus estrus. Hal ini tergambar pada nilai rata-rata yang berbeda antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hasil pengamatan lama siklus estrus tersaji pada Tabel 1.

Perhitungan secara statistik dengan Anova dua arah diketahui, bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) pada lama siklus estrus yang disebabkan oleh dosis perlakuan ekstrak biji oyong antara dosis 200, 300 dan 400 mg/kg bb dan

lama perlakuan 20 hari dan 40 hari dibandingkan dengan kelompok kontrol (KTP dan PLC/placebo) (T1). Namun interaksi antara lama perlakuan dan dosis perlakuan (T1 x T2) tidak memberikan pengaruh bermakna ($p > 0,05$).

Selanjutnya dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) adanya perbedaan lama siklus estrus karena lama perlakuan tersaji dalam Tabel 2. Pada Tabel 2 tersebut menunjukkan lama siklus estrus mencit pada kelompok perlakuan 40 hari lebih panjang daripada kelompok perlakuan 20 hari ($p < 0,01$).

Perbedaan lama siklus estrus antara dosis perlakuan selama 20 hari dan 40 hari, tersaji dalam Tabel III, yang memperlihatkan adanya perbedaan yang sangat bermakna ($p, 0,01$) antara kelompok perlakuan (PI, PII dan PIII) dibandingkan kelompok

kontrol (KTP dan PLC). Perlakuan pada semua dosis tertinggi 400 mg/kg bb (PIII) baik selama perlakuan 20 hari maupun 40 hari terdapat per-bedaan sangat bermakna ($p < 0,01$) dengan dosis perlakuan terendah 200 mg/kg bb (PI), tetapi dosis perlakuan 400 mg/kg bb tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan dosis 300 mg/kg bb (PII) ($p > 0,05$).

2. Jumlah folikel muda

Hasil perhitungan jumlah total folikel muda (sebelum mencapai folikel de

Graaf) yaitu jumlah total folikel primer, sekunder dan tersier pada ovarium mencit setelah pencekakan dengan ekstrak biji oyong disajikan pada Tabel 4. Hasil uji statistik non parametrik Kruskall Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang sangat bermakna diantara kelompok ($p < 0,01$). Pemberian ekstrak biji oyong dapat menurunkan jumlah total folikel muda. Hal ini ditunjukkan pada hasil uji kisaran kritis Kruskal Wallis antara kombinasi perlakuan (Tabel 5).

Tabel 1. Lama siklus estrus (hari) dari setiap kelompok setelah pemberian ekstrak biji oyong pada dosis 200, 300 dan 400 mg/kg bb selama 20 dan 40 hari

KELOMPOK	200/20	300/20	400/20	PLC/20	KTP/20	200/40	300/40	400/40	PLC/40	KTP/40
ULANGAN										
1.	6,14	6,29	6,14	5,63	5,33	6,86	7,00	7,80	5,63	5,50
2.	5,88	6,29	6,33	5,75	4,90	6,80	6,83	8,80	6,29	5,55
3.	5,50	5,83	7,00	5,33	5,33	6,57	8,00	8,80	6,43	5,56
MEAN	5,84	6,14	6,49	5,57	5,19	6,74	8,00	8,46	6,12	5,53
SD	0,26	0,22	0,37	0,18	0,20	0,12	0,52	0,51	0,35	0,26

Keterangan: 200/20, kelompok perlakuan dosis ekstrak biji oyong 200 mg/ bb selama 20 hari ; 300/20, kelompok perlakuan dosis ekstrak biji oyong 300 mg/kg bb selama 20 hari. Begitu juga seterusnya 400/40, kelompok perlakuan dosis ekstrak biji oyong 400 mg/kg bb selama 40 hri. PLC/20 dan PLC/40 masing-masing adalah kelompok kontrol perlakuan dengan akuabides/ kelompok placebo selama 20 hari dan 40 hari; KTP/20 dan KTP/40 masing-masing adalah kelompok kontrol tanpa perlakuan apapun selama 20 hari dan 40 hari.

*) SD = standard deviasi

Tabel 2. Uji BNT pengaruh lama perlakuan (20 hari dan 40 hari) terhadap lama siklus estrus

Lama Perlakuan	NT	Selisih	BNT 0,05	BNT 0,01
20 hari	2,56	-	0,05	0,08
40 hari	2,68	0,12**		

** $p < 0,01$

Tabel 3. Uji BNT Lama siklus estrus setelah pemberian ekstrak biji oyong selama 20 dan 40 hari

Perla kuan	NT	KTP	PLC	Selisih PI	PII	PIII	BNT 0,05	BNT 0,01
KTP	2,45	-					0,11	0,15
PLC	2,52	0,07	-					
PI	2,68	0,23**	0,16**	-				
PII	2,78	0,33**	0,26**	0,10	-			
PIII	2,83	0,38**	0,31**	0,15**	0,05	-		

** $p < 0,01$

KTP = kontrol tanpa perlakuan apapun

PLC = kontrol dengan perlakuan akuabides (placebo)

PI = perlakuan dosis 200 mg/kg bb selama 20 hari dan 40 hari

PII = perlakuan dosis 300 mg/kg bb selama 20 hari dan 40 hari

PIII = perlakuan dosis 400 mg/kg bb selama 20 hari dan 40 hari.

Tabel 4. Jumlah folikel muda pada setiap kelompok setelah pemberian ekstrak biji oyong pada dosis 200, 300 dan 400 mg/kg bb selama 20 dan 40 hari

Kelompok	200/20	300/20	400/20	PLC/20	KTP/20	200/40	300/40	400/40	PLC/40	KTP/40
ULANGAN										
1.	31	27	21	40	37	39	31	22	45	39
2.	31	27	20	39	47	30	21	17	40	39
3.	33	21	21	38	44	24	26	15	44	49
MEAN	31,67	25	20,67	39,0	42,67	31	26	18	43	42,33
SD	0,94	2,83	0,47	0,82	4,19	6,16	4,08	2,94	2,16	4,71

Tabel 5. Uji Kisaran kritis Kruskal Wallis Pengaruh pemberian ekstrak biji oyong dosis 200, 300 dan 400 mg/kg bb terhadap jumlah folikel muda selama 20 dan 40 hari

Perlakuan	R	200/20	300/20	400/20	PLC/20	KTP/20	200/40	300/40	400/40	PLC/40	KTP/40
200/20	47	-									
300/20	28,5	18,5	-								
400/20	14	33	14,5	-							
PLC/20	65	18	36,5*	51**	-						
KTP/20	73,5	26,5	45**	59,5**	8,5	-					
200/40	43,5	3,5	15	29,5	21,5	30	-				
300/40	30,5	16,5	2,0	16,5	34,5	43**	13,5	-			
400/40	11	36*	17,5	3	54**	62,5**	32,5	19,5	-		
PLC/40	79	32	50,5**	65**	14	5,5	35,5*	48,5*	68**	-	
KTP/40	75	28	46,5**	61**	10	15	31,5	44,5*	64**	4	-

Keterangan: * = terdapat perbedaan bermakna pada $p < 0,05$
 ** = terdapat perbedaan sangat bermakna pada $p < 0,01$
 R tabel 5 % = 35 ; 1% = 39

PEMBAHASAN

Pemberian ekstrak biji oyong (*Luffa acutangula*, Roxb) secara oral pada mencit betina galur *Swiss Webster* ternyata dapat mempengaruhi lama siklus estrus dan jumlah total folikel muda. Pada perlakuan selama 20 hari dan 40 hari pemberian ekstrak biji oyong dapat memperpanjang siklus estrus dan me-nurunkan jumlah total folikel muda. Perbedaan tersebut sangat bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Telah diketahui bahwa dalam tanaman oyong (*Luffa acutangula*, Roxb) mengandung senyawa aktif seperti misalnya: cucurbitacin yang bersifat seperti

steroid (Perry & Metzger, 1980). Steroid ini merupakan salah satu faktor yang dapat menghambat perkembangan folikel di dalam ovarium melalui penekanan kadar FSH. Tumbuhan yang mengandung steroid umumnya bersifat estrogenik sehingga dapat mempengaruhi siklus menstruasi dan perkembangan folikel (Franswoth dkk, 1975).

Zat aktif dalam tanaman oyong diduga dapat mengganggu keseimbangan poros hipotalamus - hipofisis - ovarium dan menyebabkan naiknya kadar estrogen di dalam darah, sehingga menghambat sekresi FSH. FSH berfungsi mengatur perkembangan dan jumlah folikel (Ganong, 1991). Menurunnya kadar FSH akan

menyebabkan perkembangan folikel terhambat termasuk folikel-folikel muda mulai folikel primer sampai folikel tersier.

Perubahan lama siklus estrus mencit menjadi lebih panjang bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemanjangan tersebut mulai tampak pada perlakuan dosis 200 mg/kg bb dan makin tinggi dosis yang diberikan, makin panjang siklus estrus. Pemanjangan siklus ini kemungkinan disebabkan terjadi hambatan pada organ reproduksi lain misalnya hambatan pada proses perkembangan sel-sel folikel dalam ovarium. Meskipun belum diketahui secara tepat mengenai ekstrak biji *Luffa acutangula*, Roxb (oyong) tersebut, diduga ekstrak biji oyong mengandung komponen sitotoksik melalui hambatan pada biosintesis protein dan RNA yang diperlukan untuk pembentukan oosit normal (Takemoto dkk, 1983).

Pengaruh ekstrak biji oyong terhadap folikel ovarium diperlihatkan pada pemanjangan siklus estrus mencit berlangsung melalui poros hipotalamus-hipofisis-ovarium. Namun perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui secara pasti perubahan kadar LH, FSH, estrogen dan progesteron dalam plasma darah bila mencit diberi ekstrak biji oyong secara oral. Perubahan sekresi gonadotropin (FSH dan LH) membawa dampak pada siklus ovarium yang diperlihatkan dengan terjadinya pemanjangan siklus estrus. Ini berarti siklus yang satu menjadi indikasi siklus yang lain, sehingga kalau terjadi perubahan pada salah satu siklus akan tergambarkan pada siklus yang lain.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, bahwa pencekakan ekstrak biji oyong (*Luffa acutangula*, Roxb) dapat menurunkan fertilitas mencit betina galur Swiss Webster, yaitu menurunkan jumlah total folikel muda dalam ovarium dan memperpanjang lama siklus estrus. Hal ini terjadi terutama pada dosis 300 dan 400 mg/kg bb baik pada perlakuan 20 hari maupun 40 hari. Pemanjangan lama siklus

estrus sangat berbeda bermakna secara statistik antara perlakuan selama 20 hari dengan perlakuan selama 40 hari.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar gonadotropin (FSH dan LH) maupun hormon ovarium (estrogen dan progesteron) setelah pemberian ekstrak biji *Luffa acutangula*, Roxb pada hewan percobaan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran dan Universitas YARSI melalui dana YAYASAN YARSI untuk penelitian tersebut.

KEPUSTAKAAN

- Adashi EY 1991. The Ovarian Life Cycle. Dalam: Yen SSC and Jaffe RB Ed. *Reproductive Endocrinology*. 3rd Ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 181-237
- Clayden EC 1971. *Practical section, cutting and staining*. Edinburg Churchill, Livingstone: 18-20.
- Dixit VP, Khana P, Bhargava SK 1978. Effect of *Momordia charantia*, L fruit extract on the testicular function dog. *Planta Medica of the Medicine Plant Research* 34 ; 280 - 286.
- Djamal R 1982. *Isolasi dan Fluidasi Struktur Steroid dari Kulit Kayu Kasai*. Padang: Universitas Andalas.
- Duke JA 1987. *Handbook of Medicinal Herbs*. Fifth Ed. Florida : CRC Press Inc.
- Fransworth NR, Binell AS, Cordell GA, Fong HS 1975. Potensial of Plant as Sources of New Antifertility Agent. I. *J Pharma Sci* 63 : 4 - 10.
- Ganong WF 1991. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Terjemahan; Irawati Setiawan. Jakarta: EGC : 1285 - 1294.
- Martin CR 1985. *Endocrine Physiology*. New York: Oxford university Press Inc.
- Perry KM, Metzger J 1980. *Medicinal Plant of East and South East Asia*. London; Cambridge University Press.
- Purwaningsih E, Susmiarsih T 1998. Efek spermatid ekstrak biji oyong terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa *in vitro*. *J Kedok YARSI* (3).
- Purwaningsih E 1999. Efek spermatid ekstrak juice buah oyong tanpa biji terhadap kualitas sperma manusia *in vitro*. *J Kedok YARSI* (1).
- Santoso SO 1993. *Perkembangan Obat tradisional Dalam Ilmu Kedokteran di Indonesia dan Upaya Pengembangannya sebagai Obat Alternatif*. Pidato Pengukuhan Guru Besar. Jakarta: FKUI.
- Sumantri, Sugihardjo CJ 1977. *Kemungkinan Penggunaan Tanaman Asli Indonesia sebagai Obat*

Kontraseptika. Panitia Pekan Ilmiah dan Diskusi,
Mei 1977. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
Takemoto DJ, Jilka C, Rockenbach S, Hughes JV
1983. Purification and Characterization of a

Cytostatic Factor with Anti-Viral Activity from
the Bitter Melon. *Preparative Biochemistry* 13 (15):
397-492.