PENGARUH EKSTRAK METANOL KULIT KAYU DURIAN (*Durio zibethinus* Murr) PADA STRUKTUR MIKROANATOMI OVARIUM DAN UTERUS MENCIT (*Mus musculus* L) BETINA

THE EFFECTS OF DURIAN WOOD SKIN METHANOL EXTRACT (*Durio zibethinus* Murr) OF OVARIUM AND UTERUS MICROANATOMY STRUCTURE FEMALE MICE (*Mus musculus* L)

Rusmiati
Staf Pengajar Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jalan A. Yani Km 36,00 Banjarbaru Kalimantan Selatan
Rusmiati_darmawanto@ gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan memberikan kepastian ilmiah khasiat antifertilitas ekstrak kulit kayu durian. 24 ekor mencit betina umur 3 bulan dengan berat seragam dikelompokkan berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola Faktorial 2 x 4 dengan n = 3. Konsentrasi ekstrak methanol kulit kayu durian yang digunakan adalah 10%,15% dan 20%. Masing-masing ekstrak diberikan pada mencit sebanyak 0.5 ml per hari setiap 25 – 30 mg bb selama 30 hari. Satu hari setelah pemberian ekstrak dihentikan diadakan pembedahan untuk melihat perubahan yang terjadi akibat pemberian ekstrak kulit kayu durian (pengamatan I). Sisa mencit yang lain tetap dipelihara tetapi pemberian ekstrak dihentikan selama 30 hari. Satu hari setelah itu diadakan pembedahan lagi untuk melihat daya pulih sel (pengamatan II). Parameter yang diamati adalah jumlah sel folikel di ovarium dan tebal miometrium dan endometrium di uterus. Ovarium dan uterus dibuat sediaan mikroanatomi dengan metode Parafin dan pewarnaan Hematoksilin - Eosin (HE). Data dianalisis dengan Anava, α = 0,05 dan dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test(DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu durian berpotensi mengurangi jumlah sel folikel di ovarium dan tebal miometrium di uterus.

Kata kunci : Antifertilitas, kulit kayu durian, ovarium, uterus

ABSTRACT

The study is conducted to justify the scientific advantages of the infertility of durian wood skin extract. Twenty for female mice of 3 months old with similar weights are grouped based on the Complete Random Design, with 2 x 4 factorial pattern and n = 3. Durian wood skin methanol extract concentration used is 10%, 15% and 20%. Each extract is given to mice for 0.5 ml a day for every 25 – 30 mg of their weights for 30 days. One day after the extract is stopped, a surgery is carried out to see the changes for the given of durian wood skin extract (Observation I). The rest of the mice are kept but the extract is no longer given for 30 days. The next day, the surgery is conducted to see the cell recovery power (Observation II). The observed parameter is the number of follicle cells and the thickness of miometrium and endometrium in uterus. The ovarium and uterus are made into microanatomy slides using paraffin method and Hematoksilin- Eosin (HE) colouring. The data is analysed using Anava, α = 0,05 and then tested by Duncan Multiple Range Test (DMRT). The result shows that the durian wood skin extract is potentially reduce the number of follicle cells in ovarium and the the thickness of miometrium in uterus.

Keywords: infertility, durian wood skin, ovarium, uterus

PENDAHULUAN

Salah satu jenis tanaman yang banyak terdapat di Kalimantan Selatan adalah durian. Secara empiris tanaman ini telah digunakan oleh para ibu di Kecamatan Karang Intan Kabupaten Banjar untuk menjarangkan kehamilan. Studi pustaka menunjukkan kulit kayu durian berkhasiat melancarkan haid (Sangat *et al*, 2000, sebagai obat penggugur (Rismunandar, 1986, dan Heyne,1987). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu durian dapat meningkatkan jumlah folikel atresia pada ovarium (Safitri, 2006), dan menurunkan jumlah folikel de Graff mencit betina (Hairani, 2006), sehingga berpotensi menghambat ovulasi. Ekstrak methanol kulit kayu durian dapat pula menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel spermatogenik dan pengurangan diameter tubulus seminiferus testis (Nurliani, 2004), serta menurunkan jumlah morfologi normal spermatozoa mencit jantan (Zakiah, 2004).

Kulit kayu durian mengandung tanin, saponin (DePadua,1978), alkaloid, flavonoid, triterpenoid (Nurliani, 2004). Menurut Winarno dan Dian (1997) golongan senyawa tersebut berkhasiat antifertilitas.

Mekanisme kerja kontrasepsi dalam mencegah kehamilan antara lain dengan cara : menghambat ovulasi dan menghambat implantasi. Mekanisme ini dapat dilihat dari penampilan organ reproduksi seperti ovarium dan uterus. Dari struktur mikroanatomi ovarium dapat diketahui mekanisme yang menghambat ovulasi yaitu dengan melihat perkembangan folikel dalam ovarium. Jika perkembangan folikel dalam ovarium terhambat, maka proses ovulasi juga akan terganggu. Dari struktur mikroanatomi uterus dapat diketahui mekanisme yang menghambat implantasi ditandai dengan ketidaksiapan uterus menerima zigot dengan indikator tebal lapisan miometrium dan endometrium uterus. Kontraksi uterus amat ditentukan oleh miometrium yang menyusun sebagian besar dari uterus (Djuanna dkk., 2005).

Berdasarkan uraian tersebut di atas yang menjadi masalah menarik untuk

diteliti adalah: bagaimana efek ekstrak methanol kulit kayu durian pada struktur mikroanatomi ovarium dan uterus mencit. Bahan untuk kontrasepsi yang baik adalah apabila dihentikan pemakaiannya maka efek dari bahan tersebut juga berangsur-angsur akan hilang, sehingga kondisi fisiologis pemakai kembali normal. Oleh karena itu perlu juga diteliti tentang bagaimana daya pulih/reversibilitas ovarium dan uterus hewan uji apabila pemberian ekstrak dihentikan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan kepastian ilmiah khasiat ekstrak kulit kayu durian sebagai bahan antifertilitas. Diharapkan penelitian ini dapat melengkapi informasi tentang kontrasepsi tradisional bagi wanita.

Bahan dan Metode

Setiap 25 gram serbuk kulit kayu durian diekstraksi dengan 200 ml methanol menggunakan *soxhlet* pada suhu 60-70 ^{o}C. Methanol diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 ^{o}C dan dilanjutkan di atas *waterbath* sehingga akhirnya didapatkan ekstrak seperti pasta.

Rancangan percobaan

Dua puluh empat ekor mencit betina strain Swiss umur 2,5 – 3 bulan dengan berat seragam dikelompokkan berdasarkan rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola faktorial. Perlakuan terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah ekstrak kulit kayu durian yang terdiri dari 4 taraf : kontrol, ekstrak konsentrasi 10% $^{b}/_{v}$, 15% $^{b}/_{v}$ dan 20% $^{b}/_{v}$. Faktor kedua adalah waktu pengamatan yang terdiri dari 2 taraf: 30 hari setelah pemberian ekstrak kulit kayu durian (pengamatan pertama), untuk melihat pengaruh ekstrak dan 30 hari setelah pemberian ekstrak dihentikan (pengamatan ke dua) untuk melihat daya reversibilitas sel, setiap perlakuan diulang 3 kali.

Cara perlakuan pada hewan uji

Pemilihan mencit dilakukan dengan mengulas vagina terlebih dahulu untuk mendapatkan mencit dengan fase estrus yang sama. Masing-masing ekstrak diberikan pada hewan uji peroral sehari sekali, setiap pagi. Setiap mencit diberi 0,5 ml/25-30g BB selama 30 hari. Setelah 30 hari perlakuan,

pemberian ekstrak dihentikan, pada hari ke 31 dilakukan pembedahan terhadap 4 kombinasi perlakuan untuk diambil ovarium dan uterusnya untuk dibuat sediaan mikroanatomi sedangkan 4 kombinasi perlakuan sisanya tetap dipelihara tetapi pemberian ekstrak dihentikan. 30 hari setelah pemberian ekstrak dihentikan, dilakukan pembedahan untuk melihat apakah terjadi pemulihan kembali pada struktur ovarium dan uterusnya. Pembuatan preparat menggunakan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksilin Eosin dengan ketebalan 4 µ.

Analisa Data

Sediaan mikroanatomi ovarium dan uterus diamati dibawah mikroskop perbesaran10x40. Parameter yang diamati untuk ovarium adalah perkembangan: folikel primer, folikel sekunder, dan folikel tersier. Untuk uterus ketebalan endometrium dan miometrium. Pengambilan data dilakukan dua tahap, yaitu 30 hari setelah pemberian ekstrak dan 30 hari setelah pemberian ekstrak dihentikan. Semua data dianalisis dengan menggunakan ANOVA $\alpha = 0.05$ untuk mengetahui adanya perbedaan nyata. Jika terdapat pengaruh interaksi antara 2 faktor yang dicobakan terhadap respon yang ingin diketahui, maka dilakukan pengujian lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT).

Hasil dan Pembahasan

Analisis jumlah sel folikel

Hasil rerata jumlah sel folikel primer, sekunder dan tersier setelah pemberian ekstrak kulit kayu durian selama 30 hari (1) dan setelah pemberian ekstrak dihentikan selama 30 hari (2) dapat dilihat pada tabel 1

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan konsentrasi ekstrak terhadap jumlah folikel primer, sekunder dan folikel tersier.

Analisis ketebalan endometrium dan miometrium uterus

Pengamatan terhadap ketebalan endometrium dan miometrium setelah pemberian ekstrak kulit kayu durian disajikan dalam tabel 2.

Tabel 1. Hasil rerata jumlah sel folikel primer, sekunder dan tersier setelah pemberian ekstrak kulit kayu durian selama 30 hari (waktu 1) dan setelah pemberian ekstrak dihentikan selama 30 hari (waktu 2).

Perlakuan	waktu	F. primer	F. sekunder	F. tersier
K	1	9,00 ± 1,5000[a]	5,16 ± 3,2145[a]	3,50 ± 0,8660[a]
	2	9,66 ± 4,3108 [a]	5,66 ± 2,5166 [a]	3,16 ± 1,0408 [a]
E1	1	3,66 ± 0,7637[b]	4,83 ± 0,2886[b]	2,33 ± 0,7637[b]
	2	3,66 ± 1,2583 [b]	7,33 ± 0,5773 [b]	2,50 ± 0,8660 [b]
E2	1	3,50 ± 0,8660[b]	5,83 ± 2,0207[b]	1,33 ± 0,2886[c]
	2	4,50 ± 1,3228 [b]	9,16 ± 1,8929 [b]	1,50 ± 0,0000 [c]
E3	1	3,66 ± 1,1547[b]	3,83 ± 0,7637[b]	0,50 ± 0,5000[c]
	2	3,83 ± 1,2583 [b]	3,83 ± 2,2949 [b]	0,83 ± 0,2886 [c]

Keterangan
1. n setiap kelompok perlakuan = 3
2. Angka diikuti oleh huruf yang sama adalah tidak beda nyata (α = 5%)
3. K = kontrol, E1 = konsentrasi ekstrak 10%, E2 = konsentrasi ekstrak 15%, E3 = konsentrasi ekstrak 20%.

Tabel 2. Hasil analisis rata-rata ketebalan endometrium dan miometrium setelah pemberian ekstrak 30 hari (Waktu 1) dan setelah pemberian ekstrak dihentikan selama 30 hari (Waktu 2)

Konsentrasi Ekstrak (b/v)	Endometrium (µm)		Miometrium (µm)	
	Waktu 1	Waktu 2	Waktu 1	Waktu 2
K	24,255 ± 2,95730[a]	25,8908 ± 13,85144[a]	25,1014 ± 1,81942[a]	25,4965 ± 13,55725[a]
E_1	15,9901 ± 3,26359[a]	21,9510 ± 8,24498[a]	18,7193 ± 3,46482[ab]	21,8185 ± 3,95972[ab]
E_2	14,0389 ± 5,56318[a]	17,4518 ± 5,77379[a]	16,5576 ± 3,03338[bc]	18,5494 ± 2,45842[bc]
E_3	13,0080 ± 5.40451[a]	15,8714 ± 10,14880[a]	16,0728 ± 1,90058[bc]	16,4356 ± 1,52081[bc]

Keterangan :
1. n setiap kelompok perlakuan = 3
2. Angka diikuti oleh huruf yang sama adalah tidak beda nyata (α = 5%)
3. K = kontrol, E1 = konsentrasi ekstrak 10%, E2 = konsentrasi ekstrak 15%, E3 = konsentrasi ekstrak 20%.

Hasil analisis ketebalan endometrium menunjukkan tidak terdapat pengaruh yang nyata dilihat dari perlakuan konsentrasi ekstrak, perlakuan penghentian pemberian ekstrak, maupun interaksi antara konsentrasi ekstrak dengan waktu penghentian pemberian ekstrak. Pada analisis ketebalan miometrium, terdapat pengaruh yang nyata pada perlakuan konsentrasi ekstrak.

Senyawa antifertilitas pada dasarnya bekerja dengan dua mekanisme, yaitu melalui efek sitotoksis dan melalui efek hormonal (Hediningrat, 2002). Senyawa bioaktif yang terkandung di dalam kulit kayu durian diduga bekerja melalui ke dua mekanisme tersebut.

Perkembangan sel folikel di ovarium

Belum diketahui dengan pasti bagaimana mekanisme kerja dari bahan aktif yang terkandung dalam kulit kayu durian tersebut, sehingga dapat menyebabkan penurunan jumlah folikel ovarium. Diduga penurunan jumlah folikel ovarium karena adanya bahan aktif dari ekstrak kulit kayu durian seperti saponin , tanin,triterpenoid, alkaloid dan flavonoid yang bersifat sitotoksik.

Efek sitotoksik terhadap folikel primer, folikel sekunder,dan folikel tersier diduga disebabkan oleh senyawa saponin dan tannin yang terdapat pada kulit kayu durian. De Padua dkk., (1978) menyatakan bahwa senyawa saponin merupakan larutan berbuih dan diklasifikasikan oleh struktur aglycon ke dalam triterpenoid dan steroid saponin. Kedua senyawa tersebut mempunyai efek anti inflamasi, analgesik dan sitotoksik. Senyawa triterpenoid merupakan glikosida yang dapat bersifat sitotoksik, yaitu dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan sel pada tingkat awal sel germinal (Adimuca, 1996) dengan mengganggu proses miotik sel. Tanin diketahui dapat menghambat pertumbuhan sel tumor (Robinson, 1991), sehingga diduga juga bersifat sitotoksik terhadap perkembangan folikel (folikulogenesis). Sel folikel berasal dari sel epitel germinal sehingga dengan adanya efek sitotoksik dari senyawa tersebut pada tingkat awal

sel germinal, maka akan menyebabkan sel tersebut selanjutnya tidak bisa berkembang menjadi sel folikel.

Kemungkinan lain adalah karena bahan aktif saponin tersebut mengganggu poros hipotalamus-hipofisis-ovarium. Sebagaimana sifat bahan antifertilitas lainnya, saponin bersifat esterogenik sehingga akan mempengaruhi siklus menstruasi dan perkembangan folikel. Ada dugaan bahwa kemungkinan saponin yang bersifat esterogenik ini turut aktif meningkatkan kadar estrogen efektif di dalam darah. Oleh karena tingginya kadar estrogen dalam darah dapat menghambat hipofisis dalam mensekresikan hormon gonadotropin (FSH) melalui umpan balik negatif. Menurunnya kadar FSH mengakibatkan terhambatnya perkembangan folikel di dalam ovarium.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan dari analisis ANAVA pada perlakuan waktu pembedahan, diduga karena tidak adanya penurunan estrogen dalam jumlah yang besar di dalam darah, sehingga menyebabkan sekresi FSH oleh hipotalamus masih terhambat, walaupun pemberian ekstrak kulit kayu durian dihentikan. Akibatnya sel folikel masih dalam jumlah yang relatif sama dengan saat pemberian ekstrak kulit kayu durian dihentikan.

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi jumlah folikel yang berkembang, antara lain spesies hewan, fase reproduksi, keadaan lingkungan, umur induk dan faktor genetik (Junqueira & Jose, 1995). Pernyataan tersebut diduga dapat dijadikan alasan mengapa tidak ada perbedaan jumlah folikel pada mencit walaupun pemberian ekstrak dihentikan. Hal itu disebabkan karena folikel yang telah mengalami kerusakan atau mengalami regenerasi tidak dapat mengalami perbaikan kembali.

Endometrium dan miometrium

Tidak adanya pengaruh terhadap endometrium diduga karena konsentrasi yang diberikan belum cukup untuk mengganggu dinding endometrium. Kandungan saponin dan flavonoid kulit kayu durian yang memiliki aktivitas mirip hormon estrogen belum dapat mengganggu keseimbangan hormonal

pada sistem reproduksi sebab estrogen dalam darah belum mencapai jumlah yang dapat menghambat sekresi FSH dan LH akibatnya perkembangan endometrium tidak terganggu. Selain itu tidak adanya pengaruh nyata pada ketebalan endometrium diduga disebabkan karena endometrium yang selalu mengalami perubahan secara siklis dimana terjadi peluruhan dan perbaikan jaringan endometrium selama pencekokan ekstrak, sehingga ekstrak tidak dapat mengganggu ketebalan endometrium secara efektif.

Adanya penurunan ketebalan miometrium, diduga hal ini karena adanya bahan aktif dari ekstrak kulit kayu durian seperti saponin, triterpenoid, tanin, alkaloid dan flavonoid yang pada dosis tertentu bersifat sitotoksik dalam sel.

De Padua *et al.* (1978) mengatakan bahwa senyawa saponin merupakan larutan berbuih dan merupakan steroid atau glikosida triterpenoid. Efek negatif dari saponin pada reproduksi hewan diketahui sebagai abortivum, menghambat pembentukan zigot dan anti implantasi (Stolzenberg & Parkhurst, 1976 dalam Francisi *et al*, 2002). Saponin diketahui dapat menekan proliferasi sel (Francisi *et al*, 2002) sehingga diduga menyebabkan menipisnya sel otot polos pada miometrium.

Gill *et al.* (2000) dan Juneja *et al*. (2001) dalam Wurlina (2003) menyatakan golongan flavonoid maupun alkaloid tanaman dapat menyebabkan gangguan pada membran sel dengan berakibat komponen penyusun membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan pengkerutan pada membran tersebut. Genistein dari golongan flavonoid diketahui dapat menghambat pembelahan/proliferasi sel yang diakibatkan oleh penghambatan pembentukan membran sel. Diduga membran sel otot polos miometrium mengalami pengkerutan sehingga miometrium menipis akibat flavonoid dan alkaloid yang terkandung pada ekstrak metanol kulit batang durian.

Menurut Nigg dan Seigler (1992) flavonoid maupun alkaloid pada tanaman

dapat menyebabkan reduksi pada tuba falopii dan sering dikaitkan dengan kejadian abortus pada golongan ruminansia dan syndroma infertilitas. Tanaman yang mengandung flavonoid maupun alkaloid mempunyai efek antifertilitas, efek ini diduga menyebabkan gangguan pada proses ovulasi dan fertilisasi. Dikatakan pemberian pakan pada ternak dengan waktu yang lama dapat menyebabkan atropi pada ovarium dan uterus sehingga dapat menyebabkan penurunan proses fertilisasi, gangguan pembelahan sel dan proses implantasi.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan dari analisis varian pada perlakuan penghentian pemberian ekstrak kulit batang durian untuk melihat daya pulih sel pada berbagai tingkat perlakuan konsentrasi diduga karena efek sitotoksik pada sel mengakibatkan sel memerlukan waktu lebih lama untuk reversibel.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak methanol kulit kayu durian dapat mengurangi jumlah sel folikel dan ketebalan miometrium, sehingga berpengaruh terhadap struktur mikroanatomi ovarium dan uterus mencit.
2. Ekstrak kulit kayu durian tidak berpengaruh terhadap perkembangan folikel ovarium, tebal miometrium dan endometrium setelah pemberian ekstrak dihentikan.

Saran

Berdasarkan hasil yang telah ada maka disini peneliti menyarankan agar :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit kayu durian terhadap konsentrasi hormon FSH dan LH.
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian

3. ekstrak kulit kayu durian terhadap endometrium dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui seberapa lama daya pulih uterus untuk kembali normal setelah pemberian ekstrak kulit kayu durian dihentikan.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiaya penelitian ini melalui dana Hibah Fundamental pada tahun anggaran 2007 .

DAFTAR PUSTAKA

Adimuca, C. 1996. Kemungkinan Pemanfaatan Ekstrak Buah Pare Sebagai Bahan Kontrasepsi Pria. Cermin Dunia Kedokteran 112 : 12-14

De Padua. 1978. Durio-a bibliographic review, Medical and Toxicological Properties.http://www.ipgri.cgiar.org/regions/apo/publications/durio/durio3.pdf. Diakses tanggal 26 September 2007.

Djuanna, Arifuddin ; A Husni Tanra, Syarifuddin Wahid, Biran Affandi. 2005. Pengaruh Teknik "Double Circle Stitching" dan atau Pemasangan Tourniquet terhadap Jumlah Perdarahan Uterus pada Tindakan Miomektomi Saat Seksio Sesa*r*. J Med Nus Vol. 24 No.2 April-Juni 2005

Francis1, George; Zohar Kerem2, Harinder P. S. Makkar3 and Klaus Becker1. 2002. *The biological action of saponins in animal systems: a review* http://www.iaea.org/programmes/nafa/d 3/public/saponin-03-bjn.pdf Diakses tanggal 29 Januari 2008

Hediningrat, S. 2002. Efek Pemberian Infusa Buah Manggis Muda (Garcinia mangostana Linn) Terhadap Spermatozoa mencit (Mus musculus). Majalah Andrologi Indonesia. 10(4):130

Heyne, K.1987. Tumbuhan Berguna Indonesia III. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan , Jakarta.

Hairani, B. 2006. Pengaruh Ekstrak Kulit Kayu Durian (Durio zibethinus Murr) Pada Jumlah Folikel De Graaf Mencit Betina (Mus musculus L) Galur Balb. Skripsi FMIPA UNLAM, Banjarbaru. (tidak dipublikasikan)

Junqueira, L. C., & Jose C. 1995. Histologi Dasar Edisi 3. EGC, Jakarta.

Nurliani, A. 2004. Gambaran Struktur Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Mencit setelah Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Durian. Skripsi. FMIPA Unlam. Banjarbaru (tidak dipublikasikan).

Nigg, H.N. and Seigler. 1992. Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture. Planum Press. New York.

Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB, Bandung

Rismunandar. 1989. *Mengenal Tanaman Buah-buahan*. Sinar Baru. Bandung.

Safitri, 2006. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Durian Terhadap Jumlah Folikel Atresia Pada Mencit Betina (Skripsi. FMIPA Unlam. Banjarbaru (tidak dipublikasikan).

Sangat, H.M., Erlvizal A.M.Z, dan Ellyn K.D. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

Tjitrosoepomo,G.1994. Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan. Gadjah Mada Press, Yogyakarta.

Tjitrosoepomo, G. 2002. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta). Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

Wurlina dan Wijayat S. 2002. Pengaruh Perasan Achyranthes aspera Linn terhadap Perkembangan Embrio (Cleavage) Mencit. http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit,%20Med,%20Eksakta%203-3%20Des%202002%20%5B09%5D.pdf
Diakses tanggal 29 Oktober 2007.

Winarno, M. W & Dian, S. 1997. Informasi Tanaman Obat Untuk Kontrasepsi Traisional. Departemen Kesehatan RI, Jakarta

Zakiah,2004. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Kayu Durian Pada Morfologi dan Jumlah Spermatozoa mencit. Skripsi Program Strata-1, Fakultas MIPA UNLAM Banjarbaru (tidak dipublikasikan)