

KEGIATAN I

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PELAWAN (*Tristaniaopsis obovata* R.Br) TERHADAP ORGAN UTERUS TIKUS BETINA SETELAH MELAHIRKAN

PENDAHULUAN

Uterus adalah organ reproduksi betina yang penting pada kebanyakan mamalia, termasuk manusia untuk proses terjadinya implantasi hasil fertilisasi sel telur betina dan jantan dan tempat perkembangan embrio sampai menjadi janin. Uterus manusia adalah organ yang memiliki otot yang kuat dengan ukuran panjang 7 cm, lebar 4 cm, dan ketebalan 2,5 cm. Dari jaringan histologis, uterus terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan pertama adalah serosa atau peritoneum viseral yang terdiri dari sel mesotelial; lapisan kedua adalah lapisan miometrium yang merupakan lapisan muskular paling tebal terdiri dari serat otot polos yang dipisahkan oleh kolagen dan ketiga adalah lapisan endometrium yang terdiri atas epitel dan lamina propia yang mengandung kelenjar tubular simpleks atau kelenjar uteria. (Junquera 2007).

Pada manusia untuk wanita hamil, hampir seluruh tubuh wanita mengalami perubahan, terutama pada alat reproduksinya yaitu uterus dan saluran reproduksi lainnya. Uterus akan mengalami pertumbuhan yang fenomenal pada trimester pertama berlanjut sebagai respon terhadap stimulus kadar estrogen dan progesteron yang tinggi (Bobak 2004). Ukuran uterus akan membesar akibat hipertopi dan hiperplasia otot polos, serabut-serabut kolagennya menjadi higroskopis agar uterus mampu mengakomodasi pertumbuhan janin. Ukuran uterus pada kehamilan cukup bulan: berkisar 30 x 25 x 20 cm pada ketebalannya (Mochtar 1998).

Setelah proses persalinan, uterus akan kembali ke bentuk semula seperti saat sebelum hamil. Proses ini disebut dengan proses involusi. Proses ini dimulai segera setelah plasenta keluar akibat kontraksi otot-otot polos (Bobak 2004). Setelah melahirkan di dalam uterus masih ada sisa plasenta (fragmen atau membran) bayi yang masih menempel dan darah kotor yang harus dikeluarkan. Darah kotor ini akan menyebabkan infeksi karena area yang luka tersebut terpapar bakteri. Maka untuk membersihkan darah kotor tersebut, biasanya tindakan



pengobatan tradisional yang dilakukan oleh dukun-dukun beranak dengan menggunakan pengobatan herbal, yaitu dengan ramuan-ramuan tradisional seperti jamu-jamu, rebusan akar pohon atau dengan rebusan daun pelawan yang sering digunakan oleh dukun beranak di Provinsi Riau.

Selama ini belum ada penelitian yang dilakukan mengenai kemampuan daun pelawan yang dapat mengobati dan memperbaiki kondisi uterus pasca melahirkan menjadi kondisi normal. Berdasarkan hal tersebut maka menarik jika dikaji lebih dalam lagi mengenai kasian daun pelawan ini. Adapun, dugaan sementara kemungkinan ekstrak daun pelawan (*T. obovata* R.Br) ini yang digunakan sebagai obat herbal pasca melahirkan dapat memperbaiki kondisi uterus.

Pada wanita yang baru melahirkan kondisi uterus masih belum kembali keukuran normal dan masih ada darah kotor yang harus dikeluarkan dari uterus. Biasanya bidan atau dokter bersalin menganjurkan untuk beristirahat dan memakan makanan yang mengandung gizi tinggi. Namun hal ini membutuhkan waktu 40 hari untuk memperbaiki kondisi uterus yang rusak karena pecahnya pembuluh darah yang terdapat dilapisan endometrium. Penggunaan pelawan oleh dukun beranak diketahui dapat memperbaiki kondisi uterus dan mengembalikan kondisi lapisan endometrium uterus dari pembuluh darah seperti semula (pembuluh darah normal) dalam waktu yang lebih cepat. Senyawa golongan steroid bermanfaat dalam pembentukan hormon estrogen pada wanita yang berpengaruh pada sirkulasi darah dalam uterus sehingga berkhasiat untuk membantu proses pemuliharaan lapisan endometrium menjadi normal kembali setelah melahirkan (Manjang 2001). Oleh karena itu perlu dibuktikan secara ilmiah apakah daun pelawan memberikan pengaruh pada struktur uterus pasca melahirkan, terutama pada lapisan endometrium.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kondisi jaringan uterus tikus betina setelah melahirkan yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun pelawan, khususnya pada jaringan epitel dan kelenjar uteri.

Luaran



Dari kegiatan ini diharapkan dapat dihasilkan draft artikel untuk publikasi di berkala nasional atau internasional dan meluluskan mahasiswa sebagai sarjana (S1) Biologi.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2015 sampai dengan Nopember 2015. Penelitian dilakukan Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Mikrotehnik Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

Bahan dan Alat

Hewan yang digunakan sebagai model dalam penelitian ini adalah tikus betina dari spesies *Rattus norvegicus* galur Sprague-Dawley berumur 3,5-4 bulan, dengan bobot badan berkisar antara 200-250 gram. Bahan yang digunakan adalah Hewan uji, daun pelawan, etanol absolute 95%, pakan pellet Peralatan yang digunakan adalah mikroskop, *cotton bud*, timbangan analitik, timbangan tikus, Alat bedah, kandang plastic ukuran 30 x 20 x 10 cm³, alas kandang (Sekam kayu), tutup kandang (kawat berdiameter 0,5 cm), *rotary evaporator* botol film botol minuman berpipet, jarum cekok atau sonde, dan kamera digital.

Rancangan Percobaan

Penelitian bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan acak Kelompok (RAK) yang terdiri atas 2 perlakuan. Setiap perlakuan terdiri atas 15 ulangan.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Simplisia

Semua daun tanaman pelawan (daun ke 3,4 dan 5) yang di uji coba dibersihkan dari kotoran yang menempel, kemudian dibilas dengan air mengalir hingga bersih lalu ditiriskan, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup plastik hitam. Setelah kering, sampel dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin masih tertinggal saat pencucian. Setelah bersih dari kotoran, dilakukan penyerbukan dan



pengayakan menggunakan ayakan sehingga didapat serbuk daun, kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Ditjen POM 2000).

Pembuatan Ekstrak Etanol

Pembuatan ekstrak etanol daun dilakukan dengan menambahkan etanol absolute 95% ke dalam 100 g serbuk daun hingga seluruh sampel terendam dan pelarut diletakkan setinggi kurang lebih 2 cm di atas permukaan serbuk. Toples ditutup dan direndam selama 2 × 24 jam dan dilakukan pengadukan sesekali kemudian ditampung dalam wadah dan diganti pelarutnya setiap hari. Hasil dari maserasi diuapkan dengan alat *rotary evaporator* (40°C dan 50 rpm) hingga didapat ekstrak kering dari daun (Ditjen POM 2000).

Penyiapan Hewan

Tiga puluh ekor tikus betina diadaptasikan terlebih dahulu dalam kandang individu. Tikus ditempatkan dalam kandang berukuran 34 x 25 x 12 cm per ekor yang beralaskan sekam dan bertutupkan kawat. Sekam diganti seminggu sekali. Tikus diberi makan secara teratur dengan kebutuhan diet yang terjaga (*feed intake* diasumsikan sama), minum *ad libitum*, dan ditempatkan pada ruangan dengan pencahayaan selama 12 jam (06.00-18.00), suhu ruangan 20-25°C dengan kelembaban relatif 40-50% sebagai kondisi umumnya.

Pembuntingan Hewan

Tikus jantan dan betina dimasukkan ke dalam satu kandang. Proses perkawinan biasanya terjadi malam hari. Untuk mengetahui terjadinya perkawinan dilakukan pemeriksaan ulas vagina. Terjadinya perkawinan diindikasikan dengan ditemukannya spermatozoa pada sediaan ulas vagina. Hari ditemukannya spermatozoa pada sediaan ulas vagina ditetapkan sebagai hari pertama kebuntingan (Turner & Bagnara 1976).

Pengelompokan Hewan

Hewan percobaan terdiri dari 30 ekor tikus betina bunting yang dibagi dalam 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok control (KK) dan kelompok



perlakuan ekstrak etanol daun pelawan (KP). Masing-masing kelompok terdiri dari 15 ekor tikus bunting. Kemudian setiap kelompok perlakuan dibagi lagi menjadi 3 waktu pengambilan sampel yaitu pada hari ke 3 postpartus, hari ke 5 postpartus, dan hari ke 7 postpartus (Roosita *et al.* 2003).

Perlakuan *In Vivo*

Penelitian menggunakan 2 perlakuan dengan 15 ulangan. Perlakuan yang dimaksud adalah:

- a. Kelompok kontrol (KK), yaitu kelompok tikus betina yang tidak diberi perlakuan.
- b. Kelompok perlakuan (KP), yaitu kelompok tikus betina yang diberi ekstrak etanol daun pelawan dengan dosis 100 mg/kg bobot badan.

Perlakuan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun pelawan peroral yang diberikan dengan cara dicekok pada saat sehari setelah tikus betina melahirkan. Pemberian Perlakuan dilaksanakan selama 7 hari.

Pengamatan dan Pengambilan Sampel

Pada hari pertama postpartus dilakukan penimbangan bobot badan tikus betina. Kemudian pada hari ke 3, 5, dan 7 postpartus dilakukan penimbangan hewan uji, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil uterusnya. Selanjutnya dibuat preparat uterus dengan bahan fiksatif berupa larutan Bouin's dan pewarnaan dengan Hematoxylin dan eosin (Humason 1967). Uterus diiris secara melintang. Pembuatan preparat histopatologi yaitu:

1. Sampel organ difiksasi di dalam formalin 10% selama 10 jam
2. Sampel didehidrasi di dalam alkohol bertingkat mulai dari alkohol 70%, 80%, 90% (selama 9 jam) dan dilanjutkan dengan alkohol absolut I, II, III masing-masing 1 jam
3. Tahap clearing dengan xylol I, II, III masing-masing 1 jam
4. Sampel diinfiltrasi dalam campuran xylol dan parafin dengan perbandingan volume:
 - a. I = 20 ml : 20 ml (30 menit)
 - b. II = 30 ml : 10 ml (30 menit)



- c. III = 40 ml total parafin (30 menit)
5. Tahap embedding, yaitu penanaman jaringan dalam blok parafin dan dituang parafin cair hingga memadat
6. Selanjutnya tahap sectioning, yaitu pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-4 μm
7. Affiksing yaitu penempelan potongan jaringan ke kaca objek yang diberi glyserin-albumin dan dikeringkan di hotplate 40°C
8. Staining, yaitu Pewarnaan Hematoksin-eosin (HE), sampel dimasukkan ke xylol I, II, III, alkohol absolut 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, aquades dan larutan hematoksin masing-masing selama 2 menit
9. Sampel dicuci di air mengalir hingga jernih selama 10 menit
10. Sampel dimasukkan ke alkohol berseri 30%, 40%, 50%, 60%, 70% 2 kali celupan, dan direndam dalam larutan eosin selama 5 menit
11. Sampel dimasukkan ke alkohol berseri 70%, 80%, 90%, alkohol absolut, xylol I, II, III masing-masing 2 kali celupan
12. Mounting, yaitu penutupan sampel dengan cover glass yang direkatkan dengan Canada balsam

Selanjutnya preparat uterus diamati dengan mikroskop cahaya dan dilakukan pengukuran dengan micrometer untuk mengukur tebal lapisan mukosa, yaitu area endometrium.

Analisis Data

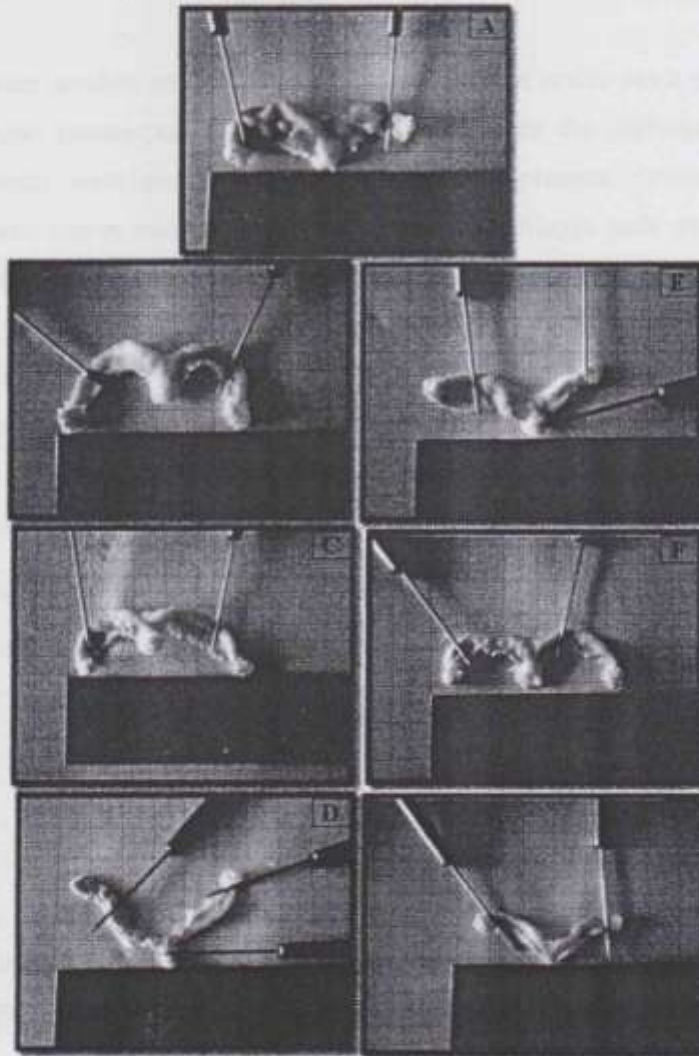
Data penelitian dianalisis secara kualitatif yaitu melihat struktur jaringan uterus, terutama pada lapisan endometrium (lapisan epitel, lamina propria dan kelenjar uteria) dan miometrium (lapisan otot polos). dan kuantitatif yaitu mengukur area endometrium, kemudian data kuantitatif dianalisis menggunakan metode ANOVA untuk menentukan perbedaan yang nyata atau tidak diantara kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan $\alpha : 0.05$. Nilai probabilitas (p) < 0.05 diterima sebagai hal yang berbeda nyata, sedangkan apabila (p) > 0.05 maka diterima sebagai hal yang tidak berbeda nyata (Mattjik and Sumertajaya 2000)



HASIL DAN PEMBAHASAN

Uterus pada tikus betina pada penelitian ini berbentuk bikornuata yaitu memiliki 2 tanduk kanan dan kiri (kornu), batang (korpus) dan leher (serviks). Uterus memiliki tiga lapisan pada dinding kornu dan korpus yaitu lapisan bagian dalam disebut endometrium (mukosa), lapisan bagian tengah disebut myometrium (muskularis), dan lapisan bagian luar disebut perimetrium (serosa).

Gambaran makroskopis uterus tikus pada kelompok kontrol dan perlakuan dari hari ke-0, 3, 5, dan 7 postpartus dapat dilihat pada Gambar 1.1



Gambar 1.1 Morfologi uterus tikus (A) Kontrol hari ke-0. (B) Kontrol hari ke-3. (C) Kontrol hari ke-5. (D) Kontrol hari ke-7. (E) Ekstrak hari ke-3. (F) Ekstrak hari ke-5. (G) Ekstrak hari ke-7.

Pada Gambar 1.1 terlihat bahwa terjadi perubahan ukuran uterus dari hari ke-0 postpartus yang terus mengalami penyusutan ukuran sampai hari pengamatan ke-7 postpartus. Pada hari ke-3 postpartus dibandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terlihat dari pengamatan makroskopis bahwa uterus kelompok perlakuan lebih kecil ukurannya dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa proses involusi pada kelompok perlakuan cenderung lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Demikian juga untuk hari ke-5 dan ke-7 postpartus juga menunjukkan hal yang sama.

Proses involusi uterus adalah proses reorganisasi uterus pasca melahirkan yang meliputi proses pengeluaran desidua/endometrium dan perbaikan kondisi lapisan uterus serta pemulihan tempat perlekatan plasenta. Involusi uterus menyebabkan uterus mengalami penyusutan ukuran, hingga pada akhir proses uterus kembali ke bentuk dan ukuran normal seperti sebelum hamil. Proses ini terjadi karena pengaruh dari kontraksi otot-otot polos uterus. (Varney 2007; Ambarwati 2009).

Hasil pengukuran ketebalan lapisan endometrium dapat dilihat pada Tabel 1.1.

Tabel 1.1. Rerata tebal endometrium uterus pada hari ke-3, 5, dan 7 postpartus

Kelompok	Rerata Tebal Endometrium Uterus (gram)			
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7
Kontrol (P0)	274.17 ± 25.29	192.5 ± 10.90	117.5 ± 6.61	115 ± 4.33
E-EtDP (P1)	-	171.67 ± 2.87	115.83 ± 3.82	114.17 ± 1.44

Selanjutnya dari hasil rerata tebal endometrium uterus dilakukan dianalisis sidik ragam menggunakan ANOVA. Hasil analisis sidik ragam ditampilkan pada Tabel 1.2.

Tabel 1.2. Analisis sidik ragam dengan ANOVA antara tebal endometrium uterus kelompok Kontrol dan ekstrak

Hari Postpartus	Sig.
Hari ke-3 postpartus	0.120*
Hari ke-5 postpartus	0.789*
Hari ke-7 postpartus	0.742*

Keterangan: Sig. = uji kemaknaan berdasarkan Analysis of variance (ANOVA);
 *Perbedaan pengaruh dikatakan tidak signifikan karena nilai Sig. > 0.05

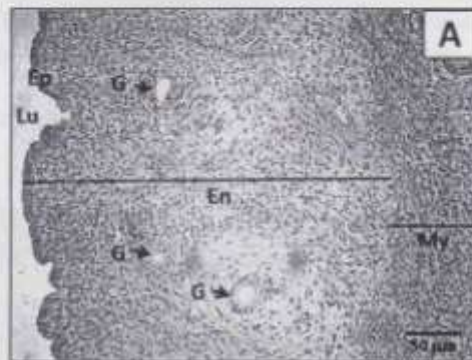
Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata tebal endometrium uterus kelompok kontrol pada hari ke-5 dan ke-7 postpartus tidak berbeda nyata dengan kelompok normal. Dari hasil penelitian yang terlihat pada Tabel 4.3, rata-rata tebal endometrium uterus kelompok kontrol pada hari ke-5 postpartus tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan rata-rata tebal endometrium uterus pada hari ke-7 postpartus. Pada kelompok kontrol, involusi uterus secara fisiologis sudah terjadi dengan sempurna pada hari ke-5 postpartus.

Rerata tebal endometrium kelompok kontrol (P0) dibandingkan dengan kelompok perlakuan (P1) terlihat bahwa pada kelompok perlakuan terjadi penurunan ketebalan endometrium yang sedikit lebih cepat dari kelompok kontrol (P0). Hal ini terlihat pada data tebal endometrium uterus hari ke-3, 5, dan 7 postpartus. Walaupun tidak terdapat perbedaan signifikan, akan tetapi hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh ekstrak etanol daun pelawan dalam mengurangi tebal endometrium tikus melalui proses involusi uterus yang cenderung lebih cepat.

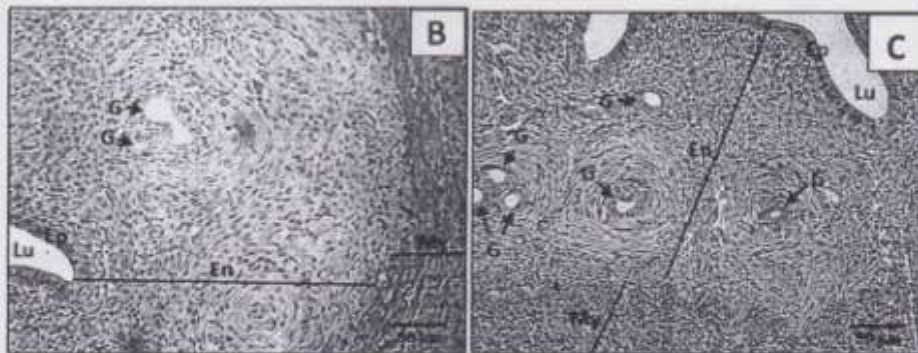
Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Darsono *et al.* (2014) tentang efek pemberian kombinasi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dan domperidon pada uterus tikus betina postpartus ternyata ekstrak tersebut dapat mempercepat proses involusi uterus. Suprayogi (2000) melaporkan bahwa daun katuk mengandung senyawa steroid. Senyawa steroid juga terdapat pada ekstrak etanol daun pelawan (Sartika 2013). Kandungan senyawa flavonoid dan

steroid diketahui dapat mempengaruhi reproduksi pada tikus bunting (Satyaningtjas *et. al.* 2014).

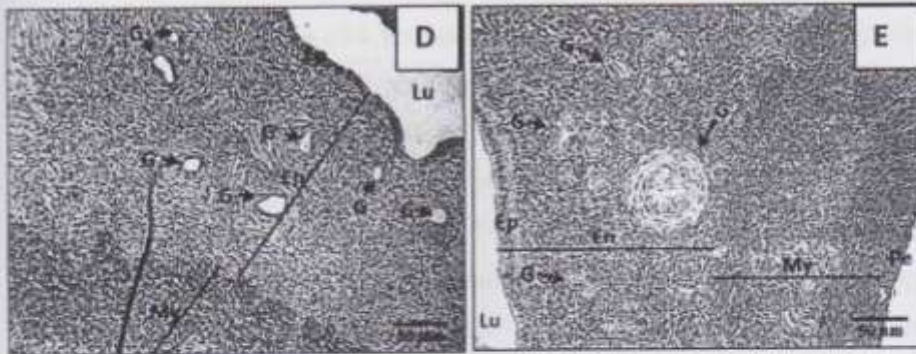
Gambaran histologi uterus tikus dilihat untuk mengetahui perubahan ketebalan endometrium uterus dari hari ke-0, 3, 5, dan 7 postpartus. Hasil pengamatan makroskopis dibandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan untuk melihat perubahan yang terjadi. Gambaran histologi uterus tikus dapat dilihat pada Gambar 1.2, 1.3, 1.4, dan 1.5.



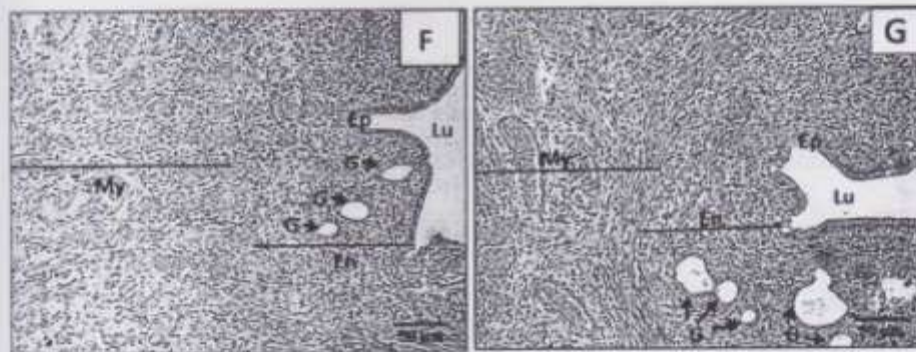
Gambar 1.2 Penampang melintang uterus tikus. Perbesaran 100x. (A) Kontrol hari ke-0. Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Ket. (Lu) lumen, (En) endometrium, (My) myometrium, (Ep) epitel permukaan, (G) kelenjar endometrium.



Gambar 1.3. Penampang melintang uterus tikus. Perbesaran 100x. (B) Kontrol hari ke-3. (C) Ekstrak etanol hari ke-3. Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Ket. (Lu) lumen, (En) endometrium, (My) myometrium, (Ep) epitel permukaan, (G) kelenjar endometrium.



Gambar 1.4 Penampang melintang uterus tikus. Perbesaran 100x. (D). Kontrol hari ke-5. (E). Ekstrak etanol hari ke-5. Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Ket. (Lu) lumen, (En) endometrium, (My) myometrium, (Pe) perimetrium, (Ep) epitel permukaan, (G) kelenjar endometrium.



Gambar 1.5 Penampang melintang uterus tikus. Perbesaran 100x. (F). Kontrol hari ke-7. (G) Ekstrak etanol hari ke-7. Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Ket. (Lu) lumen, (En) endometrium, (My) myometrium, (Ep) epitel permukaan, (G) kelenjar endometrium.

Hasil pengukuran area endometrium uterus pada kontrol dan perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan, tetapi dapat memberikan perubahan pada struktur jaringan endometrium uterus. Pada kelenjar uteri terjadi penurunan sel kelenjar sehingga terlihat area endometrium pada perlakuan lebih tipis dari kontrol, dimana diduga kondisi ketebalan endometrium uterus merupakan pengaruh perubahan hormon reproduksi, yaitu hormon esterogen (Dellmann & Brown 1992).

Juga, kemungkinan efek hormon oksitosin dapat mempengaruhi terjadinya kontraksi uterus. Proses kontraksi ini memiliki peranan yang sangat penting dalam involusi uterus. Upaya dalam menjaga dan mempertahankan kontraksi uterus selama periode postpartus sangat penting agar involusi uterus dapat berjalan dengan cepat dan sempurna. Proses kontraksi dan retraksi otot uterus akan membantu meminimalisir suplai darah menuju uterus sehingga akan cepat mengobati bekas luka tempat implan dan mengurangi pendarahan serta mempercepat keluarnya lokia (Sulistiyawati 2009).

KESIMPULAN

Perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun Pelawan pada tikus betina postpartus ternyata menyebabkan perubahan struktur jaringan uterus, terutama pada lapisan endometrium, walaupun dengan uji sidik ragam Anova tidak terjadi perbedaan signifikan. Diduga, kandungan ekstrak etanol daun Pelawan yang mengandung steroid mempengaruhi produksi hormon reproduksi tikus betina yaitu hormon estrogen yang menyebabkan proses pemulihan lapisan endometrium lebih cepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati RE, Wulandari D. 2009. *Asuhan Kebidanan Nifas*. Jogjakarta: Mitra Cendika Press.
- Bobak, 2004. *Keperawatan Maternitas*. Ed 4. Alih bahasa Lawdermik, dkk Jakarta : EGC.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dellmann HD, Brown EM. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II. Third Edition*. Alih bahasa : R.Hartono. Jakarta: Penerbit UI.
- Junqueira, LC. 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik. Histology Dasar: teks dan atlas*. Ed10. Jakarta : EGC
- Kimball, John W. 1991. *Biologi Edisi ke 5. Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Manjang. 2001. *Survey dan profil fitokimia tumbuhan Sumbar, kajian terpenoid dan steroid*. makalah Workshop peningkatan SDM untuk pemanfaatan



SDA hayati dan rekayasa bioteknologi, FMIPA Unand-Dikti Depdiknas, Padang, 8-9.

Matjik, A dan Sumetajaya, M. 2000. *Perencanaan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Bogor: IPB Press.

Mochtar, Rustam. 1998. *Sinopsis Obstetri: Obstetri Fisiologi, Obstetri Patologi*. Jakarta: EGC.

Roosita K *et al.* 2003. Efek Jamu Bersalin *Galohgor* Terhadap Involusi Uterus dan Gambaran Darah Tikus (*Rattus sp.*). *Media Gizi dan Keluarga* 27: 52-57.

Suprayogi A. 2000. Studies of the biological effect of *Sauropus androgynous* (L.)Merr. : Effect of milk production and the possibilities of induced pulmonary Disorder in lactating sheep. Germany: Cuvillier Verlag Gottingen.

Sulistiyawati A. 2009. *Buku Ajar Asuhan Kebidanan pada Ibu Nifas*. Yogyakarta : Andi.

Sartika , Dewi. 2013. Uji In Vitro Tanaman Potensial Antirolithiasis. Skripsi. UR. Pekanbaru.

Satyaningtjas *et al.* 2014. Kinerja Reproduksi Tikus Bunting Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng. *Jurnal Kedokteran Hewan* 8:35-37.

Setyowati EP, Sudarsono, Wahyuono S. 2005. Jaspamide: Identifikasi struktur senyawa sitotoksik dan fungisid dari spon *stylissa flabelliformis*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16(1): 12-19.

Toelihere, M.R. 1979. *Fisiologo Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung

Turner CD dan Bagnara JJ. 1976. *Endokrinologi Umum*. Harjoso, penerjemah. Surabaya: Airlangga University Press.

Utama, EP. 2002. Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang pelawan (*Tristania whitiana* Griff.). Skripsi. IPB. Bogor.

Varney H. 2007. *Buku Ajar Asuhan Kebidanan*. Ed 4. Jakarta: EGC.

