

# UJI EKSTRAK ETANOL DAUN PEGAGAN (*Centellaasiatica* L. Urban) TERHADAP FERTILITAS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*L.) BETINA PADA TAHAP PRAIMPLANTASI

Yassir Dzulfiqor\*, Budhi Akbar, Susilo

Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka.

\*Corresponding author: aru\_palaca@yahoo.com

## Abstract

This study aims to test extract ethanol of leaves Pennywort (*Centellaasiatica* L. Urban) toward fertilitation of female white mice Sprague Dawley strain at the praimplantation. Parameters used implantation (IM), loss of gestation (KGE) and death of pasca-implantation (KPI) after 15 days pregnant. This research conducted from April 2014 in the biology laboratory of UHAMKA, East Jakarta. The sample used 24 rat that divided into four treatment, namely: control(D0), 125(D1), 150(D2 and 175 mgkg<sup>-1</sup> bw(D3)with Complete Random Design. The results of data by paired samples test analysis obtained significant differences ( $p < 0,05$ ) between the control group ( D0 ) with the doses 150 mgkg<sup>-1</sup> bb (D2) on the decline IM and an increase KGE. On the percentage the average KPI obtained influence is no real different ( $p > 0.05$ ) in all treatment, but a tendency increased the KPI average percentage in the doses 175 mgkg<sup>-1</sup> bw (D3). The conclusion of this research is the ethanol extract of leaves Pennywort can reduce the percentage of the average number on implantation (IM) and increase the loss of gestation (KGE) with an effective dose of 150 mgkg<sup>-1</sup> bw. Then, the tendency to raise the post-death implantation (KPI) early stage at a dose of 175 mgkg<sup>-1</sup> bw.

**Keywords:** Pennywort, fertility, white female rats, preimplantation

---

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Keanekaragaman hayati tersebut dapat digolongkan menjadi beberapa jenis, diantaranya tumbuhan perdu, pohon, tanaman obat atau herbal dan rempah. Beberapa dari tanaman herbal sudah banyak dikenal oleh masyarakat untuk dikonsumsi, salah satunya adalah pegagan. Pegagan dengan nama latin *Centella asiatica* (L.) Urban termasuk ke dalam famili Apiaceae (Tjitrosoepomo, 2009). Seluruh bagian dari pegagan dapat digunakan sebagai pengobatan herbal, salah satunya dapat digunakan untuk pengobatan rematik dan tekanan darah tinggi serta dikonsumsi sebagai lalapan. Penelitian Kishida *et al.*, (2009) dari *University of Japan* yang bekerja sama dengan Universitas Brawijaya menyatakan dalam penelitiannya bahwa senyawa aktif CeA yang dihasilkan dari ekstrak daun

pegagan dapat digunakan sebagai alternatif agen anti-inflamasi untuk mencegah dan mengobati penyakit *neurodegenerative*, melindungi kehilangan memori dan fungsi kognitif. Pegagan pun dipercaya dapat berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit lepra, menambah nafsu makan, mengurangi kelelahan, meningkatkan ketahanan tubuh, obat demam, darah tinggi, wasir, dan memperlancar pembuangan air seni (Suriana & Shobariani, 2013).

Pegagan memiliki dampak negatif bila dikonsumsi berlebih atau tidak sesuai takaran, yakni dapat menurunkan fertilitas baik pada jantan dan betina. Penelitian Masrianih *et al.*, (2013) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan pada konsentrasi 4% menunjukkan terjadi peningkatan motilitas dari spermatozoa, sementara pada konsentrasi 16% menunjukkan terjadi penurunan motilitas spermatozoa.

Hal ini diduga karena pegagan memiliki sifat narkotis sehingga dalam pemakaiannya harus sangat berhati-hati. Dugaan ini diperkuat oleh penelitian Kristanti (2009) dimana pemberian ekstrak daun pegagan dosis tertinggi  $275 \text{ mgkg}^{-1}$  bb paling efektif dalam menurunkan jumlah folikel primer, sekunder, tertier, dan *de graff*. Pada penelitian Fitriyah (2009), dalam penelitian yang serupa dengan menggunakan dosis lebih rendah ( $75 \text{ mgkg}^{-1}$  bb) pegagan efektif dalam meningkatkan jumlah folikel primer, sekunder, dan tertier. Sedangkan dosis  $100 \text{ mgkg}^{-1}$  bb dan  $125 \text{ mgkg}^{-1}$  bb cenderung menurunkan jumlah folikel primer, sekunder, tertier, dan *de Graff*.

Berdasarkan uraian tersebut, konsumsi pegagan dapat menurunkan fertilitas dan mengganggu kehamilan. Untuk menguji hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk melihat sejauh mana pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pagagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) pada tahap praimplantasi terhadap fertilitas tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) betina galur Sprague Dawley.

## MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental (*Experimental Research*) menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kelompok perlakuan yaitu, satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan yang diberi intervensi ekstrak etanol daun pegagan.

Pada penelitian ini dilakukan dua tahapan, yaitu tahap persiapan dan tahap intervensi/perlakuan. Pada tahap persiapan, menyiapkan hewan uji (tikus putih betina) dengan usia 2-3 bulan dan berat 200-250 g sebanyak 24 ekor. Kemudian, dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu sebelum dilakukan pencampuran tikus untuk mendapatkan tikus betina bunting. Setelah mendapatkan tikus betina yang bunting, maka siap dilaku-

kannya tahap intervensi. Kemudian, melakukan pembuatan ekstrak etanol pegagan dengan dosis yang digunakan antara lain:  $125 \text{ mgkg}^{-1}$  bb,  $150 \text{ mgkg}^{-1}$  bb, dan  $175 \text{ mgkg}^{-1}$  bb.

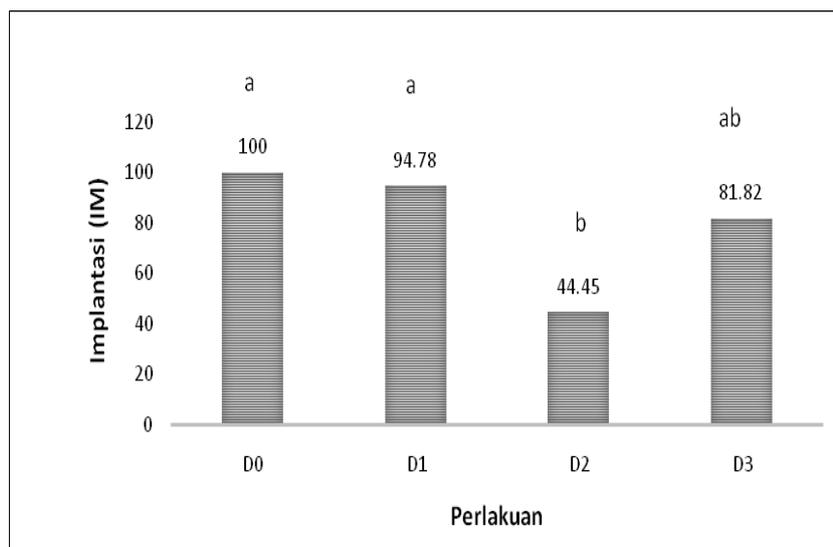
Pada tahap intervensi/perlakuan, tikus betina yang bunting diberikan perlakuan ekstrak etanol daun pegagan dengan cara pencekokkan pada kebuntingan tikus hari ke-1 hingga hari ke-4 dilakukan secara berulang. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap akan diberi pencekokan. Setelah perlakuan selama 4 hari awal kebuntingan, setelah 15 hari kebuntingan dilakukan pembedahan dengan mengambil ovari dan uterus tikus untuk mengamati efeknya terhadap beberapa parameter, antara lain jumlah implantasi, kehilangan gestasi, dan kematian pascaimplantasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Jumlah Implantasi.

Data rata-rata jumlah implantasi setelah pemberian ekstrak etanol daun pegagan pada tahap praimplantasi (hari ke-1 hingga ke-4) terhadap fertilitas tikus betina, dapat dilihat pada gambar 1.

Dari gambar 1 di atas, terlihat bahwa persentase rata-rata implantasi pada kelompok perlakuan mengalami penurunan dibandingkan kelompok kontrol (D0) 100%, dengan persentase rata-rata implantasi (D1) 94,78%, (D2) 44,44%, dan (D3) 81,82%. Persentase rata-rata jumlah implantasi pada kelompok D2 (44,44%) lebih rendah dibanding pada kelompok D3 (81,82%), D1 (94,78%), dan kontrol D0 (100%). Berdasarkan uji statistik dengan *Paired samples test* terhadap parameter IM menunjukkan nilai sig. antar pasangan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.



**Gambar 1.** Persentase rata-rata jumlah implantasi setelah pemberian ekstrak etanol daun pegagan. (D0: tanpa perlakuan dan D1, D2, D3: pencekokkan ekstrak etanol daun pegagan berturut-turut dengan dosis  $125 \text{ mgkg}^{-1} \text{ bb}$ ,  $150 \text{ mgkg}^{-1} \text{ bb}$ ,  $175 \text{ mgkg}^{-1} \text{ bb}$ . Superscript dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%).

**Tabel 1.** Nilai *sig.* antar pasangan kelompok perlakuan pada parameter IM

| No. | Pasangan | <i>Sig.</i> (2-tailed) |
|-----|----------|------------------------|
| 1.  | D0 – D1  | 0,218                  |
| 2.  | D0 – D2  | 0,040                  |
| 3.  | D0 – D3  | 0,319                  |
| 4.  | D1 – D2  | 0,038                  |
| 5.  | D1 – D3  | 0,370                  |
| 6.  | D2 – D3  | 0,120                  |

Dari tabel 1 di atas, memperlihatkan beda yang sangat signifikan (*sig.* 5%) pada pasangan no. 2 dan no. 4. Pada pasangan no. 2 (D0-D2) memiliki nilai *sig.* 0,040 ( $p < 0,05$ ), yang artinya D0 dengan D2 sangat berbeda nyata. Begitupun pada pasangan no. 4 (D1-D2) memiliki nilai *sig.* 0,038 ( $p < 0,05$ ). Analisis statistik menunjukkan pemberian ekstrak etanol pegagan dengan dosis D2 ( $150 \text{ mg/kg bb}$ ) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap persentase rata-rata jumlah implantasi dibanding pemberian ekstrak dosis D1 dan D0.

Hasil pengujian statistik parametrik dengan Uji t sepasang menunjukkan bahwa data persentase IM pada tikus betina yang dicekok ekstrak etanol daun pegagan pada tahap praimplantasi dosis (D2)  $150 \text{ mgkg}^{-1} \text{ bb}$

dan (D3)  $175 \text{ mgkg}^{-1} \text{ bb}$  sangat berbeda nyata dengan kelompok kontrol (D0) dan (D1)  $125 \text{ mg/kg bb}$ . Hal ini kemungkinan disebabkan pengaruh senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman pegagan seperti triterpenoid, saponin dan flavonoid yang dapat mempengaruhi keberhasilan proses implantasi embrio pada uterus. Penjelasan pengaruh dari senyawa aktif dalam pegagan secara rinci sebagai berikut.

Senyawa glikosida triterpenoid, yaitu: asiaticosida dan madecosida, kedua senyawa tersebut berperan dalam memperbaiki sel-sel granulosa pada ovarium sehingga menghasilkan inhibidin, dimana inhibidin ini dapat menghambat sekresi FSH dan LH (Triyanti 2006 dalam Kristanti 2010). Pada saat kehamilan sekresi dari FSH dan LH dihambat

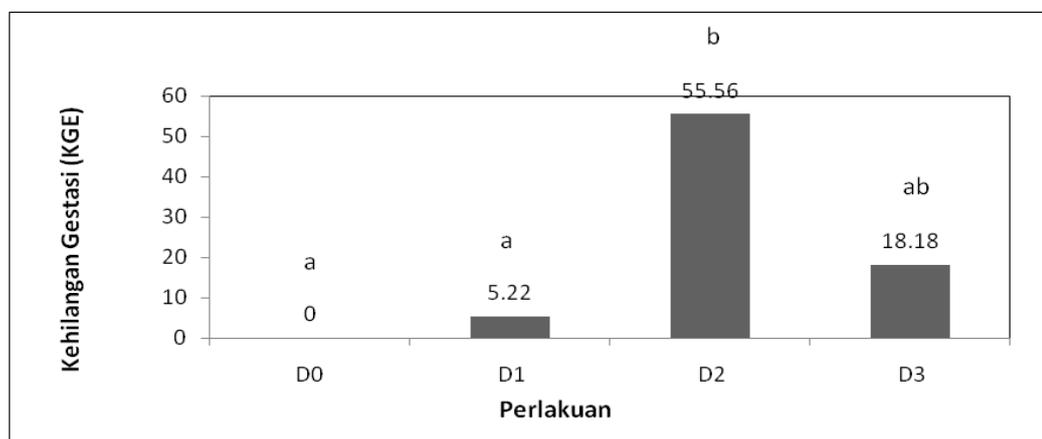
maka akan menghambat pula pembentukan dari progesteron dan estrogen, sehingga dinding uterus akan luruh dan mempengaruhi proses implantasi. Penurunan jumlah implantasi dikarenakan konsentrasi estrogen dan progesteron menurun pada saat praimplantasi sehingga lingkungan steroid tidak cocok untuk implantasi.

Senyawa aktif saponin dan flavonoid yang dihasilkan oleh ekstrak daun pegagan ini berperan dalam mempengaruhi implantasi. Kedua senyawa aktif tersebut bersifat anti-estrogen, karena menurut Sa'roni 2001 dalam Akbar (2010) flavonoid yang bersifat anties-trogen dapat menyebabkan ovarium menjadi inaktif dan mengganggu sekresi estrogen endogen.

Pada hasil penelitian menunjukkan dosis  $150 \text{ mg kg}^{-1} \text{ bb}$  lebih efektif dalam menurunkan jumlah implantasi. Hal ini karena penyerapan ekstrak khususnya di usus penyerapan memiliki keefektifan yang optimum. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin lama penyerapan ekstrak di dalam tubuh.

#### Kehilangan Gestasi.

Data rata-rata kehilangan gestasi setelah pemberian ekstrak etanol daun pegagan pada tahap praimplantasi (hari ke-1 hingga ke-4) terhadap fertilitas tikus betina, dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Persentase rata-rata kehilangan gestasi setelah pemberian ekstrak etanol daun pegagan

Dari Gambar 2. di atas, terlihat bahwa persentase rata-rata kehilangan gestasi pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol (D0), yaitu 0% dengan persentase rata-rata kehilangan gestasi (D1) 5,22%, (D2) 55,56%, dan (D3) 18,18%. Persentase rata-rata kehilangan gestasi pada kelompok D2 (55,56%) lebih tinggi dibanding pada kelompok D3 (18,18%), D1 (5,21%), dan D0 (0%). Berdasarkan uji statistik dengan *Paired samples test* terhadap parameter KGE menunjukkan nilai *sig.* antar pasangan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Dari tabel 2 di bawah ini memperlihatkan beda yang sangat signifikan (*sig.* 5%) pada pasangan no. 2 dan no. 4. Pada pasangan no. 2 (D0-D2) memiliki nilai *sig.* 0,040 ( $p < 0,05$ ), yang artinya D0 dengan D2 sangat berbeda nyata. Begitupun pada pasangan no. 4 (D1-D2) memiliki nilai *sig.* 0,038 ( $p < 0,05$ ). Analisis statistik menunjukkan pemberian ekstrak etanol daun pegagan dengan dosis D2 ( $150 \text{ mg/kg bb}$ ) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap persentase kehilangan gestasi dibanding pemberian ekstrak dosis D1 dan D0.

**Tabel 2.** Nilai *sig.* antar pasangan kelompok perlakuan pada parameter KGE

| No. | Pasangan | <i>Sig. (2-tailed)</i> |
|-----|----------|------------------------|
| 1.  | D0 – D1  | 0,219                  |
| 2.  | D0 – D2  | 0,040                  |
| 3.  | D0 – D3  | 0,319                  |
| 4.  | D1 – D2  | 0,038                  |
| 5.  | D1 – D3  | 0,370                  |
| 6.  | D2 – D3  | 0,120                  |

Hasil pengujian statistik parametrik dengan Uji t sepasang menunjukkan bahwa data persentase KGE pada tikus betina yang dicekok ekstrak etanol daun pegagan pada tahap praimplantasi dosis (D2) 150 mgkg<sup>-1</sup> bb dan (D3) 175 mgkg<sup>-1</sup> bb sangat berbeda nyata dengan kelompok kontrol (D0) dan (D1) 125 mgkg<sup>-1</sup> bb. Hal ini disebabkan oleh ketidakmampuan induk tikus untuk mentolerir senyawa aktif yang terkandung di dalam pegagan sehingga senyawa tersebut dapat langsung menyerang embrio dan menyebabkan sel-sel tersebut mati sebelum terimplantasi (Mutschler, 1991).

Senyawa aktif triterpenoid dan flavonoid dapat mengganggu proses proliferasi sel-sel embrional yang terjadi pada tahap *cleavage* dari embryogenesis (Frandsen *et al.*, 1996). Karena hal itu, dimungkinkan dari pemberian ekstrak pegagan pada tahap praimplantasi akan menyebabkan perkembangan embrio terganggu sehingga tidak mencapai tahap blastosis dengan sempurna dengan demikian embrio tidak dapat terimplantasi. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan Sabri (2007), senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam aliran pembuluh darah sehingga embrio berada ditahap *cleavage* tidak mampu untuk berkembang mencapai tahap blastosis dengan sempurna sehingga embrio tidak dapat terimplantasi.

Pada hasil penelitian menunjukkan dosis 150 mgkg<sup>-1</sup> bb lebih efektif dalam menaikkan jumlah kehilangan gestasi. Hal ini karena dalam penyerapan ekstrak khususnya di usus penyerapan memiliki keefektifan yang optimum. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak

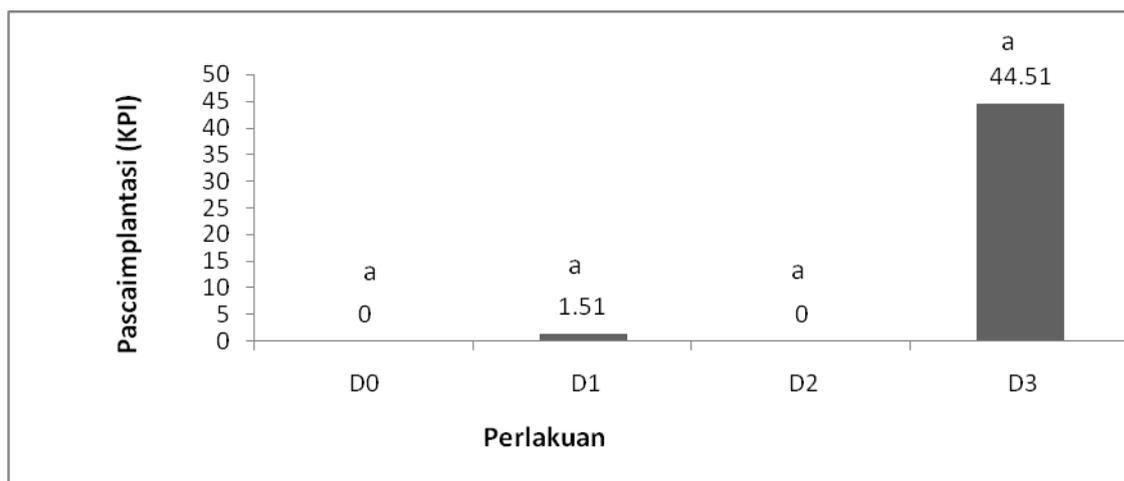
maka akan semakin lama penyerapan ekstrak di dalam tubuh, sehingga dosis 150 mgkg<sup>-1</sup> bb akan lebih cepat berpengaruh dalam jumlah kenaikan KGE dikarenakan penyerapannya lebih cepat terserap oleh tubuh dibandingkan dosis 175 mgkg<sup>-1</sup> bb.

#### **Kematian Pasca Implantasi.**

Data rata-rata kematian pasca implantasi setelah pemberian ekstrak etanol daun pegagan pada tahap praimplantasi (hari ke-1 hingga ke-4) terhadap fertilitas tikus betina, dapat dilihat pada gambar 3. Kematian pascaimplantasi adalah jumlah fetus mati dan embrio *resorb*, namun pada penelitian ini tidak menampilkan fetus mati sehingga nilai persentase rata-rata KPI di atas adalah nilai dari persentase rata-rata embrio *resorb* (Hardjopranto, 1995).

Dari gambar 3 di atas, terlihat bahwa persentase rata-rata kematian pasca implantasi mengalami peningkatan pada dosis (D1) 125 mgkg<sup>-1</sup> bb dan dosis (D3) 175 mgkg<sup>-1</sup> bb yaitu 1.52% dan 44.51%. Sementara, dosis (D2) 150 mgkg<sup>-1</sup> bb tidak mengalami peningkatan sama dengan kontrol (D0), yaitu 0%. Berdasarkan uji statistik dengan *Paired samples t-test* terhadap parameter KPI menunjukkan nilai *sig.* antar pasangan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.

Dari tabel 3 di atas, tidak memperlihatkan beda yang sangat signifikan (*sig.* 5%) pada pasangan manapun. Hasil perhitungan statistik untuk kematian pascaimplantasi tidak menunjukkan nilai signifikansi pada dosis tertentu, namun dari Gambar 10 dapat dilihat kecenderungan kenaikan KPI pada dosis (D3) 175 mgkg<sup>-1</sup> bb.



**Gambar 3.** Persentase rata-rata kematian pasca implantasi setelah pemberian ekstrak etanol daun pegagan

**Tabel 3.** Nilai sig. antar pasangan kelompok perlakuan pada parameter KPI

| No. | Pasangan | Sig. (2-tailed) |
|-----|----------|-----------------|
| 1.  | D0 – D1  | 0,363           |
| 2.  | D0 – D2  | *               |
| 3.  | D0 – D3  | 0,058           |
| 4.  | D1 – D2  | 0,363           |
| 5.  | D1 – D3  | 0,056           |
| 6.  | D2 – D3  | 0,058           |

Keterangan, \* = hasil uji statistik tidak teridentifikasi

Kematian pascaimplantasi pada penelitian ini ditandai dengan ditemukannya embrio *resorb*. Hal itu dikarenakan ekstrak pegagan ini secara aktif cepat dalam mempengaruhi embrio *resorb*, dimana embrio berhasil implan namun gagal dalam pembentukan organogenesis sehingga embrio tersebut diserap kembali oleh tubuh.

Nilai KPI adalah sama dengan nilai dari persentase rata-rata embrio *resorb* hasil dari pengujian statistik dengan Uji t sepasang tidak menunjukkan signifikansi. Namun, cenderung mengalami kenaikan pada dosis (D3) 175 mgkg<sup>-1</sup> bb, yaitu 44.51% menaikkan jumlah embrio *resorb*. Hal ini disebabkan oleh adanya siklooksigenase yang menghambat interleukin-1 menginduksi produksi COX-2 sehingga tidak menghasilkan prostaglandin I2 (Harkness & Wagner's, 2010). Sementara, prostaglandin I2 merupakan ligan untuk reseptor teraktivasi-proliferator-peroksisom,

karena kekurangan reseptor terkait maka akan menyebabkan kematian fetus pascaimplantasi akibat dari terganggunya plasentasi (Nalbandov, 1990). Temuan tersebut sesuai dengan pendapat Sabri (2007), senyawa saponin dan flavonoid dapat menghambat jalur dehidrogenase & sintesis prostaglandin.

Senyawa triterpenoid dapat menurunkan kadar progesteron yang dibutuhkan oleh embrio untuk kelangsungan hidupnya selama kehamilan. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan (Sarah, 2013) golongan terpenoid, yaitu triterpenoid dapat menurunkan kadar progesteron sehingga dapat meningkatkan kejadian embrio *resorb*. Menurut Widyastuti *et al.*, (2006), seluruh zat yang bersifat teratogen jika diberikan pada awal perkembangan embrio dapat menyebabkan embrio *resorb* pada tikus.

Pada hasil penelitian menunjukkan dosis 175 mgkg<sup>-1</sup> bb lebih efektif dalam

menaikkan jumlah kematian pascaimplantasi, berbeda hasil dengan jumlah implantasi dan kehilangan gestasi yang menunjukkan dosis efektif pada dosis  $150 \text{ mgkg}^{-1}$  bb. Hal ini karena dalam penyerapan ekstrak khususnya di usus penyerapan memiliki keefektifan yang optimum. Seperti halnya dosis  $175 \text{ mgkg}^{-1}$  bb dengan tingkat konsentrasi yang lebih tinggi maka diduga memerlukan waktu yang lebih lama untuk penyerapan. Pada kematian pascaimplantasi, dosis  $175 \text{ mgkg}^{-1}$  bb ini sedikitnya ekstrak yang sudah terserap mempengaruhi *cleavage* konseptus namun belum optimal, karena biasanya penyerapan ekstrak pada dosis konsentrasi lebih tinggi memerlukan waktu lebih lama. Waktu yang lebih lama untuk penyerapan ini ternyata berhubungan dengan kenaikan dalam jumlah kematian pascaimplantasi, karena pengaruh efek dari ekstrak tersebut akan dilanjutkan kembali setelah embrio terimplantasi sehingga mempengaruhi kenaikan jumlah kematian pascaimplantasi, khususnya embrio *resorb*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) pada tahap praimplantasi dapat mempengaruhi fertilitas tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) betina galur Sprague Dawley. Dosis  $150 \text{ mgkg}^{-1}$  bb adalah dosis yang sangat efektif dan optimum menurunkan implantasi dan menaikkan kehilangan gestasi. Dosis  $175 \text{ mgkg}^{-1}$  bb cenderung menaikkan kematian pasca implantasi pada tahap awal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afiah & Mawar. (2012). Pengaruh Pemberian Ekstrak Polong Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don.) terhadap Siklus Estrus dan Kinerja Reproduksi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* L.) Betina Galur Sprague Dawley. *Skripsi Program Studi Pendidikan Biologi UHAMKA*. Jakarta.
- Akbar, B. (2010). *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifer-tilitas*. Adabia Press. Jakarta.
- Al-Ahwani, F. (2012). Pengaruh Pemberian Ekstrak Polong Kedaung (*Parkia roxburghii* G. Don.) pada Tahap Pascaimplantasi Lanjut terhadap Fertilitas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Betina Galur Sprague Dawley. *Skripsi Program Studi Pendidikan Biologi UHAMKA*. Jakarta.
- Aranta, A. (2010). *Pengobatan Herbal & Pijat Refleksi Cara Mudah Hidup Sehat*. Pustaka Sandro Jaya. Jakarta.
- Fitriyah. (2009). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi UIN Maulana Malik Ibrahim*. Malang.
- Frandsen, R. D. (1992). *Anatomi dan Fisiologi Ternak Edisi ke-4*. (Terjemahan B. Srigandono & Koen Praseni). UGM Press. Yogyakarta.
- Guyton, A. C. (1995). *Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit (Human Physiology and Mechanisms of Disease)*. (Terjemahan Petrus Andrianto). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Harkness, Wagner's. (2010). *Biology and Medicine of Rabbits and Rodents Fifth Edition*. Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Inc., Publication. USA.
- Kishida, N. N, Kusumah, E. D, & Lailani, P. K. (2009). Analisis Fitokimia dan Penampilan Polapita Protein Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) Hasil Konservasi In Vitro. *Bul. Littro*. 20(1), 11-20.
- Kristanti, & Ari Nur. (2009). Potensi Ekstrak Daun Pagagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Dosis Tinggi Sebagai Antifertilitas pada Mencit (*Mus musculus*) Betina. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Masrianih Dhafir, F., & Lusiana. (2013) . Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Galur Ddy. *e-Jipbiol* 2, 24-29
- Mutschler, E. (1991). *Dinamika Obat Farmakologi dan Toksikologi Edisi ke-5*. (Terjemahan Mathilda B. Widiyanto &

- Anna Setiadi Ranti). Penerbit ITB. Bandung.
- Nalbandov, A. V. (1990). *Fisiologi Reproduksi Pada Mamalia Dan Unggas*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Sabri, E. (2007). Efek Perlakuan Ekstrak Anda-liman (*Zanthoxylum acanthopodium*) Pada Tahap Praimplantasi Terhadap Fertilitas dan Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biologi Sumatera*. 28-32
- Sirait M. (2007). *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bantung: Penerbit ITB
- Tjitrosoepomo, G. (2009). *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widyastuti, N., Widiyani, T., & Listyawati, S. (2008). Efek Teratogenik Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Galur Winstar. *Jurnal Bioteknologi* 3 (2), 56-62.