

PENGARUH FITOESTROGEN DAGING BUAH KURMA RUTHAB (*Phoenix dactylifera* L.) TERHADAP SINKRONISASI SIKLUS ESTRUS MENCIT (*Mus musculus* L.) BETINA

NOVA LUSIANA

Fakultas Psikologi dan Kesehatan Univeritas Islam Sunan Ampel Surabaya

*Corresponding author: novalusiana@uinsby.ac.id

ABSTRACT

Ruthab dates are believed to have benefits for couples who want to have a descendant because it has phytoestrogen content that has an important role in the female uterine blood vessels that can increase fertility. Phytoestrogens have estrogenic activity that has similar structures with natural estrogens. The purpose of this study was to investigate the effect of fitoestrogen of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) to synchronize the estrous cycle in mice (*Mus Musculus* L.). Animals try to use 24 Balb / C starbine female mice. The test material in the form of extract of dates is given orally at doses of 260 mg/kg BB, 780 mg/kg BB and 1820 mg/kg BB. Data were analyzed by simple linier regression test with 5% significance level. The results showed a significant influence between the control and treatment group ($R = 0.767$) so that it can be concluded that the effect is caused by the action phytoestrogens hormones in the content of dates.

Keywords: Ruthab dates, mice, estrous cycle

PENDAHULUAN

Reproduksi adalah proses perkembangbiakan suatu makhluk hidup merupakan proses yang rumit karena dipengaruhi berbagai faktor, baik dari dalam maupun dari luar tubuh. Gangguan sistem reproduksi pada hewan jantan maupun betina dapat mengakibatkan rendahnya efisiensi dan penurunan populasi. Keberhasilan reproduksi sekelompok hewan sangat ditentukan bagaimana upaya pengelolaan reproduksi itu sendiri misalnya, pemberian pakan yang baik, lingkungan yang serasi, terhindar dari penyakit, sanitasi yang baik dan tidak ada gangguan hormonal. Keberadaan hormon sangat diperlukan dalam segala aspek pengaturan tubuh, selain pengaturan oleh syaraf, pengaturan sistem reproduksi merupakan kerjasama antara syaraf dan hormon.

Hormonreproduksi yang sangatberperanadalahhormon estrogen, karena berfungsi dalam pertumbuhan jaringan organ-

organ kelamin dan jaringan lainyangberkaitan denganreproduksi. Dalam ovulasi terjadi siklus yang dikendalikan oleh hormon. Pada manusia dan primate, siklus terjadinya ovulasi dalam suatu proses reproduksi diberi istilah siklus menstruasi sedangkan pada mamalia lain diberi istilah siklus estrus (Campbell et al, 2004).

Hormonestrogendihasilkanoleh tubuh seperti; ovarium, korpus luteum, plasenta dankorteks adrenal. Mengingat pentingnya peranan estrogen terhadap proses reproduksi betina, maka para ahli dan peneliti telah melakukan berbagai percobaan untuk mencari sumber estrogen lain dari luar tubuh (estrogen eksogen). Estrogen dari luar tubuh dapat berasal dari tumbuhan yang disebut sebagai fitoestrogen. Penggunaan tanaman obat (herba) dijadikan alternatif karena penggunaan bersifat alami, tidak berbahaya dan biaya terjangkau. Fitoestrogen bekerja pada reseptor estrogen memberikan keuntungan sebagai pengganti estrogen.

Fitoestrogen terdapat pada kelompok tanaman termasuk biji-bijian, kacang-kacangan, sayuran dan buah-buahan yang berkhasiat menyerupai hormon estrogen atau dapat bereaksi dengan reseptor estrogen. Terdapat kurang lebih 20 golongan tanaman yang telah diidentifikasi berkhasiat estrogen dari 16 gugus tanaman. Banyak diantara tanaman yang termasuk golongan ini menjadi bahan makanan sehari-hari seperti bawang putih, gandum, kacang-kacangan, kentang, wortel, apel, kurma, biji kopi dan berbagai sayuran.

Kandungan Utama fitoestrogen adalah isoflavones, coumestans, and lignans. Penelitian Kurma sebagai sumber fitoestrogen masih jarang dilakukan, kurma kering mengandung 329,5 mg per 100 g isoflavoids, hormon estrogen yang mengaktifkan indung telur dan membantu pembentukan sel telur. (Basith, 2008). Beberapa hadist yang menerangkan keunggulan kurma, diantaranya, Sebaik-baik kurma adalah 'alburniy karena dapat menghilangkan penyakit (HR Hakim 4204, al-Jami' al-kabir 13737, shahih al-jami' 3298). Kurma baik tamar atau ruthab menguatkan rahim ketika melahirkan. Oleh karena itu Allah mengisyaratkan hal tersebut kepada Siti Maryam (QS Maryam 25-26). Ayat tersebut menerangkan bahwa kurma ruthab bergizi tinggi dan lebih mengerutkan/menekan rahim secara teratur.

Mencit (*Mus musculus L.*) merupakan salah satu hewan model yang sering digunakan dalam penelitian terutama yang akan diterapkan pada manusia, karena mencit memiliki anatomi dan fisiologi yang hampir sama dengan manusia. Berdasarkan latar belakang tersebut diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh fitoestrogen daging buah kurma (*P. dactylifera L.*) dosis 1 butir (260 mg/kg BB), dosis 3 butir (780 mg/kg BB), dosis 7 butir (1820 mg/kg BB) terhadap sinkronisasi siklus estrus pada mencit (*Mus Musculus L.*) betina yang umum sebagai hewan uji mewakili mamalia.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Integrasi UIN Sunan Ampel Surabayaselama empat bulan di tahun 2017.

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini berupa mencit (*M. musculus*) bunting umur 4-6 bulan dengan berat badan 25-30 gram dengan jumlah 24 ekor. Hewan ini diaklimasi/dirawat dalam Laboratorium Organik UIN Sunan Ampel Surabaya. Hewan coba dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri atas enam ekor mencit betina.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang diperlukan meliputi baki stainless, blender, gelas beker, kertas saring, alumunium foil, spatula, gelas arloji, neraca, jarum sonde, slide preparat, dan mikroskop. Sedangkan bahan uji yang digunakan yakni daging buah kurma ruthab (*P. dactylifera*), mencit (*M. musculus*) betina, parafin, pewarna giemsa, dan metanol.

Pembuatan Ekstrak Daging Buah Kurma (*P. dactylifera*)

Penelitian yang telah dilakukan melalui beberapa tahap, tahap pertama adalah pembuatan ekstrak daging buah kurma dengan tehnik maserasi methanol. Kurma dipisahkan antara daging buahnya dan bijinya. Daging buah kurma dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Setelah kering daging buah kurma diblender untuk menjadikannya menjadi serbuk.

Serbuk daging buah kurma kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Sebanyak 250 gram kurma direndam dengan 500 mL metanol selama 3x24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil rendaman kemudian disaring untuk memisahkan residu dan filtrat. Filtrat ekstrak daging buah kurma di pekatkan

dengan *rotary evaporator* selama 5 jam. Hasil ekstraksi kurma berupa ekstrak kental berwarna coklat

Ekstrak daging buah kurma ruthab (*P. dactylifera*) yang didapatkan ditimbang sesuai dosis perlakuan untuk diberikan kepada mencit (*M. musculus*) betina.

Pemberian Perlakuan Hewan Coba

Tahap selanjutnya pada penelitian ini adalah tahap pemeliharaan hewan coba, identifikasi masa estrus, dan pemberian perlakuan ekstrak kurma dengan berbagai dosis pada mencit betina. Pada awal tahap ini mencit betina dengan usia berkisar antara 4-6 bulan yang telah di dapat dari peternakan milik PT. Mutiara Bersaudara, kemudian ditimbang berat badannya dan dilakukan apusan vagina untuk mengetahui siklus estrusnya. Perlakuan pada hewan coba 24 mencit (*Mus musculus* L) betina strain Balb/C usia 8-10 minggu, berat badan 20-30 g, dikelompokkan menjadi 4 kelompok; Kelompok I (kontrol) hanya diberi akuades, kelompok II diberi ekstrak kurma 260 mg/kg BB, kelompok III diberi ekstrak kurma 780 mg/kg BB, kelompok IV diberi ekstrak kurma 1820 mg/kg BB diberikan selama 3 siklus estrus (15 hari).

Teknik Pengamatan dan Pewarnaan Siklus Estrus

Pemeriksaan siklus estrus satu minggu setelah aklimatisasi melalui metode apus vagina sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rintafiani (2014). Langkah pertama yang dilakukan adalah pengapusan vagina mencit (*Mus musculus* L) menggunakan *cotton buds* yang telah dibasahi larutan NaCl 0,9 % sedalam ± 5 mm dengan diputar searah jarum jam sebanyak 2 – 3 kali putaran. Kemudian *cotton*

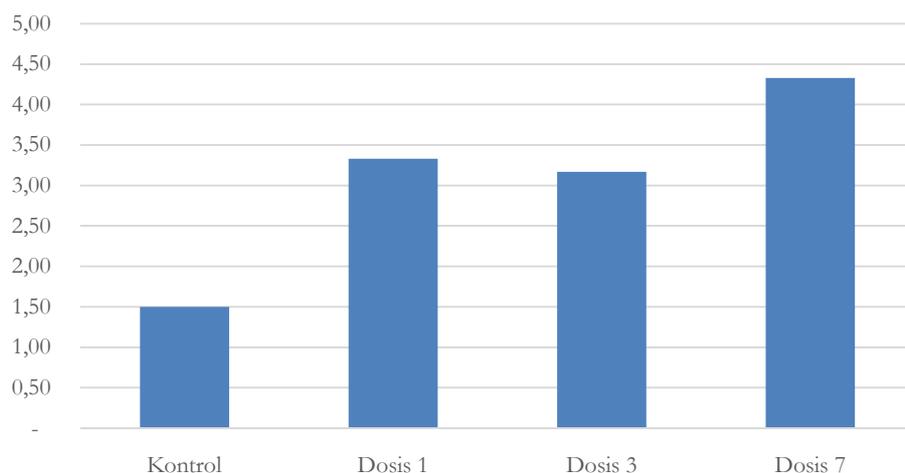
buds tersebut dioleskan tipis dan searah di atas gelas obyek yang telah dibersihkan untuk membuat preparat apusan vagina. Kemudian preparat difiksasi dengan alkohol 70 % selama 5 menit. Selanjutnya ditetaskan pewarna giemsa 1 % pada preparat dan dibiarkan selama 5 – 10 menit hingga pewarna agak kering. Preparat dibilas menggunakan aquadest dan dikeringkan. Sisa air maupun pewarna yang berlebihan dibersihkan menggunakan tissue. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali untuk mengamati sel epitel yang masih berinti atau telah mengalami kornifikasi sehingga diketahui fase yang dialami mencit (*Mus musculus* L).

Analisis Data

Data jumlah fase estrus diuji normalitas dan homogenitasnya. Kemudian dianalisis dengan menggunakan One Way ANOVA. Hasil uji one way ANOVA tersebut menunjukan hasil yang signifikan yaitu adanya perbedaan dosis pemberian dengan jumlah fase estrus yang terjadi, maka dilanjutkan dengan uji regresi linier sederhana untuk mengetahui pengaruh antar kelompok perlakuan dengan $\alpha = 0.05$. Regresi yang digunakan adalah regresi linier sederhana yang digunakan untuk mencari hubungan kausal atau fungsional antara variabel terikat dengan variabel bebas

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan siklus estrus selama 3 siklus atau 15 hari pada hewan coba menunjukan hasil yang berbeda, rata-rata fase estrus yang dialami keempat kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata fase estrus pada kelompok perlakuan mencit (*M. musculus L*) Betina

Hasil dari pengamatan siklus estrus pada mencit (*Mus musculus L*) yang dilakukan selama 3 siklus (15 hari) dengan perlakuan yang berbeda menghasilkan siklus yang relatif berbeda pula. Perbedaan yang terjadi ini diakibatkan oleh beberapa faktor. Faktor yang pertama ialah histologi dan fungsi hipotalamus serta hipofisis dalam kaitannya dengan proses reproduksi, terjadinya pubertas pada hewan betina termasuk faktor yang mempengaruhi siklus estrus, selain itu faktor hormon, perbedaan perlakuan dan pengamatan apusan vagina dari mencit. Pengamatan apusan vagina berhubungan dengan ketelitian pengamat dalam mengamati preparat.

Siklus estrus sangat dipengaruhi oleh hormon estrogen dan progesteron yang dihasilkan ovarium serta FSH (*follicle stimulating hormone*) dan LH (*luteinizing hormone*) yang dihasilkan oleh hipofisis anterior. Hormon-hormon LH dan FSH diduga merupakan penginduksi utama (*Ovulation Inducing Hormon*) Bagi timbulnya ovulasi (Turner)

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. *Folikel de graaf* membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis.

Berdasarkan uji normalitas dengan Kolmogrov Smirnov serta uji homogenitas Lavene dari data rata-rata fase estrus menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($p > 0.05$), selanjutnya dilakukan Analisa data dengan one way ANOVA.

Hasil penelitian yang di dapat menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok yang mendapat tambahan kurma (*Phoenix dactylifera L*). Kelompok perlakuan terlihat mampu mensinkronisasi siklus estrus dibandingkan dengan kelompok kontrol, baik dengan kelompok dosis kurma (*Phoenix dactylifera L*) 260 mg, 780 mg dan 1820 mg.

Tabel 1. Perbandingan Rata-rata fase Estrus dengan one way ANOVA

Kelompok	Terhadap Kelompok	Rerata Perbedaan \pm Std. Dev	Signifikansi
1	2	-1,833 \pm 0,742	0,14
	3	-1,667 \pm 0,742	0,22
	4	-2,833 \pm 0,742	0,01
2	1	1,833 \pm 0,742	0,14
	3	0,167 \pm 0,742	1,00
	4	-1,000 \pm 0,742	1,00
3	1	1,667 \pm 0,742	0,22
	2	0,167 \pm 0,742	1,00
	4	-1,167 \pm 0,742	0,79
4	1	2,833 \pm 0,742	0,01
	2	1,000 \pm 0,742	1,00
	3	1,167 \pm 0,742	0,79

Sumber: Data Penelitian

Ket: Signifikansi $\alpha = 0,05$

Hasil Analisis statistik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Uji lebih lanjut menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan. Antara dosis 260 mg dengan dosis 780 mg tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan bila kedua dosis di atas dibandingkan dengan dosis 1820 mg atau dosis yang setara dengan dosis 2 mg estrogen pada manusia tampak terdapat perbedaan yang signifikan.

Pemberian ekstrak daging buah kurma (*Phoenix Dactylifera L*) mengalami fase estrus yang bervariasi, terjadi peningkatan pada dosis tujuh menunjukkan terjadi peningkatan folikelgenesis. Ekstrak kurma yang mengandung isoflavone diduga memicu folikelgenesis di ovarium. Mekanisme kerja dari isoflavone sebagai bahan fitoestrogen yang mampu memberikan efek estrogenic pada mencit betina adalah isoflavone yang mirip dengan senyawa $17 - \beta$ estradiol akan berikatan dengan reseptor estrogen ($ER \alpha$) yang terdapat di membran nukleus, sehingga mengaktivasi elemen respon estrogen disisi dalam membran nukleus.

Agar mampu berikatan dengan reseptornya, fitoestrogen harus menembus sel masuk ke dalam sitoplasma membentuk ikatan hormone reseptor pada Estrogen Responsive Element (ERE) yang kemudian bergerak menuju inti sel untuk berikatan dengan DNA, setelah berikatan dengan DNA maka akan terjadi proses transkripsi sel untuk membentuk protein-protein khusus yang diperlukan dalam pembelahan sel. Ketika proses transkripsi sintesis protein, kompleks fitoestrogen reseptor estrogen tidak hanya berikatan dengan ERE namun juga berikatan dengan Co-regulator. Co-regulator terdiri dari co-activator yang berfungsi untuk menginduksi terjadinya proses transkripsi gen dari ikatan kompleks fitoestrogen reseptor estrogen, sehingga dapat diproduksi suatu messenger RNA(mRNA) yang mengakibatkan terjadinya sintesis protein sesuai dengan karakteristik hormon, sedangkan corepressor akan bekerja sebaliknya yakni menghambat proses transkripsi gen (Gruber, 2002). Hal ini akan mempengaruhi transkripsi dan translasi serta proses maturase folikelgenesis dari folikel preantral menjadi folikel antral, sehingga memicu ovulasi dari *folikel de graaf* dan terbentuknya korpus luteum yang menghasilkan estrogen.

Tabel 2. Regresi Linier Sederhana

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
1	.767 ^a	.589	.547	1.297	1.764

Nilai R yang merupakan simbol dari koefisien pada tabel diatas adalah 0,767 dapat interpretasikan bahwa hubungan kedua variabel penelitian ada di kategori kuat. Melalui tabel juga diperoleh nilai R *Square* atau koefisien determinasi (KD) yang menunjukkan seberapa bagus model regresi yang dibentuk oleh interaksi variabel bebas dan variabel terikat. Nilai KD yang diperoleh adalah 58,9 % atau setara 59 % yang dapat ditafsirkan bahwa variabel bebas memiliki kontribusi sebesar 59 % terhadap variabel terikat.

Ketika mencit (*Mus musculus L*) yang menjadi hewan uji mendapatkan perlakuan pemberian kurma maka pada saat fase proestrus akan terjadi penurunan frekuensi LH pulsatif dan kenaikan amplitudo. Hal tersebut berarti sekresi LH berada pada dosis yang tinggi dalam kurun waktu relative singkat dan akan mempercepat terjadinya LH surge yang menandai berakhirnya fase proestrus. Hal tersebut akan memperpendek fase proestrus.

Setelah terjadi LH surge maka mencit (*Mus musculus L*) segera memasuki fase estrus. Di dalam fase ini terjadi peristiwa ovulasi yang menyebabkan lepasnya ovum ke dalam oviduk. Pada fase ini juga terjadi sekresi estrogen yang tinggi. Estrogen yang tinggi ini menyebabkan munculnya tanda-tanda adanya fase estrus yang terdiri dari perubahan tingkah laku dan psikologis (Bearden dan Fuquay 1980)

Pada hewan keinginan seksual dikenal sebagai reseptivitas seksual atau penerimaan hewan betina terhadap jantan. Reseptivitas seksual ini hanya terjadi pada fase estrus saja dan dikontrol hormon estrogen. Sebelum terjadi ovulasi dan sebelum terbentuk korpus luteum di dalam ovarium sebenarnya telah terbentuk progesteron. Progesteron dalam jumlah sangat kecil Bersama estrogen menyebabkan reseptivitas seksual. Ketika sekresi estrogen menurun maka progesteron menjadi dominan. Ketika sekresi progesteron

melimpah maka hewan mulai memasuki fase diestrus. Penurunan sekresi progesterone dan dominasi sekresi estrogen ini yang menyebabkan pemanjangan fase estrus pada hewan uji.

Fitoestrogen yang paling estrogenic adalah genistein dan daidzein (Darmadi 2011). Genistein memiliki afinitas lebih besar daripada daidzein terhadap ER- β . Namun efek genistein lebih efektif pada ER- α daripada ER- β . Hal ini terjadi karena ikatan reseptor bersifat agonis penuh dan reseptor β agonis parsial (Sutrisno 2010). Kadar estrogen yang tinggi akan merangsang maturase folikel de Graaf dari folikel primordial dan folikel primer di ovarium. Hal ini dapat mempercepat folikelgenesis dan fase diestrus menuju fase estrus. Mekanisme kerja ekstrak daging buah kurma sebagai salah satu jenis fitoestrogen untuk sinkronisasi siklus estrus adalah melalui genomic secara langsung. Mekanisme secara langsung yaitu fitoestrogen langsung berikatan dengan reseptor estrogen dan mempengaruhi transkripsi gen, sehingga dapat menimbulkan efek seperti estrogen (efek estrogenic). Implikasi klinis isoflavone tergantung pada beberapa faktor termasuk jumlah reseptor yang dapat binding dengan isoflavone, letak reseptor dan konsentrasi estrogen yang mampu bersaing dengan isoflavone (Winarsih, 2005).

Radikal bebas yang tinggi dalam tubuh dapat menyebabkan ketidaksuburan pada wanita. Radikal bebas dapat mempengaruhi oogenesis, lingkungan mikro embrio dan dengan demikian berdampak langsung pada kualitas oosit, interaksi sperma dan ovum, implantasi dan perkembangan embrio awal (Safarnavadeh dan Rastegarpanah, 2011). Kandungan antioksidan buah kurma telah banyak ditunjukkan (Siahpoosh, et al., 2011; Nehdi et al., 2010; Afiq et al., 2013; Saafi et al., 2011; Saryono et al., 2015). Kandungan polifenol tinggi pada buah kurma (50,2 mg /

g), terutama epicatechin, dan catechin menentukan aktivitas antioksidan, baik in vivo maupun in vitro. Oleh karena itu buah kurma juga memiliki potensi untuk meningkatkan kesuburan pada wanita.

Buah kurma mengandung senyawa fitokimia seperti fitosterol dan fitoestrogen. Fitoestrogen dalam makanan wanita hamil dapat ditemukan pada cairan amnion dan darah umbilikal (Engel et al., 2006). Fitoestrogen berguna untuk memodulasi estrogen tubuh, memiliki aktivitas pro-apoptosis dan antioksidan. Dari penelitian sebelumnya, pemberian buah kurma pada makanan tikus dapat meningkatkan kadar hormon pertumbuhan dan estrogen plasma (Elgasim et al., 1995). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa buah kurma secara signifikan dapat meningkatkan kadar estrogen dan progesteron (Mokhtari et al., 2008; Moshfegh, et al., 2016). Dalam penelitian yang dilakukan sebelumnya, (Szeto et al., 2009) kurma bermanfaat dalam menghambat enzim diesterase fosfat untuk mencegah degradasi cAMP, sehingga meningkatkan kualitas sel telur.

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan dan uji statistik pada penelitian ini, terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian ekstrak daging buah kurma (*Phoenix Dactylifera L*) terhadap sinkronisasi siklus estrus mencit (*Mus Musculus L*) betina dengan nilai R Square 0,767 dan pengaruh pemberian ekstrak daging buah kurma dosis 7 buah (1820 mg/Kg BB) terhadap sinkronisasi siklus estrus sebesar 59% dan selebihnya 41% dipengaruhi faktor lain

Dengan diketahuinya sinkronisasi siklus estrus pada mencit tersebut diharapkan dapat menentukan dosis efektif yang dapat diberikan kepada wanita usia subur guna memperpanjang masa ovulasi serta pembuktian faedah mengkonsumsi kurma.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada UIN Sunan Ampel Surabaya yang memberi dukungan financial maupun fasilitas laboratorium dalam penelitian ini, serta Risa Purnamasari, M.Si dan Eva Agustina, M. Si, konsultan dalam penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Basith Muhammad Sayyid, (2008), *Terapi Herbal dan Pengobatan cara Nabi ﷺ*, Penebar Swadaya, p43-44
- Ali, A., Mostafa W., Mohamed E., Sankar D. (2014). Nutritional and Medical Value of Date Fruit. *International Journal of Food Sciences*, 1-16
- Austin, C.R and Short R.V. (1984). *Hormonal Control of Reproduction Cambridge*. Cambridge University Press
- Biben (2012), *Fitoestrogen: Khasiat terhadap Sistem Reproduksi, Non reproduksi dan Keamanan Penggunaannya*, Seminar Nasional Estrogen sebagai Sumber Alami, Bandung, UNPAD
- Champbell N., Reece J., Urry, Cain, Wasserman, Minorsky, Jackson. (2008). *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3*. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Ganong, W. F. (1997). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (diterjemahkan oleh Djauhari Widjajakusumah, Dewi Irawati, Minarma Siagian, Dangsina Moeloe dan Brahma U. Pendit). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Woclawek-Potocka, I., Mannelli, C., Boruszewska, D., Kowalczyk-Zieba, I., Waśniewski, T., & Skarżyński, D. J. (2013). Diverse effects of phytoestrogens on the reproductive performance: cow as a model. *International journal of endocrinology*, 2013.
- Linda J Heffner dan Danny J Schust, (2008), *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi Kedua*, Jakarta: Erlangga Medical Series
- Nalbandov, A. V. (1990). *Fisiologi reproduksi pada mamalia dan unggas*. Universitas Indonesia, Jakarta, 40-45.
- Rahmadi Anton, (2010), *Kurma, Food Technologist Neuro-biologist and Pharmacologist*. University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
- Rahmani AH, Aly SM, Ali H, Babiker AY, Srikar S, Khan AA. (2014) Therapeutic effects of date fruits (*Phoenix dactylifera*) in the prevention of disease via modulation of anti inflammatory,, anti oxidant and anti tumor acrivity. *Int J Clin Exp Med*; 7(3) : 483-91

- Rintafiani. (2014). Siklus Estrus pada Mencit (*Mus musculus* L). *Jurnal Perkembangan Hewan*. 1-4
- Shabib W, Marshall RJ. The fruit of date palm: its possible use as the best food for future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2003 ; 54 (4) : 247-59
- Shearer, J. K. (2008), *Reproductive Anatomy and Physiology of Dairy Cattle*. University Of Florida. Florida
- Shin Hye Kim, MD, Mi Jung Park , MD, PhD (2012), *Effects of phytoestrogen on sexual development*, Korean Pediatric Society
- Turner, C.D dan Bagnara, J.T 1988. *Endokrinologi Edisi Keenam* (Penerjemah Harsojo). Surabaya ; Airlangga University Press
- Wihasto Suryaningtyas, dkk (2015), *Penelitian dan Teknik Laboratorium Pada Hewan Coba dan Manusia*, Surabaya: Airlangga University