

**PROFIL PROTEIN OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA
(*Pyrrosia piloselloides*)**

SKRIPSI

Oleh:
IMAM SUBANDI
NIM. 13620034



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PROFIL PROTEIN OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA
(*Pyrrosia piloselloides*)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh:

**IMAM SUBANDI
NIM. 13620034**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PROFIL PROTEIN OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA
(*Pyrrosia piloselloides*)**

SKRIPSI

Oleh:

IMAM SUBANDI

NIM. 13620034

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal, 9 Januari 2018

Pembimbing Biologi



Kholifah Holil, M.Si
NIP 19751106 200912 2 002

Pembimbing Agama



Umaiatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi




Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

**PROFIL PROTEIN OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA
(*Pyrrosia piloselloides*)**

SKRIPSI

Oleh:
IMAM SUBANDI
NIM. 13620034

Telah Dipertahankan di Depan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sains (S.Si)
Tanggal 9 Januari 2017

Penguji Utama	Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si	
	NIP. 19710919 200003 2 001	
Ketua Penguji	Dr. Retno Susilowati, M.Si	
	NIP. 19671113 199402 2 001	
Sekretaris Penguji	Kholifah Holil, M.Si	
	NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	Umayyatus Syarifah, M.A	
	NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi




Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Imam Subandi

NIM : 13620034

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi

Judul Penelitian : Profil Protein Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Betina setelah Pemberian Ekstrak Etanol Sisik Naga
(*Pyrrosia piloselloides*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pemikiran saya sendiri, kecuali dengan menyantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan skripsi saya ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 9 Januari 2018



Imam Subandi

NIM. 13620034

MOTTO

**Kesuksesan Bukan Berarti Membuat Orang Lain Bahagia,
Tapi Kesuksesan Adalah Bagaimana Kita Berhasil Dalam
Prinsip Kita Sendiri**



HALAMAN PERSEMBAHAN

Saya persembahkan salah satu karya besar saya ini kepada:

Bapak tercinta jasmani dan ibu tercinta yatmi, trimakasih atas kasih sayangnya, semangatnya, kerja kerasnya, bimbinganya, motivasinya, dukungannya, perjuangannya, dan yang selalu mendoakan saya. Semoga anak mu ini tidak mengecewakan kalian.

Kakak-kakak ku siti indatul ulfa, edi istamar dan etik kusnul sofiatin yang selalu menyemangati, mendoakan, menyayangi. Semoga adekmu yang aneh ini bisa dijadikan kebanggaan dihati kalian.

Adik-adikku rekno bekti lestari dan siti nuraisyah, keponakan ku irza melani, reza, maulana malik Ibrahim semoga mas, pak lek mu ini bisa kalian jadi panutan.

Dosen-dosen yang telah meluangkan waktu dan telah banyak menyalurkan ilmu untukku, mulai dari mental, keilmuan terutama ibu Kholifah Holil, mbak ku dikampus, bu retno susilowati sebagai ibu dikampus, trimakasih sebanyak-banyaknya saya ucapkan, yang slalu saya curhati keluh kesah saya sampai saya nagis. Yang sabar menghadapi clengean saya, itulah cara saya biar akrab dengan jenengan dan biar tidak sungkan untuk curhat. Maaf bu kalau saya pernah konsultasi lewat hp, mengatain ibu gendut.

Untuk Kyai H. Baidowi Muslich dan para ustad PP Anwarul Huda yang memberi bimbingan hidup, makanan rohani saya. Temen-temen santri seperjuangan yang pinter, aneh, koplak, songong (aku hahaha), trimakasih atas semangatnya.

Terima kasih

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala keberhasilan dan kesuksesan manusia sebagai makhluk yang diciptakan tidak terlepas dari Sang Khaliq, maka puji syukur kehadirat Allah Subhaanahu wa Ta'ala. dengan segala taufiq dan hidayah-Nya serta inayah-Nya yang senantiasa terlimpahkan kepada hamba-Nya, sehingga penulisan skripsi dengan judul **“Profil Protein Ovarium Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina setelah Pemberian Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)”** dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Sholawat dan salam semoga selalu tercurah limpahkan kepada pelita hati umat Islam, Nabi Muhammad Shallallaahu alaihi wasallam, yang dengan jiwa sucinya penuh pengorbanan dan keikhlasan telah membimbing dan menuntun umatnya ke jalan yang benar dan di Ridhoi oleh Allah Subhaanahu wa Ta'ala.

Penelitian ini merupakan penelitian tim tentang Pemanfaatan Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)” sebagai Antifertilitas dengan ketua tim Ibu Kolifah Holil, M.Si. Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Romaidi, M.Si. D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi dan Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku mantan Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Kholifah Holil, M.Si selaku Dosen Pembimbing I yang dengan penuh keikhlasan dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Umayatus Syarifah M.A selaku Dosen Pembimbing II yang dengan senyum kesabaran telah membimbing dan mengarahkan skripsi ini pada kajian al Qur'an dan as-Sunnah.
6. Ibu Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Penguji I dan Ibu Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si selaku Penguji II yang telah banyak memberikan saran dan evaluasi pada penelitian ini.
7. Ibu Ir. Lilik Hariani, selaku dosen wali yang telah memberi bimbingan kepada penulis selama masa studi.
8. Seluruh Dosen, Staf administrasi dan Laboran Jurusan Biologi yang telah banyak membantu penyusunan skripsi ini.
9. Bapak Jasmani serta Ibu Yatmi, Kakak Siti Indatul Ulfa, Edi Istamar, Etik Kusnul Sofiatin serta adik Rekno Bakti Lestari, Siti Nur Aisyah dan seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan dan ketulusan kasih sayang serta untaian do'a yang tak pernah terhenti.
10. Laboran Lab. Fisiologi Hewan dan Biosistematik, Moh. Basyaruddin, M.Si laboran Lab. Genetik dan Molekuler Mahrus Ismail, M.Si yang telah

membantu dan meluangkan waktu serta tenaga dalam penyelesaian skripsi ini dengan sabar.

11. Partner penelitian Imananda Afrianny dan Setya Jenio Malangi yang telah menjadi partner terbaik dan tersabar selama menyelesaikan skripsi.
12. KH. M. Baidowi Muslich sebagai orang tua rohani selama menuntut ilmu di Malang, dewan pengasuh, asatid serta seluruh pengurus Pondok Pesantren Anwarul Huda dengan penuh kesabaran mendidik untuk saya menjadi manusia yang Ibadur Rahman.
13. Teman-teman Santri Pondok Pesantren Anwarul Huda serta semua teman yang telah menjadi kawan dan memberikan lingkungan terbaik selama menyelesaikan studi di Malang.
14. Serta semua pihak yang telah membantu penulis secara langsung maupun tidak langsung.

Semoga skripsi ini dapat membawa bermanfaat untuk menambah khazanah ilmu pengetahuan dan integrasinya dalam Islam, khususnya di bidang pengembangan biologi reproduksi. *Amin ya Robbal 'alamiin.....*

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, 9 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
مستخلص البحث.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.6 Batasan Masalah.....	8
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	10
2.1 Sisik Naga (<i>Pyrrosia Piloselloides</i>).....	10
2.1.1 Tinjauan Umum Sisik Naga (<i>Pyrrosia Piloselloides</i>)	10
2.1.2 Taksonomi (<i>Pyrrosia Piloselloides</i>).....	11
2.1.3 Deskripsi Morfologi Sisik Naga (<i>Pyrrosia Piloselloides</i>).....	11
2.1.4 Kandungan Sisik Naga (<i>Pyrrosia Piloselloides</i>).....	13
2.1.4.1 Steroid.....	13

2.1.4.2 Saponin.....	14
2.1.4.3 Senyawa Tannin.....	15
2.1.4.4 Senyawa Flavonoid.....	16
2.2 Tikus Putih (<i>Rattus Norvegicus</i>).....	17
2.2.1 Tinjauan Umum (<i>Rattus Norvegicus</i>).....	17
2.2.2 Taksonomi Tikus Putih (<i>Rattus Norvegicus</i>).....	17
2.2.3 Morfologi Tikus Putih (<i>Rattus Norvegicus</i>).....	18
2.3 Sistem Reproduksi Betina.....	19
2.3.1 Tinjauan Umum Anatomi Dan Fisiologi Reproduksi Tikus Betina.....	19
2.4 Siklus Estrus Pada Tikus Putih Betina.....	22
Fase Proestrus.....	22
Fase Estrus.....	23
Fase Metestrus.....	23
Fase Diestrus.....	24
2.5 Oogenesis.....	25
2.6 Hormon Reproduksi Betina.....	26
2.6.1Gonadotropin.....	26
2.6.2 Hormon Steroid.....	27
2.6.3 Pengaturan Hormon Pada Reproduksi Betina.....	30
2.7 Profil Protein.....	31
2.7.1 Metode Isolasi Protein.....	34
Kerangka Konsep Peran Ekstrak Etanol <i>P.Piloselloides</i> Pada Sintesis Protein Ovarium.....	36
2.8 Metode Ekstraksi.....	39
BAB III METODE PENELITIAN.....	43
3.1 Rancangan Penelitian.....	43
3.2 Variabel Penelitian.....	43
3.3 Tempat dan Waktu.....	44
3.4 Populasi dan Sampel.....	44
3.5 Alat dan Bahan.....	44
3.5.1 Alat.....	44
3.5.2 Bahan.....	45

3.6 Prosedur Penelitian.....	45
3.6.1 Persiapan Perlakuan.....	46
3.6.1.1 Persiapan Hewan Coba.....	46
3.6.1.2 Pembuatan Sediaan Larutan Na-CMC 0,5%.....	47
3.6.1.3 Pembuatan Larutan Lowry.....	47
3.6.1.4 Penyerentakan Siklus Birahi.....	47
3.6.1.5 Pemeriksaan Fase.....	47
3.6.1.6 Penentuan dan Pembuatan Dosis Perlakuan Daun Sisik Naga.....	48
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian.....	49
3.6.2.1 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba.....	49
3.6.3 Pengamatan dan Pengambilan Data.....	51
3.6.3.1 Identifikasi Protein Ovarium.....	51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	55
4.1 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>).....	55
4.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>) Terhadap Kadar Protein Ovarium Total Pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Betina.....	57
4.3 Profil Protein Ovarium Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Dengan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>).....	58
BAB V PENUTUP.....	66
5.1 Kesimpulan.....	66
5.2 Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA.....	67
LAMPIRAN.....	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>)	12
Gambar 2.2 Struktur Kimia Steroid	14
Gambar 2.3 Struktur Kimia Saponin	15
Gambar 2.4 Struktur Tanin	16
Gambar 2.5 Struktur Kimia Flavonoid	17
Gambar 2.6 Proestrus	22
Gambar 2.7 Estrus	23
Gambar 2.8 Metestrus	24
Gambar 2.9 Diestrus	24
Gambar 2.10 Oogenesis	26
Gambar 2.11 Biosintesis Hormon Steroid	29
Gambar 2.12 Kontrol Hormonal Pada Betina	31
Gambar 2.13 Jalur penghambatan flavonoid terhadap pengaturan sintesis StAR dan Steroidogenesis	37
Gambar 3.1 Alur Penelitian	63
Gambar 4.1 Profil Protein Ovarium Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Betina Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>)	59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Data Biologi Tikus Putih.....	19
Tabel 2.2 Beberapa Protein Yang Terdapat Pada Follikulogenesis.....	31
Tabel 2.3 Sitokin Yang Mempromosikan Pertumbuhan Folikel Antral.....	32
Tabel 2.4 Sitokin yang Menghambat Pertumbuhan Folikel dan/atau Mempromosikan Atresia.....	32
Tabel 2.5 Protein Ovarium yang Berperan dalam Tahap Oogenesis dan Follikulogenesis.....	33
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>).....	55
Tabel 4.2 Hasil Kadar Protein Total Ovarium setelah Pemberian Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>).....	56
Tabel 4.3 Berat Molekul (BM) Protein Ovarium Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Betina Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (<i>Pyrrosia piloselloides</i>).....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Konsep Penelitian.....	73
Lampiran 2. Kurva Standart Kadar Protein.....	74
Lampiran 3. Penentuan Berat Molekul Relatif.....	77
Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan Ekstark Etanol Daun Sisik Naga Dengan Metode Perkolasi.....	82
Lampiran 5. Skema Kerja Isolasi Protein Ovarium.....	83
Lampiran 6. Skema Kerja Pembuatan Kurva Standart BSA menggunakan Metode Lowry.....	84
Lampiran 7. Skema Kerja Pengukuran Kadar Protein Total Ovarium.....	85
Lampiran 8. Komposisi Larutan.....	86
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	88

ABSTRAK

Imam, Subandi. 2018. Profil Protein Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*). Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, Pembimbing Agama: Umayyatus Syarifah. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Kata kunci: Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*), Profil Protein Ovarium

Sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) merupakan tumbuhan paku dari golongan Polypodiaceae yang hidup secara epifit pada tumbuhan lain. Daun *Pyrrosia piloselloides* mengandung senyawa tannin-polifenol, saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid. Senyawa flavonoid dapat bertindak sebagai bahan antifertilitas yang dapat menghalangi aktivitas enzim StAR dan P450ssc dalam mentesis estrogen di dalam sel granulosa. Akibat penghambatan tersebut, maka peran estrogen dalam menstimulasi translasi protein ovarium akan ikut terganggu. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus betina, strain wistar berumur 2-3 bulan yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Dosis ekstrak *P. piloselloides* perlakuan 1 (P1) sebesar 0 mg/200g BB tikus, perlakuan 2 (P2) sebesar 25mg/200g BB, perlakuan 3 (P3) sebesar 50mg/200g BB, perlakuan 4 (P4) 75mg/200g BB, perlakuan 5 (P5) sebesar 100mg/200g BB, perlakuan 6 (P6) sebesar 125mg/200g BB. Ekstrak etanol sisik naga secara oral diberikan selama 15 hari untuk kemudian diukur profil protein ovarium dengan metode SDS-PAGE.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil protein ovarium setelah pemberian ekstrak etanol daun *P.piloselloides* adalah 26 pita protein yang terekspresi pada P1 dan P2, 12 pita protein pada P3, 13 pita protein pada P4, 10 pita protein pada P5, 5 pita protein pada P6. Jadi, ekstrak etanol sisik naga dengan dosis 50 mg/200g BB, 75mg/200g BB, 100mg/200g BB, 125mg/200g BB, dapat mempengaruhi ekspresi pita protein pada ovarium tikus putih betina.

ABSTRACT

Imam, Subandi. 2018. The Ovarian Protein Profile of White Rat (*Rattus norvegicus*) Females after the giving of The Ethanol Extracts of Leaves Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*). Supervisor Biology: Kholifah Holil, M.Si. Supervisor Religion: Syarifah Umaiyyatus, MA. Theses. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University (UIN) of Maulana Malik Ibrahim Malang.

Keywords: Leaves Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*), Ovarian Protein Profile

Sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) leaf is one a class Polypodiaceae, live in epiphyte on other plants. Leaves *Piloselloides pyrrosia* contains tannins-polyphenols, saponins, flavonoids, steroids, triterpenoid. Flavonoid compounds can act as a material capable of blocking the activity antifertility enzyme StAR and P450ssc estrogen in the granulosa cells. As a result of the inhibin, the role of estrogen in stimulating protein translation will be disrupted ovary. Therefore, this research aims to know the ovarian protein profile of mice (*Rattus norvegicus*) white females after the giving of the ethanol extracts of sisik naga leaves (*Pyrrosia piloselloides*).

The sample used in this study were 24 female rats, wistar strain, aged 2-3 months and divided into 6 treatment group. First dose (P1) were given ethanol extract of *P. piloselloides* leaves 0 mg/200 g BB rats, treatment 2 (P2) of 25mg/200 g BB, treatment 3 (P3) of 50 mg/200 g BB, 4 treatment (P4) 75mg/200 g BB, treatment 5 (P5) of 100 mg/200 g BB, treatment 6 (P6) of 125 mg/200 g BB. Ethanol extract of leaves administrated orally for 15 days and then measured ovarian protein profile with SDS-PAGE method.

The results showed that ovarian protein profiles after the giving of the ethanol extracts of leaves of *p. piloselloides* is 26 protein band showed in P1 and P2, 12 protein bands in P3, 13 protein bands in P4, 10 protein bands in P5 and 5 protein band in P6. In conclusion, ethanol extract of sisik naga with dose 50 mg/200g BB, 75 mg/200g BB, 100 mg/200g BB and 125 mg/200g BB, will be effect the expression of protein band on the rat ovary.

مستخلص البحث

إمام, سبندي. 2018. المبيض الملف البروتيني من الفئران البيضاء (*Rattus norvegicus*) الإناث بعد استخراج الإيثانول يترك التين المقاييس (*Pyrrosia piloselloides*). المشريف في قسم الحياة: خليفة حلل, المشريف في الديني: امية الشريفة. البحث الجامعي. قسم الحياة كليات العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

الكلمات المفتاحية: يترك موازين التين (*Pyrrosia piloselloides*) , المبيض بروتين الملف ورقة سيسيك ناكي (*Pyrrosia piloselloides*) احد من مصانع الأظافر من مجموعة بوليبيودياسي التي تعيش إبيبت في النباتات الأخرى. ورقة *Pyrrosia piloselloides* يحتوي على مركبات المدافع، الصابديه، الستيرويد، تراتيبينيد و فلافونيدس. مركبات الفلافونويد قد تكون بمثابة عوامل مضادة للخصوبة والتي يمكن منع نشاط الانزيم StAR و P450ssc في إخصاب هرمون الاستروجين في خلايا حبيبية. كان نتيجة تخلفها، ثم سيتم تعطيل دور هرمون الاستروجين في تحفيز ترجمة البروتين المبيض. قبل ذلك، أهداف من هذا البحث لتعريف المبيض الملف البروتيني من الفئران البيضاء (*Rattus norvegicus*) الإناث بعد استخراج الإيثانول يترك التين المقاييس (*Pyrrosia piloselloides*).

إستعمل في هذا خطة العشوائية الكاملة (RAL) بالأجسام الذي إستعمل في هذا البحث هي أربع وعشرون أنثى من الفئران, سلالات اثنين إلى ثلاثة ويستار مقسمة إلى ست مجموعات العلاج. المزيد من الجرعات *P. piloselloides* العلاج الأول (P1) كبير مثل 0 mg/200g BB الفئران, العلاج الثاني (P2) كبير مثل 25mg/200g BB, العلاج الثالث (P3) كبير مثل 50mg/200g BB, العلاج الرابع (P4) كبير مثل 75mg/200g BB, العلاج الخامس (P5) كبير مثل 100mg/200g BB, العلاج السادس (P6) كبير مثل 125mg/200g BB. تم إعطاء مستخلص الإيثانول من موازين التين شفويا لمدة خمسة عشر يوما ليقاس بعد ذلك ملف بروتين المبيض بالطريقة SDS-PAGE.

نتيجة من هذا البحث دلّت أن المبيض البروتين بعد إدارة استخراج الإيثانول من ورقة *P. piloselloides* هي تتم التعبير عن ستة وعشرين بروتين العصابات في العلاج الأول و العلاج الثاني, اثني عشر بروتين العصابات في العلاج الثالث, ثلاثة و عشرين بروتين العصابات في العلاج الرابع, عشرة بروتين العصابات في العلاج الخامس, خمسة بروتين العصابات في العلاج السادس. لذلك، استخراج جداول الإيثانول نغا مع الجرعة 50 mg/200g BB, 75mg/200g BB, 100mg/200g BB, 125mg/200g BB, يمكن أن تؤثر على التعبير الفرقة البروتين في الإناث الإناث المبيضين البيض.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang mempunyai sumber hayati yang banyak, sehingga memiliki kesempatan yang lebih banyak untuk memperoleh bahan antifertilitas yang berasal dari tanaman. Widaryanto (2008) dalam Rahayu (2013) melaporkan bahwa Indonesia memiliki 30.000 jenis tanaman. Namun diantara tanaman tersebut, baru 7.000 spesies yang telah dikenalkan dapat dimanfaatkan untuk pengobatan, termasuk 52 spesies yang diperkirakan mempunyai efek antifertilitas (Dewahrani, 1995). Sedangkan sebagian besar belum diketahui manfaatnya. Oleh karena itu, eksplorasi tanaman sebagai antifertilitas sangat perlu terus dilakukan. Kepentingan untuk mengetahui manfaat tanaman yang belum banyak diketahui manfaatnya telah dijelaskan dalam al-Qur'an surat An-Nahl(16); 11:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya : *“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan”*.

Pada ayat di atas terdapat kata (الزرع) pada tafsir al-Qurtubi (2008) menjelaskan yang dimaksud dengan tanam-tanaman adalah tanaman yang panjang usianya maupun tanam-tanaman yang berumur pendek yang paling banyak manfaatnya. Satu dari beberapa tanaman yang susah berumur panjang dan banyak manfaatnya adalah sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*).

Paku sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) merupakan tumbuhan yang belum banyak diketahui manfaatnya. Beberapa riset yang dilakukan masih terbatas melaporkan peran ekstrak etanol sisik naga untuk mempercepat proses penyembuhan luka (Ariyani, 2010), antibakteri (Cahyadi, 2014; Rahmaningtyas, 2012), hemostatis (Rahayu, 2013), sitotoksik terhadap sel kanker P388 (Sahid, 2013), mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid (Malinda, 2013), antihiperglikemia (Yanti, 2013), dan sitotoksik pada sel kanker payudara T47D (Hetu, 2008). Peranan ekstrak sisik naga tersebut dimungkinkan karena kandungan senyawa fitokimia berupa flavonoid, tanin, triterpenoid-steroid (Rahmaningtyas, 2012), polifenol (Cahyadi, 2014), dan saponin (Rahayu, 2013), yang dapat bekerja sebagai faktor infertilitas.

Beberapa hasil penelitian yang menunjukkan peran bahan tersebut adalah Chaqiqi (2013); Rahayu (2013); dan Sa'adah (2016). Chaqiqi (2013) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sisik naga mampu menghambat proses spermatogenesis dan berat testis tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hasil penelitian Rahayu (2013) menunjukkan ekstrak etanol sisik naga pada dosis 10,8 mg/200g BB tikus menyebabkan tidak terespresinya 5 jenis protein testikuler sehingga mengakibatkan testosteron menurun. Ketidakhadiran jenis protein testikuler ini diduga dapat menghambat proses spermatogenesis. Sedangkan penelitian Sa'adah (2016) menunjukkan bahwa sisik naga dapat meningkatkan jumlah sel granulosa folikel kambing betina secara in vitro. Perkembangan folikel mulai dari primordial hingga de Graaf sangat mempengaruhi kualitas oosit yang siap dibuahi spermatozoa. Oleh karena itu perlunya dilakukan pengamatan kerja protein-

protein yang mempengaruhi folikulogenesis maupun oogenesis pada ovarium setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga secara *in vivo*.

Ovarium merupakan tempat terjadinya folikulogenesis yang mempengaruhi kualitas oosit. Perkembangannya meliputi folikel primordial menjadi folikel sekunder berkembang menjadi folikel tersier, dan terakhir menjadi folikel de Graaf kemudian berubah menjadi korpus luteum (Yatim, 1994). Proses ini akan berlangsung selama folikel primer tersedia dan dipengaruhi oleh inhibin serta hormon. Inhibin merupakan derivat protein gonad yang berperan penting dalam mengatur *feedback* antara kelenjar pituitary dengan gonad (Chada, 2003). Sedangkan hormon dan protein lainnya berperan sebagai pengatur metabolisme pada ovarium, terutama terkait dengan maturasi oosit. Secara *in vivo* hormon GnRH, FSH, LH, estrogen, dan progesteron merupakan hormon kunci dalam metabolisme yang terjadi pada ovarium.

Follicle stimulating hormone (FSH) merupakan hormon glikoprotein hipofisis (GPH) yang mempengaruhi pembentukan folikel. FSH mempunyai berat molekul 30 kDa (Hermadi, 2011) dan bertanggung jawab dalam proses maturasi oosit, sehingga ketika FSH kurang maka kualitas oosit yang dihasilkan akan rendah. Kurangnya kadar FSH pada tubuh disebabkan inhibin yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa sebagai reaksi *feed back negative*. Protein sebagai inhibin dari sel granulosa pada mempunyai berat molekul 32 kDa (Amiruddin, 2010). FSH membentuk folikel yang akan merangsang produksi estrogen.

Estrogen merupakan hormon steroid dengan 10 atom C dan dibentuk dari 17-ketosteroid androstendion (Ganong, 2003), yang memiliki berat molekul reseptor α nya sebesar 45 kDa (Kusmana, 2007). Estrogen merupakan satu dari

beberapa hormon yang dihasilkan ovarium. Fungsi estrogen adalah memicu proliferasi endometrium, memperkuat kontraksi uterus (Iswayuni, 2011), menjaga kualitas dan kuantitas cairan cerviks dan vagina (Sherwood, 2001). Pada ovarium estrogen akan meningkat seiring perkembangan folikel (Ganong, 2003).

Lutheinizng hormon merupakan hormon glycoprotein karena mengandung 216 endapan asam amino dan karbohidrat sekitar 20% dengan berat molekul 30.000 Da. Deretan asam amino dan karbohidratnya hampir serupa dengan FSH, tetapi LH tidak mengandung tryophan dan sangat sedikit mengandung asam sialat (Partodihardjo, 1992). Menurut Motta (1996) dalam Hermadi (2011) melaporkan berat molekul protein LH pada sebesar 28,5-30 kDa. LH merangsang pematangan sel telur dan meninggalkan folikel, mengakibatkan folikel berubah menjadi kopus luteum yang memproduksi progesteron.

Progesteron terbentuk oleh 3α -hydroxy-5, β -pregnan-20-one (pregnanolone), bertanggung jawab mempersiapkan endometrium untuk tempat perkembangan embrio. Progesteron dapat menekan secara spontan proses pematangan oosit tikus (Barret dan Power, 1993). Berat Hormon-hormon yang telah dijelaskan pada diatas sangat berpengaruh pada perkembangan oosit.

Secara alami oosit menghasilkan molekul protein yaitu GDF-9 (*Growth Differentiation Factor-9*) yang digunakan untuk pendewasaan dan pematangan oosit. Pada pematangan oosit yang normal maka GDF-9 sangat diperlukan sampai terjadi ovulasi. mRNA GDF-9 tetap diproduksi hingga setelah fertilisasi. Menurut Spicer (2008) melaporkan bahwasannya peningkatan GDF-9 bersifat antagonis dengan LH secara alami dalam sel kumulus dan memiliki sistem kerja yang sinergis dengan FSH. Selain itu Vitt (2002) melaporkan GDF-9 dapat

mempengaruhi sintesis DNA pada sel granulosa dan proses penurunan cAMP sehingga proses meiosis dapat berlangsung dan Widjati (2008) melaporkan bahwa protein dengan berat molekul 51 kDa diidentifikasi sebagai protein yang diduga GDF-9 yang berperan dalam proses maturasi oosit.

Proses maturasi oosit dipengaruhi oleh faktor dalam dan luar tubuh. Faktor dalam meliputi kadar hormon, inhibin, enzim sedangkan faktor luar meliputi makanan yang dikonsumsi. Faktor luar ini sangat berpengaruh pada faktor dalam yang dapat menghambat maupun mempercepat produksi hormon dan inhibin. Oleh karena itu Allah SWT memerintahkan manusia untuk memperhatikan makanan yang dikonsumsi, karena didalam makanan terdapat bahan aktif yang dapat mempengaruhi metabolisme dalam tubuh. Bahan aktif yang dapat mempengaruhi faktor-faktor tersebut adalah fitoestrogen yang berbentuk flavonoid.

Senyawa flavonoid digunakan dalam pengaturan antifertilitas karena mampu menghambat steroidogenesis. Senyawa tersebut menghambat aktivitas MAP Kinase yang diperlukan untuk fosforilasi StAR (*Steroidogenesis Acute Regulatory Protein*), sehingga StAR tidak dapat membawa kolesterol menuju mitokondria. Selain itu, flavonoid dilaporkan juga dapat berikatan dengan enzim P450ssc (*cytochrome P450 cholesterol side chain cleavage enzyme*) yang menghalangi terbentuknya ikatan enzim P450ss-kolesterol, sehingga P450ssc tidak mampu mengkonversi kolesterol menjadi pregnenolon (Svechnikov dkk., 2010; Wang, 2006). Hal tersebut mengakibatkan konversi pregnenolon menjadi progesteron, 17α -OH- progesteron, androstenedion hingga menghasilkan estrogen pun akan menurun.

Sintesis beberapa protein yang terlibat dalam oogenesis yang dikemukakan diatas dapat dilihat melalui metode elektroforesis *sodium dodecyl sulphate-polyacrilamide gel electroforesis* (SDS-PAGE). Elektroforesis SDS-PAGE merupakan metode yang sering digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi protein. Elektroforesis SDS-PAGE juga bisa digunakan untuk menentukan berat molekul protein serta verifikasi konsentrasi protein (Fatchiyah, 2011). Hasil akhir dari proses dengan menggunakan elektroforesis SDS-PAGE adalah yang terwarnai oleh *coomasie brilliant blue*.

Identifikasi protein ovarium atas pengaruh estrogen menggunakan SDS-PAGE telah banyak dimanfaatkan oleh berbagai peneliti. Kusmana (2007) mengemukakan bahwa pita protein RE α mempunyai berat molekul 45 kDa protein tersebut merupakan protein yang berfungsi dalam pengikatan hormon estrogen, apabila berat molekul protein tersebut hilang atau terlihat samar (menunjukkan kadar yang sedikit) sehingga estrogen tidak bias bekerja dengan baik, hal ini berakibat pada penghambatan pematangan oosit.

Fitoestrogen bekerja melalui reseptor estrogen (agonis), seperti banyak yang dijumpai di susunan saraf pusat, pembuluh darah, tulang dan kulit. Isofafon dapat disebut sebagai SERM (*Selective estrogen receptor modulator*), karena tidak memiliki efek terhadap uterus dan payudara (Baziad, 2003). Namun, jika kadar estrogen dalam tubuh tinggi, isoflavon dapat bersifat antiestrogen (antagonis), dapat menghilangkan keluhan sindrom prahaid pada wanita usia muda, dapat mengurangi pembesaran miouterus, mengurangi keluhan akibat endometriosis dan dapat digunakan untuk pengobatan hiperplasia endometrium..

Mukholifah (2015) melaporkan bahwa pemberian dosis kombinasi ekstrak pegagan dengan beluntas 25 mg/200g BB tikus dapat menurunkan jumlah folikel penurunan perkembangan folikel primer, tetapi tidak pengaruh pada folikel sekunder, dan tersier, hal dimungkinkan karena terjadi penghambatan enzim steroidogenesis yang dipengaruhi oleh berbagai protein ovarium. Sedangkan penelitian tentang profil protein ovarian dan setelah pemberian ekstrak etanol sisik naga hewan betina belum banyak diteliti. Oleh karena itu, riset ini perlu dilakukan untuk memperbanyak informasi mengenai manfaat ekstrak sisik naga dibidang reproduksi betina dan mengetahui efek yang ditimbulkannya pada profil protein ovarian. Parameter yang digunakan adalah berat molekul protein dan perbedaan protein yang dihasilkan pada ovarium.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: Bagaimana profil protein ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*P. piloselloides*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil protein ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*P. piloselloides*).

1.4 Hipotesis

Terjadi perbedaan profil protein ovarium tikus betina (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak etanaol daaun sisik naga (*P. piloselloides*).

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Secara teoritis, penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai profil protein ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*P. piloselloides*).
2. Secara aplikatif, penelitian ini diharapkan dapat memberikan rekomendasi bagi Departemen Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional (BKKBN), lembaga terkait maupun pembaca dalam penggunaan sisik naga (*P. piloselloides*) sebagai antifertilitas bagi wanita.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor, berumur 2-3 bulan dengan berat 200-250 gram dari strain wistar.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode perkolasi dengan pelarut etanol 96%. Bahan ekstraksi berupa daun sisik naga, yang di beli di Meteria Medica Batu.
3. Dosis ekstrak daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) yang diberikan dalam perlakuan adalah 25mg/200g BB, 50mg/200g BB, 75mg/200g BB, 100mg/200g BB, 125mg/200g BB. Berat badan dosis ditentukan berdasarkan penimbangan berat badan tikus setelah aklimatisasi. Dosis diberikan selama 15 hari secara oral, setelah 15 hari sejak hari ke-1 setelah aklimatisasi.

4. Parameter dalam penelitian ini adalah berat molekul pita protein ovarian tikus yang diisolasi dari organ ovarium kemudian terekspresi setelah elektroforesis SDS-PAGE.



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

2.1.1 Tinjauan Umum Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

Beranekaragamnya tumbuhan di permukaan bumi serta memiliki manfaat masing-masing hal tersebut sesuai dengan firman Allah dalam QS. Qaaf (50): 9:

وَنَزَّلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً مُّبَرَّكَاً فَأَنْبَتْنَا بِهِ جَنَّاتٍ وَحَبَّ الْحَصِيدِ ﴿٩﴾

Artinya : “dan Kami turunkan dari langit air yang banyak manfaatnya lalu Kami tumbuhkan dengan air itu pohon-pohon dan biji-biji tanaman yang diketam”.

Pada ayat tersebut terdapat kata (جنت) yang berarti tananaman. Menurut Tafsir Ibnu katsir kata tersebut berarti taman-taman, kebun-kebun, sedangkan Jalaluddin (tanpa tahun) mengartikan kata ini yaitu lading-ladang. Maka, hujan diturunkan kepadanya, menjadi subur dan hijauhlah karena tumbuh-tumbuhannya (Abdullah, 2003). Salahsatu tumbuhan hijau sisik naga (*P. piloselloides*) yang banyak manfaatnya antara lain sebagai obat gondongan (*parotitis*), TBC kulit dengan pembesaran kelenjar getah bening (*skrofuloderma*), sakit kuning (*jaundice*), batuk, abses paru-paru, pendarahan pada perempuan, rematik, keputihan, kanker payudara, mimisan mengobati gondongan (*parotitis*), sukar buang air besar (sembelit), disentri, kencing nanah (*gonore*), rematik, keputihan (*leokore*) (Dalimartha, 1999).

Daun sisik naga merupakan jenis tumbuhan yang telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Sisik naga merupakan tanaman epifit yang tumbuh liar di batang dan dahan pohon, sehingga dapat dengan mudah ditemukan di lingkungan

sekitar. Sisik naga berukuran kecil, merayap, dan bersisik (Tjitrosoepomo, 2006), rasanya manis namun sedikit pahit, dan dingin, dan hidup di daerah yang lembab (Hetu, 2008).

2.1.2 Taksonomi Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

Taksonomi *P. piloselloides* dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut (Hovenkamp, 1998):

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Pteridophyta
Class	: Pteridopsida
Ordo	: Polypodiales
Familia	: Polypodiaceae
Genus	: Pyrrosia
Spesies	: <i>Pyrrosia piloselloides</i> (L.) M.G. Price
Synonym	: <i>Drymoglossum piloselloides</i>

2.1.3 Deskripsi Morfologi Sisik Naga

Tjitrosoepomo (2006) mendefinisikan morfologi daun sisik naga berbentuk jorong memanjang, ujungnya tumpul atau membundar, pangkal runcing, bertepi rata, tebal berdaging, dan bertangkai pendek. Permukaan daun yang tua tidak berambut atau berambut jarang pada permukaan bawahnya. Warna daunnya hijau sampai hijau kecokelatan. Daun yang fertil mengandung spora, bertangkai pendek atau duduk, berbentuk oval memanjang, panjangnya 1-5 cm, dengan lebar 1-2 cm. Sedangkan daun yang steril tidak mengandung spora, berbentuk bulat, panjangnya 1-3 cm, dengan lebar 1-2 cm (Gambar 2.1). Hal ini sudah dijelaskan pada Surat Al-Anaam (6):11.

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْثَرَهُ
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ
حَصَادِهِ ۖ وَلَا تُسْرِفُوا ۚ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya: Dan dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.

Berdasarkan ayat di atas, menurut tafsir Al-Misbah, firman Allah SWT lafadz *جنت معروشت* artinya kebun-kebon yang kuat dan tinggi. Sedangkan lafadz *وغير معروشت* artinya kebun-kebon yang tidak tinggi. Ibnu Abbas RA berkata lafadz *معروشت* artinya tanaman yang tumbuh merambat di atas tanah seperti pohon anggur dan pohon semangka (Shihab,2002). Dengan demikian, ciri tanaman sisik naga yang merambat pada pohon termasuk salah satu jenis tanaman berjunjung yang dicirikan pada ayat diatas.



Gambar 2.1 Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) (Dokumen pribadi, 2016)

Daun sisik naga berwarna hijau sampai hijau kecoklatan. Pada umumnya, daun tanaman ini bertangkai pendek, tebal berdaging, berbentuk jorong atau jorong memanjang, ujungnya tumpul serta tepi daunnya rata. Bentuk daun sisik

naga yang bulat sampai jorong hampir sama dengan uang logam picisan, sehingga tanaman ini juga dinamakan picisan. Jarak tumbuh antara daun yang satu dengan daun yang lainnya sangat pendek. Daun sisik naga dibagi menjadi dua jenis yaitu daun sisik naga berspora dan daun sisik naga mandul. Daun sisik naga berspora dapat dikembangbiakkan dengan spora yang dimiliki, sedangkan daun sisik naga yang mandul dikembangbiakkan dengan pemisahan akar (Rahayu, 2013).

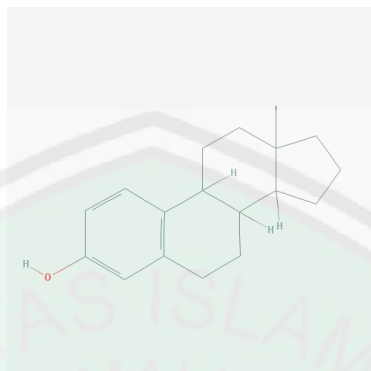
3.5.12.1.4 Kandungan Daun Sisik Naga (*P. piloselloides*)

Daun sisik naga (*P. piloselloides*) mengandung senyawa bioaktif seperti steroid, saponin, polifenol, minyak atsiri, fenol, flavonoid dan tanin (Susilowati, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Susilowati (2013) juga mengemukakan bahwa kandungan bioaktif yang ada pada daun sisik naga berpotensi sebagai antifungi dan antibakteri. Penjelasan lebih rinci senyawa bioaktif yang terkandung dalam sisik naga adalah sebagai berikut :

2.1.4.1 Steroid

Steroid adalah sebuah kelas tanaman metabolit sekunder. Steroid merupakan senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang merupakan hasil reaksi dari turunan terpena atau skualena. Steroid mempunyai kerangka dasar triterpena asiklik (Poedjiaji, 2007) (Gambar 2.2). Steroid digolongkan sebagai lipid karena tidak dapat larut dalam air. Steroid yang ada pada tumbuhan atau disebut juga fitosterol dapat diekstraksi menggunakan eter atau metanol (Rahayu, 2013). Steroid merupakan bahan utama yang dapat membentuk suatu hormon, bila hormon estrogen tinggi akan terjadi umpan balik negatif GnRH yang mengakibatkan menurunnya FSH. Sehingga folikel dan sintesis estrogen juga

menurun, yang mengakibatkan hormon LH tidak terekspresi atau menurun (Styowati, 2015)



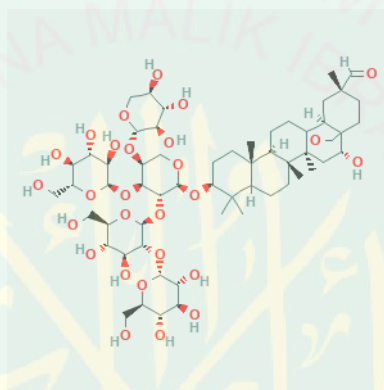
Gambar 2.2 Struktur Kimia Steroid (NCBI, 2016)

2.1.4.2 Senyawa Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang banyak ditemukan pada tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga (Wati, 2010). Saponin merupakan bahan aktif yang bersifat fitoestrogen, sehingga bersifat kompetitif terhadap estrogen untuk berikatan dengan reseptor estrogen. Bila reseptor estrogen berikatan dengan fitoestrogen akan mengakibatkan tidak terjadi kerja dalam sel, sehingga tidak terproduksi protein tertentu (Ariani, 2008).

Saponin mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa atau methylpentosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik

(sapogenin) berupa triterpenoid, steroid atau steroid alkaloid. Aglikon dapat mengandung satu atau lebih ikatan C-C tak jenuh. Rantai oligosakarida umumnya terikat pada posisi C3 (monodesmosidic), tetapi beberapa saponin mempunyai gugus gula tambahan pada C26 atau C28 (bidesmosidic). Struktur saponin yang sangat kompleks terjadi akibat bervariasinya struktur aglikon, sifat dasar rantai dan posisi penempelan gugus gula pada aglikon. Struktur kimia Saponin seperti pada gambar 2.3 di bawah ini (Wati, 2010).



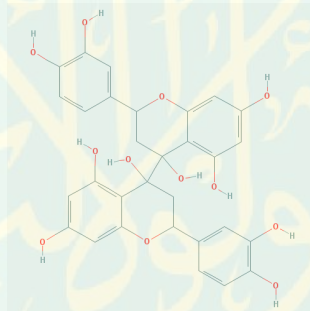
Gambar 2.3 Struktur Kimia Saponin (NCBI, 2017)

2.1.4.3 Senyawa Tanin

Tanin adalah senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol dengan gugus OH. Senyawa tanin yang banyak ditemukan pada tumbuhan yang berpembuluh. Tanin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis dan berwarna coklat kuning yang ditampilkan pada gambar 2.4. Sebagian tumbuhan yang bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat (Harborne, 1987).

Tanin merupakan senyawa fenolik yang larut dalam air. Senyawa ini dapat larut dalam air panas, serta dapat membentuk koloid. Senyawa tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol dan aseton (Risnasari, 2002).

Robinson (1991) menyatakan bahwa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase. Senyawa tanin juga dapat menyerap racun dan dapat menggumpalkan protein (Abdillah, 2006). Perannya dalam reproduksi tanin yang bersifat sitotoksik terhadap sel yang bersifat mitotic. Sama halnya dengan proses oogenesis, tanin juga bersifat sitotoksik terhadap proses ini.

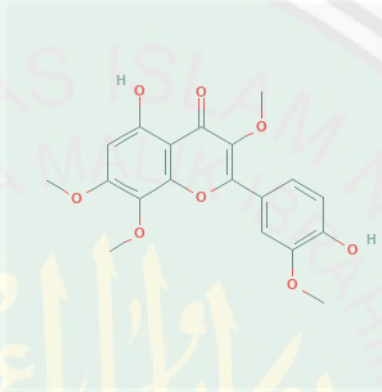


Gambar 2.4 Struktur Tanin (NCBI, 2016)

2.1.4.4 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid mempunyai dua cincin aromatis dengan 3 atom C diantara cincin (C6-C3-C6) ditampilkan pada gambar 2.5 (Markham, 1988). Sedangkan menurut Harbone (1987) flavonoid dapat digolongkan menjadi 6 kelas, yaitu flavone, flavonone, isoflavone, flavonol, flavanol, dan anthocyanin (Hartoyo, 2003). Selain itu Harbone (1996) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan

menggunakan etanol 70% serta akan tetap larut dalam lapisan air. Struktur flavonoid yang homolog dengan hormon estrogen akan berkaitan dengan reseptor hormon estrogen, akan tetapi tidak menstimulasi reseptor tersebut, akibatnya aksi hormon estrogen akan berkurang (Setyowati, 2015)



Gambar 2.5 Struktur Kimia Flavonoid (NCBI, 2017)

2.2. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina

2.2.1 Tinjauan Umum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina

Percobaan ini menggunakan tikus putih, kelebihan dari tikus putih sebagai binatang percobaan antara lain bersifat omnivora (pemakan segala) serta mempunyai jaringan yang hampir sama dengan manusia. Tikus putih betina juga memiliki banyak darah dan ukuran organ-organ yang lebih besar dibandingkan dengan mencit sehingga lebih mudah diamati serta lebih resisten terhadap penyakit (Kusumawati, 2004).

2.2.2 Taksonomi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Taksonomi tikus putih dalam sistematika hewan percobaan adalah sebagai berikut (Jasin, 1984):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Subclassis	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

2.2.3 Morfologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina

Tikus putih merupakan hewan berkaki empat yang besar dari famili tikus umumnya. tikus ini berwarna putih serta memiliki panjang mencapai 40 cm diukur dari hidung sampai ujung ekor. Berat badan tikus putih dapat mencapai 140-500 gr. Data biologi tikus putih lengkap seperti disajikan pada tabel 2.1 (Kusumawati, 2004). Ciri-ciri yang dimiliki tikus tersebut telah dijelaskan pula dalam Al-qu'an surat An-nuur(24); 45 :

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ تَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya: "Dan Allah Telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu".

Berdasarkan ayat tersebut, kalimat (ومنهم من يمشي علي أربع) dijelaskan dalam tafsir al-Qurthubi (2008) bahwa yang dimaksud dengan hewan yang berjalan dengan empat kaki adalah semua binatang, selain ular (yang berjalan di atas perutnya) serta manusia dan burung (yang berjalan dua kaki). Maka tikus merupakan salah satu hewan yang telah dijelaskan dalam ayat tersebut yang berjalan di atas empat kaki.

Tabel 2.1 Data Biologi Tikus Putih

No.	Kondisi Biologi	Jumlah
1	Berat badan: - jantan - betina	Berat badan: - 300-500 gr - 250-300 gr
2	Lama hidup	2,5-3 tahun
3	Temperatur tubuh	37,5°C
4	- Kebutuhan air - Kebutuhan makanan - Umur dewasa	- 8-11 ml/100 grBB - 10 gr/100 grBB - 50-60 hari
5	Volume darah	57-70 ml/kg
6	Tekanan darah - Sistolik - Diastolik	- 84-174 mmHg - 58-145 mmHg
7	Frekuensi jantung	330-480 / menit
8	Frekuensi respirasi	66-11 / menit
9	Tidal volume	0,6-1,25 mm

Terdapat tiga galur atau varietas tikus yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan yaitu galur *Sprague-Dawley* berkepala kecil, berwarna albino putih dan ekornya lebih panjang dari badannya. Galur *Wistar* yang memiliki kepala besar dan ekor yang lebih pendek. Galur *Long Evans* yang lebih kecil dari tikus putih dan memiliki warna hitam pada kepala dan tubuh bagian depan (Malole dan Pramono, 1989). Pada penelitian ini digunakan tikus putih jantan galur *Wistar* karena sifatnya yang mudah menyesuaikan diri dengan lingkungan serta lebih mudah ditangani (Smith, 1987).

2.3 Sistem Reproduksi Hewan Betina

Sistem reproduksi terdiri dari berbagai organ reproduksi, oogenesis dan hormon reproduksi.

2.3.1 Tinjauan Umum Anatomi dan Fisiologi Reproduksi Tikus Betina

Partodihardjo (1992) menjelaskan bahwa secara anatomik, organ (alat) reproduksi hewan betina dapat dibagi menjadi 3 bagian besar, yaitu:

1. Gonad

Gonad pada reproduksi betina adalah ovarium. Bentuk ovarium sangat bervariasi sesuai dengan spesies dan tergantung pada hewannya, apakah ia termasuk golongan politokus ataupun monotokus (hewan yang melahirkan lebih dari satu). Ovarium adalah kelenjar berbentuk biji, terletak di kanan dan kiri uterus di bawah tuba uterin dan terikat di sebelah belakang oleh mesovarium. Ovarium merupakan pabrik penghasil telur dan hormon kelamin yaitu estrogen dan progesteron. Ovarium tempat berkembangnya folikel telur, yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graaf, korpus rubrum, korpus luteum dan korpus albikan. Folikel telur adalah sel telur yang dilingkupi oleh sel-sel granulosa (sel folikel) dengan ketebalan lapisan yang bervariasi, sesuai dengan tingkat perkembangannya.

Ovarium diselubungi oleh selapis membran yang berasal dari lapisan peritonium, yang kemudian berubah menjadi bentuk kubus disebut epitel germinal (Yatim, 1994) ovarium berfungsi sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Sebagai kelenjar eksokrin berfungsi menghasilkan telur dan sebagai kelenjar endokrin berfungsi menghasilkan hormon steroid yaitu estrogen, progesteron, relaxin dan inhibin (Susilawati, 1992).

2. Saluran Reproduksi

Saluran reproduksi pada betina meliputi (Yatim, 1994):

a. Oviduk

Saluran ini terdapat sepasang dan merupakan penghubung antara ovarium dengan uterus. Oviduk terdiri dari bagian interstisialis, bagian isthmika, bagian ampularis dan infundibulum yang berfimbria. Oviduk berfungsi pada saat

ovulasi dimana ovum disapu ke dalam ujung oviduk yang berfimbria. Fungsi lain dari oviduk adalah kapasitas sperma, fertilisasi, dan pembelahan embrio yang terjadi dibagian ampula. Pengangkutan sperma ke tempat fertilisasi dan pengangkutan ovum ke uterus diatur oleh kontraksi muskuler yang dikoordinir oleh hormone ovarial, estrogen dan progesteron (Yatim,1994).

b. Uterus

Uterus adalah suatu struktur saluran muskuler yang diperlukan untuk penerimaan ovum yang dibuahi, penyediaan nutrisi dan perlindungan fetus, serta stadium permulaan ekspulsi fetus pada waktu kelahiran. Dinding uterus terdiri dari 3 lapisan yaitu membran serosa (Perimetrium), merupakan lapisan terluar yang membungkus uterus yang terdiri dari jaringan ikat. Miometrium merupakan lapisan ke dua yang terdiri dari otot polos yang mengandung pembuluh darah dan limpa. Sedangkan lapisan ketiga adalah endometrium merupakan tempat nidasi atau implantasi serta perkembangan embrio bagi mencit yang bunting. Bagi mencit yang tidak bunting endometrium merupakan selaput lendir yang mengandung kelenjar dan pembuluh darah (Partodiharjo, 1992). Ketebalan selaput lendir dan vaskularisasi pada endometrium bervariasi sesuai dengan perubahan-perubahan hormon ovarium yaitu estrogen, progesteron dan kehamilan (Frandsen, 1992; Nalbandov, 1990).

c. Alat reproduksi bagian luar

Vagina merupakan alat reproduksi luar dari betina. Vagina terbagi menjadi dua bagian yaitu vestibulum (bagian luar vagina) dan vagina posterior (dari muara uterus sampai serviks). Dinding vagina terdiri dari mukosa, muscularis dan serosa. Pada betina yang memiliki siklus normal, sel-sel epithelium yang membatasi

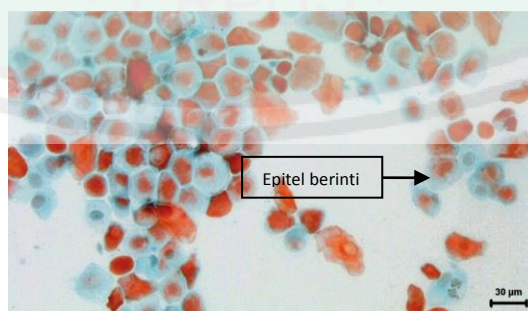
vagina mengalami perubahan secara periodik yang dikontrol oleh hormon yang disekresikan oleh ovarium. Vagina merupakan saluran panjang yang terletak dorsal terhadap urethra dan ventral terhadap rektum, sebagai tempat penumpahan semen dari individu jantan (Yatim, 1994).

2.4 Siklus Estrus pada Tikus Putih Betina

Siklus estrus pada tikus putih betina terdiri atas empat fase, yaitu fase diestrus, proestrus, estrus dan metestrus, antara lain:

1. Fase proestrus

Fase proestrus dimulai saat korpus luteum mulai mengecil sehingga kadar hormon progesteron semakin turun, berakhir fase ini sampai hewan benar-benar estrus (Feradis, 2010). Pada fase ini folikel de graaf tumbuh dibawah pengaruh FSH dan menghasilkan sejumlah estradiol yang makin bertambah (Toelihere, 1981). Fase ini berlangsung kira-kira 12 jam. Preparat apusan vagina didominasi oleh sel-sel epitel berinti, yang muncul secara tunggal atau berbentuk lapisan (Smith, 1987; Turner, 1988) ditampilkan pada gambar 2.6 dibawah ini.

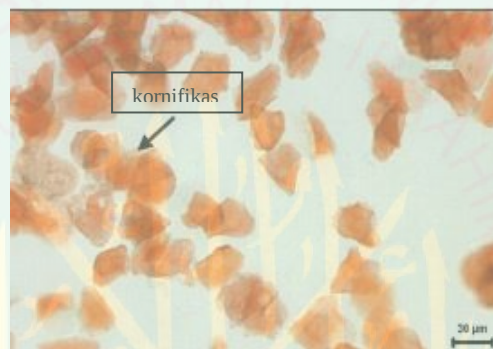


Gambar 2.6 Proestrus (Paccola, 2013)

2. Fase Estrus

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel de graaf

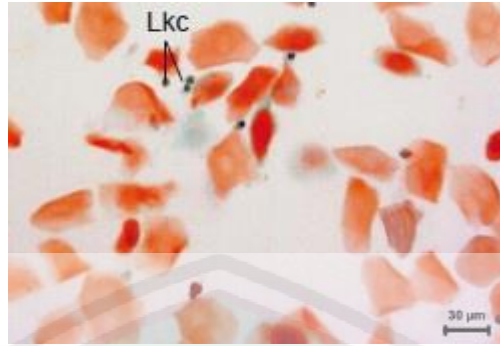
membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar (Hunter, 1995) ditampilkan pada gambar 2.7 dibawah ini.



Gambar 2.7 Estrus (Paccola, 2013)

3. Fase Metesetrus

Fase ini terjadi segera setelah ovulasi, ditandai dengan terbentuknya korpus luteum di bawah pengaruh LH. Banyak leukosit muncul di dalam lumen vagina bersama dengan sedikit sel-sel menanduk (Faradis, 2010; Turner, 1988). Fase metestrus dibagi menjadi 2 stadium yaitu stadium 1 yang berlangsung kira-kira 15 jam dan stadium 2 kira-kira berlangsung selama 6 jam (Smith, 1987) ditampilkan pada gambar 2.8 dibawah ini.

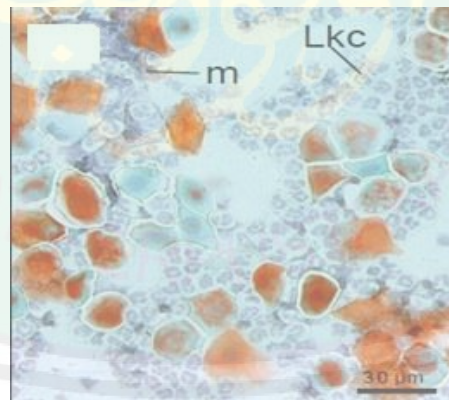


Gambar 2.8 Metestrus (Paccola, 2013)

Lkc: leukosit

4. Fase Diestrus

Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih, mukus dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen (Hunter, 1995) ditampilkan pada gambar 2.9 dibawah ini.



Gambar 2.9 Diestrus (Paccola, 2013)

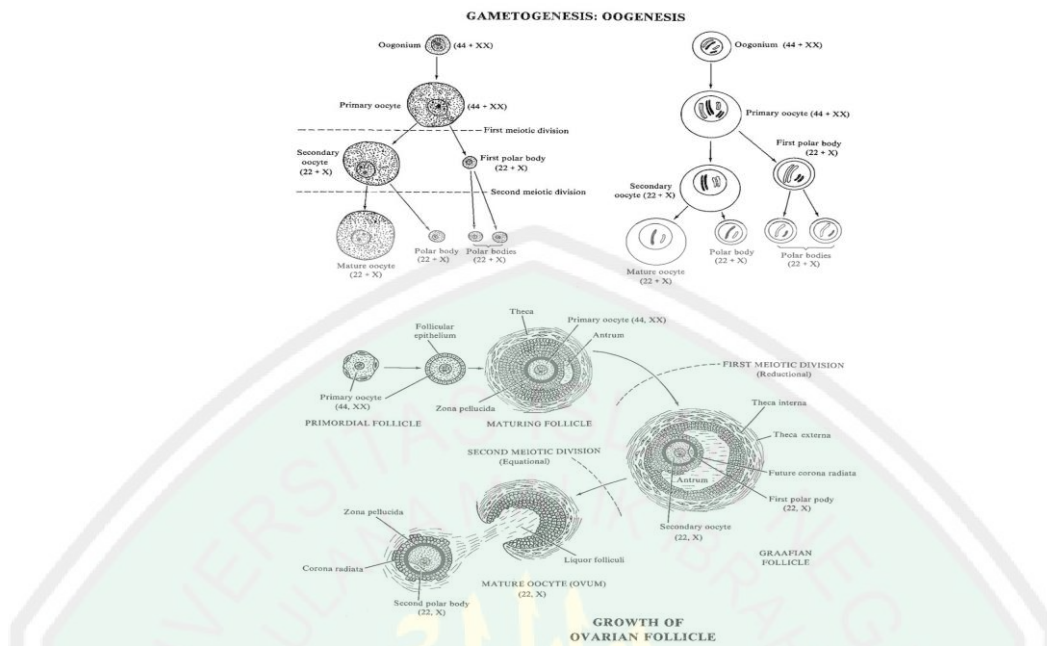
M: mucus, Lkc: leukosit

2.5 Oogenesis

Proses oogenesis diawali dari perubahan oogonia dan diakhiri dengan terbentuknya ovum atau oosit yang siap diovulasikan. Pertumbuhan oosit ditandai oleh pembesaran sitoplasma karena penumpukan granula-granula deutoplasma (kuning telur) dalam berbagai ukuran, pembentukan zona pelusida sebagai selaput

sel telur, serta proliferasi mitosis epitel folikuler dan jaringan sekitarnya. Sel-sel folikuler ini dapat berfungsi sebagai sel-sel pemberi makan bagi oosit dengan jalan menyediakan deutoplasma bagi bakal sel telur tersebut. Menjelang pubertas, sel telur telah mengumpulkan materi sebagai sumber energi untuk perkembangan selanjutnya (Pearce, 1997)

Pertumbuhan oosit terbagi atas dua fase. Pada fase pertama, oosit bertumbuh cepat dan erat berhubungan dengan perkembangan folikel ovarium. Ukuran dewasanya tercapai kira-kira pada waktu pertumbuhan antrum simulai di dalam folikel. Fase kedua, oosit tidak bertambah besar, sedangkan folikel ovarium yang berespon terhadap hormon-hormon hipofisis sangat bertambah diameternya. Pada umumnya, pertumbuhan ini hanya berlaku bagi folikel saat ovum telah mencapai ukuran yang maksimal. Selama fase terakhir pertumbuhan folikel, oosit mengalami pematangan. Nukleus yang telah memasuki profase, pembelahan meiosis selama pertumbuhan oosit bersiap-siap untuk menjalani pembelahan reduksi. Pada pembelahan pertama, dua anak sel terbentuk yang masing-masing mengandung setengah jumlah kromosom. Berbeda dengan spermatogenesis, satu anak sel mengambil hampir semua sitoplasma, sel ini disebut oosit sekunder dan anak sel lainnya yang jauh lebih kecil disebut badan kutub (*polar body*). Pada pembelahan sel kedua, oosit sekunder membagi diri menjadi ootid (n) dan badan kutub kedua (n). Kedua badan kutub tersebut mengandung sedikit sekali sitoplasma, terjatuh dalam zona pelusida dan mengalami degenerasi. Badan kutub pertama dapat pula membagi diri sehingga zona pelusida dapat berisi satu, dua, atau tiga badan kutub (Pansky, 1982) ditampilkan pada gambar 2.10 dibawah ini.



Gambar 2.10 Oogenesis (Pansky, 1982)

2.6 Hormon Reproduksi Betina

2.6.1 Gonadotropin

Hormon gonadotropin merupakan hormon-hormon yang membantu aktivitas gonad. Hormon gonadotropin terdiri atas 2 macam hormon yang menunjang aktifitas gonad yaitu FSH dan LH. FSH dan LH disekresikan oleh hipofisa anterior (Marimbi, 2010) yang distimulasi oleh GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*)

FSH dan LH merupakan glycoprotein mempunyai berat molekul 30 kDa dan 28,5-30 kDa yang mengandung 20% karbohidrat (Motta, 1996). Karbohidrat yang dikandung kedua hormon ini terdiri dari frukosa, mannose, galaktosa, glukosamin dan N-asam neuramonik asetil (Partodiharjo, 1992). Glikoprotein

hormon yang membentuk FSH terdiri dari 5 residu glikoprotein dengan 1 unit karbohidrat dan 2 residu glikoprotein serta 1 unit karbohidrat membentuk LH (Haffner, 2008).

Berdasarkan glikoprotein yang dikandung, hormon gonadotropin terdiri dari 2 subunit, yaitu subunit α dan β . Subunit α berfungsi sebagai pengatur struktur bagi hormon yang terdiri dari 92 asam amino, sedangkan subunit β berfungsi sebagai hormon yang dikandung oleh HCG, FSH dan LH. Dengan asam amino yang bervariasi antara 116 hingga 147 (Heffner, 2008). LH memperlihatkan daya kerja yang sama untuk merangsang perkembangan sel-sel interstitial, hingga akhirnya LH dapat disebut ICSH (*Interstitial-Cell-Stimulating-Hormone*).

2.6.2 Hormon steroid

Biosintesis Hormon Steroid

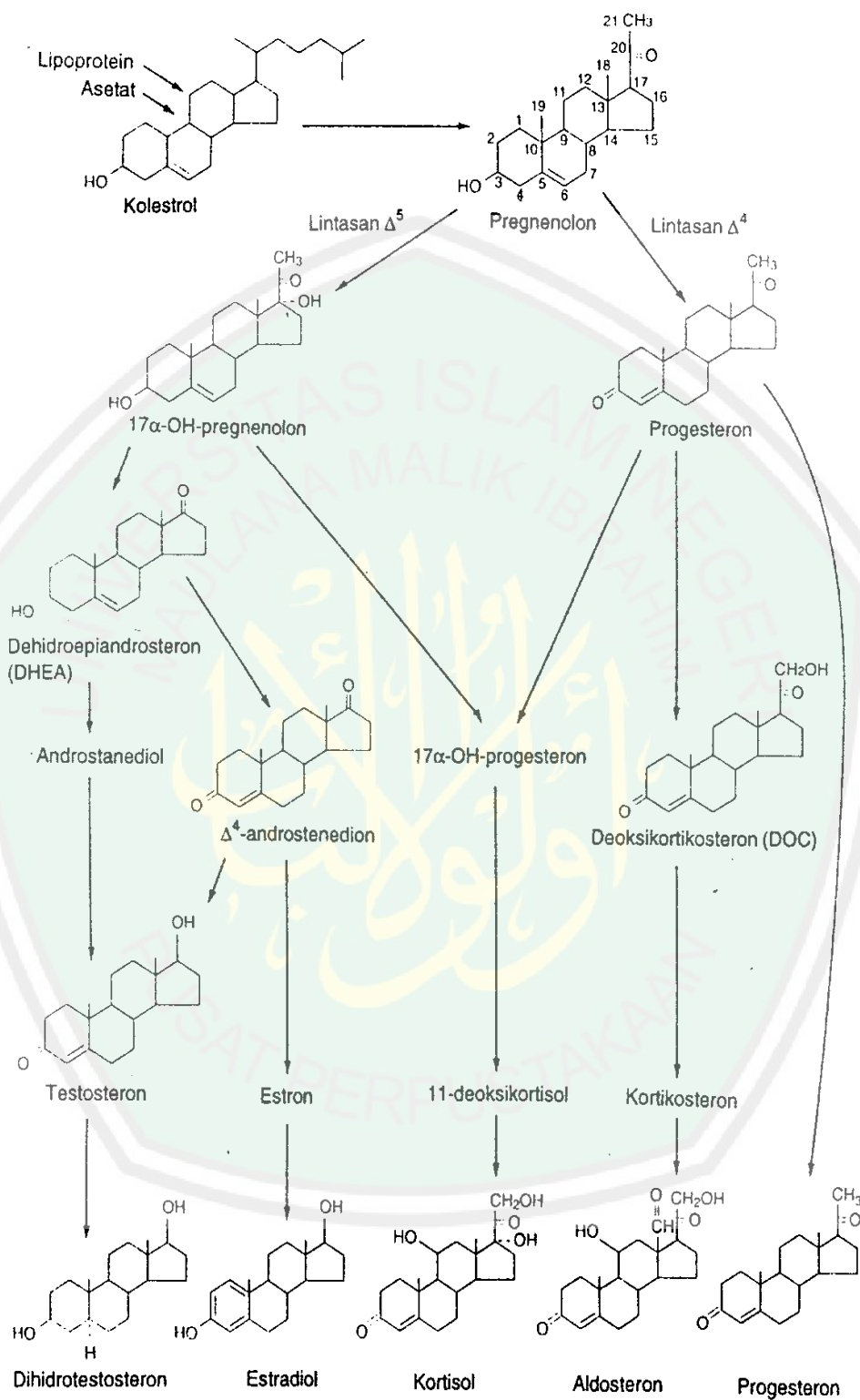
Semua hormone steroid berasal dari kolesterol. Rangkaian tahap enzimatik pada mitokondria dan retikulum endoplasma jaringan steroidogenik menkonversi kolesterol menjadi hormone steroid (Saryono, 2009). Selama konversi kolesterol menjadi metabolit steroid jumlah total atom karbon menurun secara bertahap. Pregnenolon memiliki 21 karbon (C-21); androgen memiliki 19 karbon (C-19); estrogen memiliki 18 karbon (C-18). Pregnenolon merupakan prekursor untuk androgen, sedangkan androgen prekursor untuk estrogen (Haffner, 2008).

Biosintesis hormone steroid diawali dengan konversi C-27 kolesterol menjadi C-21 pregnenolon yang terjadi di mitokondria sel granulosa. Reaksi ini dikatalis oleh enzim sitokrom P450 yang memecah rantai samping kolesterol (Anwar, 2005). Pregnenolon selanjutnya berdifusi ke sitoplasma dan dikonversi

melalui 2 jalur, yakni jalur 17α -hidroksipregnenolon atau jalur progesterone. Pada jalur 17α -hidroksipregnenolon, pregnolon dirubah menjadi 17α -hidroksipregnenolon oleh $P450_{c17}$ / C17 hidroksilase. 17α -hidroksipregnenolon akan dirubah menjadi C-19 Dehidroandroepiandrosteron (DHEA) oleh C17,20 liase melalui pemecahan dua rantai samping karbon. Kemudian DHEA akan dikonversi menjadi androstenedione ini akan direduksi menjadi androstenedion oleh 17β -hidroksisteroid dehydrogenase (17β -HSD). Androstenedion ini akan direduksi menjadi testosterone oleh 3β -hidroksisteroid dehydrogenase (3β -HSD).

Pada jalur pregnenolon, pregnolon dirubah menjadi progesterone oleh 3β – hidroksisteroid dehydrogenase (3β -HSD). Tahap selanjutnya adalah terjadinya konversi progesterone menjadi 17α -hidroksiprogesteron oleh 17α - hidroksilase yang kemudian mengalami pemecahan dua rantai samping karbon menjadi C-19 steroid (androstenedione) oleh sitokrom C17,20 liase.

Tahap terakhir adalah reduksi androstenedione menjadi testosterone oleh 17β -hidroksisteroid dehydrogenase (17β -HSD) (Haffener, 2002). Setelah berada dalam sel yang memiliki reseptor intraseluler spesifik untuk hormon tersebut, maka pengikat reseptor spesifik merupakan kunci untuk kerja steroid pada jaringan tergetnya. Oleh karena itu, reseptor estrogen ditemukan pada organ reproduksi dan kelenjar mammae (Anwar, 2005) ditampilkan pada gambar 2.11 dibawah ini.



Gambar 2.11 Biosintesis Hormon Steroid (Anwar, 2005)

2.6.3 Pengaturan Hormonal pada Reproduksi Betina

Keseimbangan kadar normal estrogen tersebut telah dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Ar-Ra'd(13);8 :

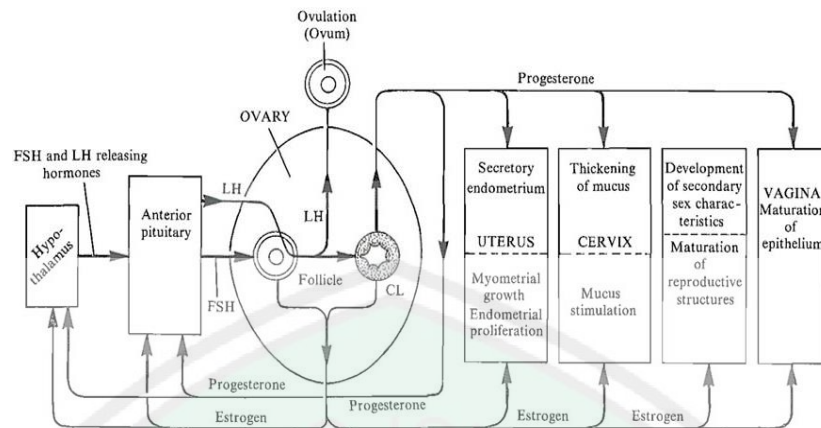
اللَّهُ يَعْلَمُ مَا تَحْمِلُ كُلُّ أُنْثَىٰ وَمَا تَغِيضُ الْأَرْحَامُ وَمَا تَزْدَادُ ۚ وَكُلُّ شَيْءٍ عِنْدَهُ بِمِقْدَارٍ



Artinya: “Allah mengetahui apa yang dikandung oleh Setiap perempuan, dan kandungan rahim yang kurang sempurna dan yang bertambah. dan segala sesuatu pada sisi-Nya ada ukurannya.”

Tafsir Al-Mishbah menjelaskan bahwa yang dimaksud kalimat (وماتغيضالارحام تزداد) yang mempunyai arti dan kandungan yang kurang sempurna dan yang bertambah. Menurut Jalauluddin (tanpa tahun) menafsirkan arti kalimat ini dengan kekurangan pada kandungan Rahim tentang masa kandungan, dan apa yang lebih daripada masa kandungan itu. Mujahid berpendapat yakni wanita yang melihat darah dari rahimnya, dan masa kelahiran bulan kandungan atau seperti hari-hari haid (Abdullah, 2003). Berkurang atau pun bertambahnya masa kandungan (uterus) dipengaruhi oleh banyak hormon didalamnya, salah satu hormon yang mempengaruhi adalah hormon progesterone. Hormon progesterone di produksi oleh korpus luteum yang terbentuk setelah terjadinya ovulasi. Proses pengaruh hormon ditampilkan pada gambar 2.12.

Ayat di atas juga menjelaskan bahwa Allah SWT mengetahui kandungan rahim yang kurang sempurna dan yang bertambah-tambah dalam rahim adalah ketika terdapat janin yang berasal dari ovum oleh sperma. Kemampuan untuk terbentuk janin yang bagus sangat tergantung pada kualitas ovum yang sangat dipengaruhi oleh kadar estrogen. Jika tidak terdapat estrogen yang cukup, maka ovarium akan menghasilkan oosit yang kualitasnya rendah.



Gambar 2.12 Kontrol Hormonal Pada Betina (Pansky, 1982)

2.7 Profil Protein Ovarium

Ditinjau dari strukturnya protein dapat dibagi dalam dua golongan besar, yaitu golongan protein sederhana dan protein gabungan. Protein sederhana adalah protein yang hanya terdiri atas molekul-molekul asam amino, sedangkan protein gabungan ialah protein yang terdiri atas protein dan gugus bukan protein. Gugus ini disebut gugus prostetik dan terdiri atas karbohidrat.

Tabel 2.2 Beberapa Protein Yang Terdapat Pada Follikulogenesis (Nahendra, tanpa tahun)

Nama protein	Peran
SCF/KL (Stem Cell Factor/Kit Ligan)	Diproduksi oleh sel granulosa untuk memulai pertumbuhan folikel primordial, merangsang mitosisnya sel teka, mempertahankan pertumbuhan preantral dan sel granulosa antral, meningkatkan pelepasan androgen dari sel teka
FGF2/KGF (Fibroblast Growth Factor)	Dibebaskan dari sel granulosa primordial, mempromosikan perekrutan folikel primordial, menekan apoptosis sel granulosa, merangsang sel teka interstitial
BMP7 (Bone Morphogenetic Factor 7)	Dibebaskan oleh sel-sel teka prekursor, meningkatkan pematangan oosit
BMP4 (Bone Morphogenetic Factor 4)	Dibebaskan dari sel stroma,

	meningkatkan pematangan oosit
KGF (Keratinosit Growth Factor)	Dibebaskan dari sel stroma meningkatkan pembentukan sel teka dan granulosa poliferasi sel
LIF (Leukemia Inhibitory Factor)	Dibebaskan dari primordial oosit, merangsang prokusor sel teka dan poliferasi sel granulosa

Lawan Dari Protein Perekrut Folikel

Nama Protein	Peran
LIF (Leukemia Inhibitory Factor)	Dibebaskan dari primordial oosit, merangsang prokusor sel teka dan poliferasi sel granulosa
GDNF (Glial Berasal Neurotropik Factor)	Dibebaskan dari primordial , merangsang pematangan oosit
CXCL12/SDF1 Kemokin (CXC Motif) Ligan 12/ Stroma Sel Berasal Factor 1	Dirilis dari sel granulosa dan oosit dari kantong primordial, menekan perekrutan folikel dengan aksi penghambatan pada oosit serta sel-sel granulosa dari folikel primordial

Tabel 2.3 Sitokin Yang Mempromosikan Pertumbuhan Folikel Antral (Nahendra,tanpa tahun)

Nama Protein	Peran
IGF 1 (Insulin Seperti Growth Factor)	Meningkatkan mitosis induksi FSH, deferiansi dan pengeluaran estradiol dari sel granulosa, sintesis androgen LH yang diinduksi oleh sel teka
Inhibin B	Dirilis dari sel-sel granulosa di awal pertengahan folikel antral, meningkatkan FSH stimulasi sel-sel granulosa
GDF 9(Growth Differentiation Factor)	Dibebaskan dari preantral dan atral oosit, Co-merangsang dengan FSH pada mitosis sel granulosa, merangsang estradiol dan menekan keluaran progesterone untuk mencegah leutination dini, dapat berinteraksi dengan BMP 15
Inhibin A	Dikeluarkan oleh sel-sel granulosa di folikel antral besar, preovulasi sel folikel luteinized, menaikkan progesterone di luteinized
TGF- β	Dikeluarkan dari sel-sel teka di folikel antarl menghambat granulosa/proliferasi sel teka tapi merangsang diferensiasi GC, merangsang inhibin dan estradiol

Tabel 2.4 Sitokin yang Menghambat Pertumbuhan Folikel dan/atau Mempromosikan Atresia (Nahendra,tanpa tahun)

Nama	Peran
Activins	Dikeluarkan dari sel-sel granulosa difase preantral, menurunkan folikel (dapat memblokir pertumbuhan lebih lanjut jika tetap tinggi), mempromosikan ekspresi reseptor FSH pada sel granulosa awal, merangsang sel granulosa poliferasi, menekan induksi LH dalam mengeluarkan androgen dari sel teka
IGFBPs (Insulin Seperti Growth Factor Binding Protein)	Dikeluarkan dari sel granulosa, tertekan oleh FSH yang lebih tinggi di folikel antretik, binding dan mengurangi IGFs (yang dirilis melalui IGFBP protease kehamilan terkait protein A (papp-A) yang dibuat oleh sel-sel granulosa dibawah kontrol FSH
TNFa (Tumor Necrosis Factor) dan leptin	Mempromosikan atresia, melawan efek FSH untuk menekan pertumbuhan folikel dan steroidogenesis

Sitokin Yang Terlibat Dalam Seleksi Folikel Dominan

BMP 15 (Bone Morphogenetic Protein)	Dibebaskan dari preantral dan antral oosit, menekan pengeluaran Papp-A dan mungkin terlibat dalam pemilihan folikel dominan
-------------------------------------	---

Tabel 2.6 Protein Ovarium yang Berperan dalam Tahap Oogenesis dan Foliulogenesis

Nama	Berat molekul	Peran	Referensi
Inhibin	32 kDa	Penghambatan sintesis hormon	Linggi, 2007
Epidermal Growth Factor (EGF)	46 kDa	Pertumbuhan oogonia	Widjiati, 2012
gZP1	120 kDa	reseptor primer pengenalan spermatozoa untuk terjadinya fertilisasi	Mustofa, 2004
gZP2	94 kDa		Mustofa, 2004
gZP3	83 kDa		Mustofa, 2004
Leukimia Inhibitory Factor (LIF)	45 kDa	Proliferasi dan diferensiasi epitel endometrium	Sitasiswi ,2013
Growth Differentiation	51 kDa	Pematanagan oosit	Widjiati ,2008

Factor-9(GDF)			
FSH	30 kDa	Menstimulasi pertumbuhan folikel	Hermadi, 2011
HCG	38 kDa		Ashley, 2014
LH	28,5-30 kDa	Pelepasan ovum	Hermadi, 2011
EGF	46,41 kDa	Parakin pertumbuhan sel granulosa	Widjiati, 2012

2.7.1 Metode Isolasi Protein

Protein mempunyai peran penting dalam metabolisme tubuh. Hal ini dikarenakan fungsinya sebagai pembangun sel, mempertahankan sel, mengganti sel yang rusak dan berfungsi sebagai katalisator. Protein terdiri atas unit-unit polipeptida dimana pada setiap unitnya tersusun oleh sejumlah asam amino. Dalam setiap asam amino memiliki struktur dasar yang sama, yaitu terdiri dari gugus karboksilat, gugus amino dan gugus R sebagai gugus fungsional (Fatchiyah, 2011). Fungsi protein yang penting dalam tubuh, menyebabkan ilmu pengetahuan melalui bioteknologi mulai melakukan berbagai analisis mengenai protein.

Beberapa teknik analisis protein membutuhkan prosedur isolasi, yaitu pemisahan protein dari makromolekul yang lain. Melakukan isolasi protein harus memperhatikan cara dan sifat hasil ekstraksi. Hal ini mengingat protein mudah mengalami denaturasi, maka perlu dipertimbangkan pemilihan metode untuk memperbaiki kualitas isolat yang dihasilkan. Secara umum isolasi protein dari satu jaringan diperlukan prosedur fraksinasi sel, yaitu (1) pencucian jaringan untuk memisahkan sel dari jaringannya, (2) lisis sel untuk menghancurkan membran sel sehingga dapat mengambil kandungan sitoplasma dan organelnya, dan (3) sentrifugasi, yang dilakukan untuk memisahkan organel-organel dan

molekul penyusunnya (Fatchiyah, 2011). Sampai saat ini dikenal beberapa metode ekstraksi protein, diantaranya adalah (Aulanni'am, 2005):

1. Homogenisasi

Metode ini merupakan salah satu metode yang digunakan untuk memecahkan sel tumbuhan. Alat yang yang biasa digunakan adalah blender, *potter-Eveljem glass Teflon homogenizer*.

2. Sonikasi

Sonikasi merupakan metode dengan dasar vibrasi yang secara mekanik dapat menghancurkan membran sel. Alat yang secara umum dipakai untuk penghancuran secara sonikasi adalah probe sonikator.

3. Penggerusan

Penggerusan biasanya dilakukan untuk mengisolasi protein dari sel atau jaringan tumbuhan. Metode ini biasanya menggunakan mortar, pasir dan alumina. Jaringan dimasukkan pada mortar dan pasir kuarsa atau alumina, kemudian dilakukan penggerusan.

4. Pemecahan secara enzimatis

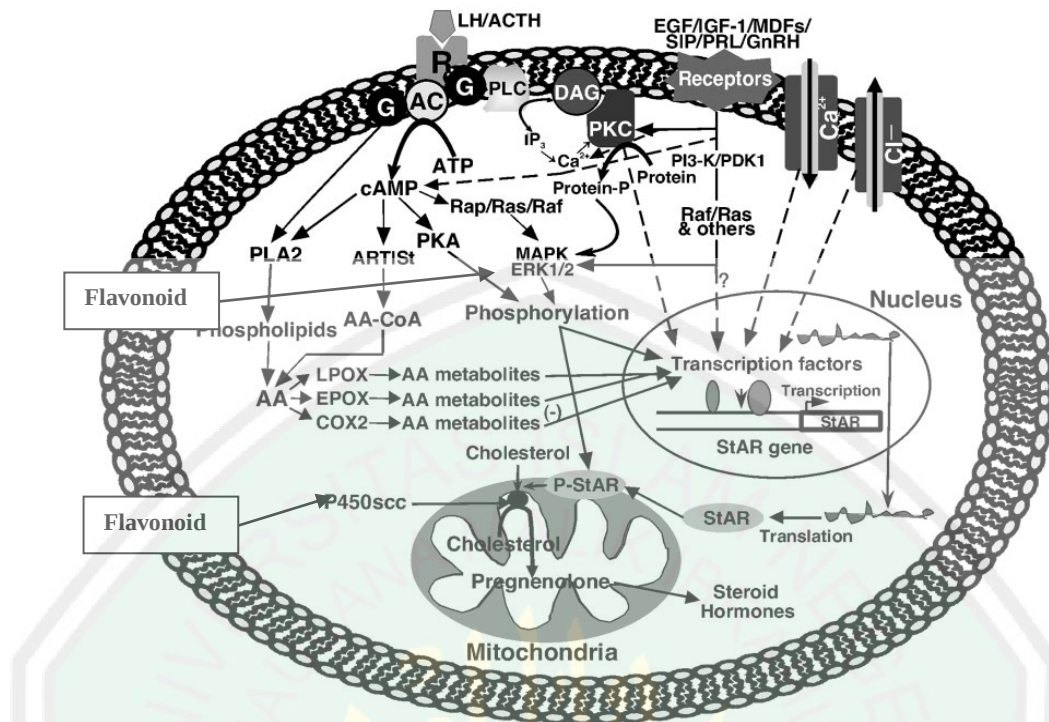
Metode ini dapat digunakan untuk melakukan isolasi protein dalam sel. Pembebasan komponen yang terkandung didalam sel dilakukan dengan memberikan sukrosa 20% dalam air pada suhu 4° C. metode ini diyakini tidak menyebabkan denaturasi isolat protein.

Kerangka Konsep Paran Ekstrak Etanol *P. piloselloides* pada Sintesis Protein Ovarium

Sistem reproduksi wanita dipengaruhi oleh hormone GnRH, FSH, LH, estrogen. Hormon perangsang gonadotropin (GnRH) merupakan hormone yang dieskresikan oleh hipotalamus dan berperan dalam menstimulasi hipofisa anterior untuk mensekresikan hormone LH dan FSH. LH bertanggung jawab pada proses ovulasi oosit dari ovarium FSH bertanggung jawab pada berlangsungnya fungsi folikel.

Ovarium tempat perkembangan folikel dan pematangan oosit yang siap dibuahi oleh sel sperma. Proses tersebut sangat dipengaruhi oleh hormone GnRH, LH, FSH, estrogen, serta progesterone. Selain hormone, dipengaruhi juga oleh protein inhibin yang berfungsi sebagai penghambat produksi hormone yang dikeluarkan oleh kelenjar hipotalamus. Secara fungsional, inhibin berperan dalam proses pematangan dan perkembangan folikel serta pengaturan sistem hormonal dalam tubuh.

Sisik naga mengandung salah satu bahan aktif yang disebut flavonoid. Senyawa tersebut di masukkan kedalam tubuh secara oral yang kemudian akan diserap oleh saluran pencernaan untuk diedarkan keseluruh tubuh. Svechnikov (2010) melaporkan bahwa flavonoid dapat mengganggu proses steroidogenesis melalui dua jalur, yakni jalur penghambatan enzim P450ssc dan enzim StAR (Stocco, 2005). Sebagai akibatnya, tidak akan terjadi pengubahan kolestrol menjadi pregnenolon yang akan digunakan untuk sintesis estradiol.



Jalur penghambatan flavonoid terhadap pengaturan sintesis StAR dan Steroidogenesis (Stocco, 2005; Wang, 2006; Svechnikov, 2010)

Sekresi hormon estrogen oleh sel granulosa yang menurun tersebut akan menyebabkan kualitas oosit akan menurun. Keadaan demikian dapat menyebabkan ikatan estrogen dengan RE pun sedikit, sehingga kurang maksimal dalam menginisiasi fosforilasi CREB yang diperlukan untuk sintesis berbagai protein ovarium.

Penghambatan terhadap sintesis ovarium akan memberi efek negatif terhadap oogenesis. Hal ini dapat menyebabkan penghambatan pemanfaatan protein ovarium oleh sel germinal selama oogenesis, baik untuk pembelahan mitosis dari oogonium menjadi oosit primer, pembelahan meiosis dari oosit primer menjadi badan polar, serta konversi badan polar menjadi oosit juga terhambat, sehingga produksi oosit akan terhambat.

Pada jalur pertama, flavonoid akan menghambat pengaktifan MAP kinase (Wang, 2006) yang dapat menyebabkan terganggunya fosforilasi terhadap faktor transkripsi terhadap enzim StAR di inti sel. Selain itu, penghambatan pengaktifan MAP Kinase juga dapat menghambat proses fosforilasi enzim StAR. Fosforilasi enzim StAR diperlukan untuk mengaktifkan enzim StAR yang berfungsi membawa kolesterol menuju mitokondria, sehingga penghambatan terhadap fosforilasi enzim StAR dapat menyebabkan kolesterol tidak dapat dibawa menuju mitokondria (Stocco, 2005). Sebagai akibatnya, tidak akan terjadi pengubahan kolesterol menjadi pregnenolon yang akan digunakan untuk sintesis estrogen.

Pada jalur kedua, flavonoid juga dapat berikatan secara langsung dengan enzim P450ssc di mitokondria yang mengubah kolesterol menjadi pregnenolon. Akibatnya dari penghambatan tersebut, enzim P450ssc tidak dapat mengubah pregnolon (Svechnikov, 2010) yang dibutuhkan dalam pembentukan estrogen. Dengan demikian, penghambatan pada kedua jalur tersebut akan menyebabkan sekresi estrogen terganggu.

Sekresi estrogen oleh sel granulosa yang menurun tersebut akan menyebabkan estrogen yang terdapat didalam darah ikut menurun. Keadaan demikian dapat menyebabkan ikatan antara estrogen dengan RE pun sedikit, sehingga kurang maksimal dalam fosforilasi CREB yang diperlukan untuk sintesis berbagai protein ovarium.

Senyawa flavonoid digunakan dalam pengaturan antifertiltias karena mampu menghambat steroidogenesis. Senyawa tersebut menghambat aktivitas

MAP Kinase yang diperlukan untuk fosforilasi StAR (*Steroidogenesis Acute Regulatory Protein*), sehingga StAR tidak mengangkut kolesterol menuju mitokondria. Selain itu, flavonoid dilaporkan juga dapat berikatan dengan enzim P450ssc (*cytochrome P450 cholestrol side chain cleavage enzyme*) yang menghalangi terbentuknya ikatan enzim P450ss-kolesterol, sehingga P450ssc tidak mampu mengkonversi kolesterol menjadi pregnenolon (Wang, 2006). Hal tersebut mengakibatkan konversi pregnenolon menjadi progesteron, 17α -OH-progesteron, androstenedion hingga menghasilkan estrogen pun akan menurun.

2.8 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut tertentu yang dipilih, sehingga zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dikumpulkan, dibersihkan atau dicuci, dikeringkan dan diserbuk. Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak tidak hanya mengandung satu unsur saja, tetapi berbagai macam unsur tergantung pada tumbuhan yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel, 1989; Rahayu, 2013).

Pemilihan pelarut dalam metode ekstraksi akan mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstraksi. Pemilihan pelarut ekstraksi umumnya menggunakan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Warditiani dkk, 2010).

Proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase (Voight, 1994) :

1. Fase Pencucian

Dalam fase pertama ini, sebagian bahan aktif berpindah kedalam bahan pelarut. Semakin halus serbuk tumbuhan, maka semakin optimal jalannya proses pencucian tumbuhan.

2. Fase Ekstraksi

Membran sel yang mengering dan menciut yang terdapat dalam tumbuhan mula-mula harus dirubah dalam suatu keadaan yang memungkinkan suatu perlintasan bahan pelarut ke dalam bagian sel. Hal ini terjadi melalui pembengkakan yang kemudian terbentuk ruang antar sel, sehingga memungkinkan bahan ekstraksi mencapai kedalam ruang dalam sel secara osmosis. Mengalirnya bahan pelarut ke dalam ruang sel menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungannya dalam sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Gaya yang bekerja adalah adanya perbedaan konsentrasi antara larutan didalam sel dengan cairan ekstraksi yang mula-mula masih tanpa bahan aktif yang mengelilinginya. Bahan kandungan dalam sel akan menuju kesebelah luar dengan cara difusi melintasi membran sampai terbentuknya keseimbangan konsentrasi antara larutan disebelah dalam dan larutan disebelah luar sel. Terdapat beberapa macam metode ekstraksi antara lain (Voight, 1994):

1. Maserasi

Merupakan metode ekstraksi yang sederhana. Metode ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan ekstraksi selama beberapa hari pada temperatur kamar yang terlindung dari cahaya.

2. Soxhletasi

Merupakan ekstraksi simplisia secara berkesinambungan. Metode ini dilakukan dengan cara memanaskan cairan ekstraksi sehingga menguap. Uap cairan terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun mengekstraksi simplisia dalam labu ekstraksi dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon.

3. Destilasi Uap

Merupakan metode yang sering digunakan untuk mengekstraksi minyak-minyak esensial dari sampel tanaman. Metode ini digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang mengandung minyak atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal.

4. Perkolasi

Merupakan metode ekstraksi dengan cara mengalirkan cairan ekstraksi melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi sebelumnya. Istilah perkolasi berasal dari bahasa lain *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes. Secara umum dapat dinyatakan sebagai proses ekstraksi tumbuhan dengan menggunakan pelarut yang cocok dengan cara melewatkan pelarut tersebut secara perlahan-lahan dalam suatu kolom. Pada penelitian ini, pemisahan zat aktif dalam daun sisik naga dilakukan dengan metode perkolasi. Tumbuhan dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus yang disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Rahayu, 2013).

Perkolasi dilakukan dengan wadah silindris atau kerucut, yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Pelarut dalam ekstraksi dimasukkan secara *kontinue* dari atas wadah tersebut. Pelarut tersebut akan mengalir secara lambat melintasi serbuk kasar tanaman. Voight (1994) mengemukakan bahwa

keuntungan dari perkolasi adalah hasil ekstrak mengandung bahan aktif yang tinggi, selain itu waktu relatif singkat dalam mengekstraksi tumbuhan yang diinginkan.

Cairan pengekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah (Departemen Kesehatan RI, 1991). Menurut Arifianti (2014) menyebutkan bahwa alkohol dengan konsentrasi 96% mempunyai extractive power yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang memiliki berat molekul rendah seperti saponin, dan flavonoid. Pelarut yang menghasilkan rendemen paling banyak yaitu pelarut etanol 96% (Senja, 2014). Hal tersebut karena etanol bersifat miscible terhadap air dan kebanyakan larutan organik yang biasa digunakan sebagai solvent untuk melarutkan obat-obatan, serta memiliki sifat semi polar sehingga dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar (Aziz, 2009). Voight (1994) menjelaskan bahwa etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dan dapat menghambat kerja enzim. Selain itu flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga membutuhkan pelarut polar, salah satunya adalah etanol.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian tentang profil protein ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) merupakan penelitian ekperimental laboratorium yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan yang digunakan adalah tikus yang tidak diberi perlakuan (kontrol) dan tikus yang diberi perlakuan ekstrak etanol. *P. piloselloides* dengan dosis yang berbeda. Dosis tersebut adalah 25 mg/200g BB tikus, 50 mg/200g BB tikus, 75 mg/200g BB, 100 mg/200g BB tikus dan 125 mg/200 BB tikus, masing-masing perlakuan tersebut terdiri dari 4 ekor tikus betina sebagai ulangan

3.2. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Variabel bebas (*independen variable*), yang meliputi dosis ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*).
- b) Variabel terikat (*dependent variable*), yang meliputi profil protein ovarium tikus putih (*Rattus novegicus*) betina
- c) Variabel terkendali atau kontrol, meliputi warna daun *P. piloselloides*, jenis kelamin tikus, strain, umur, dan berat badan tikus serta pakan dan minum tikus.

3.3. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2017 di empat tempat, yaitu:

1. Ekstraksi daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Sains dan teknologi , pada bulan Agustus.
2. Perlakuan hewan coba tikus dilakukan di Laboratorium Biosistematik, pengambilan sampel ovarium dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, pada bulan September-Oktober 2017.
3. Isolasi protein ovarium dilakukan di Laboratorium Genetika dan Molekuler pada bulan Oktober 2017

3.4. Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba (*Rattus norvegicus*) berumur 2-3 bulan dengan berat 200-250 gram dan berjenis kelamin betina dari strain wistar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang terbagi menjadi 6 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus betina sebagai ulangan.

3.5. Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah perlakuan hewan coba meliputi kandang, wadah air, sonde lambung, timbangan analitik,

botol kaca, spatula, serbet, dispenser, kulkas, cotton buds, kaca benda, pipet tetes, mikroskop computer., nampan/baskom, oven, gelas ukur, *rotary evaporator*, inkubator, oven, beaker glass, spatula, mikrotube, microsentrifuge, mikropastel, gunting, mikropipet, kontak sampel, freezer, waterbath, mikrotube, spindown, camber, power supply, tabung reaksi, rak tabung raksi, stopwacht, spektrofotometer UV-Vis, mikrotube, kuvet.

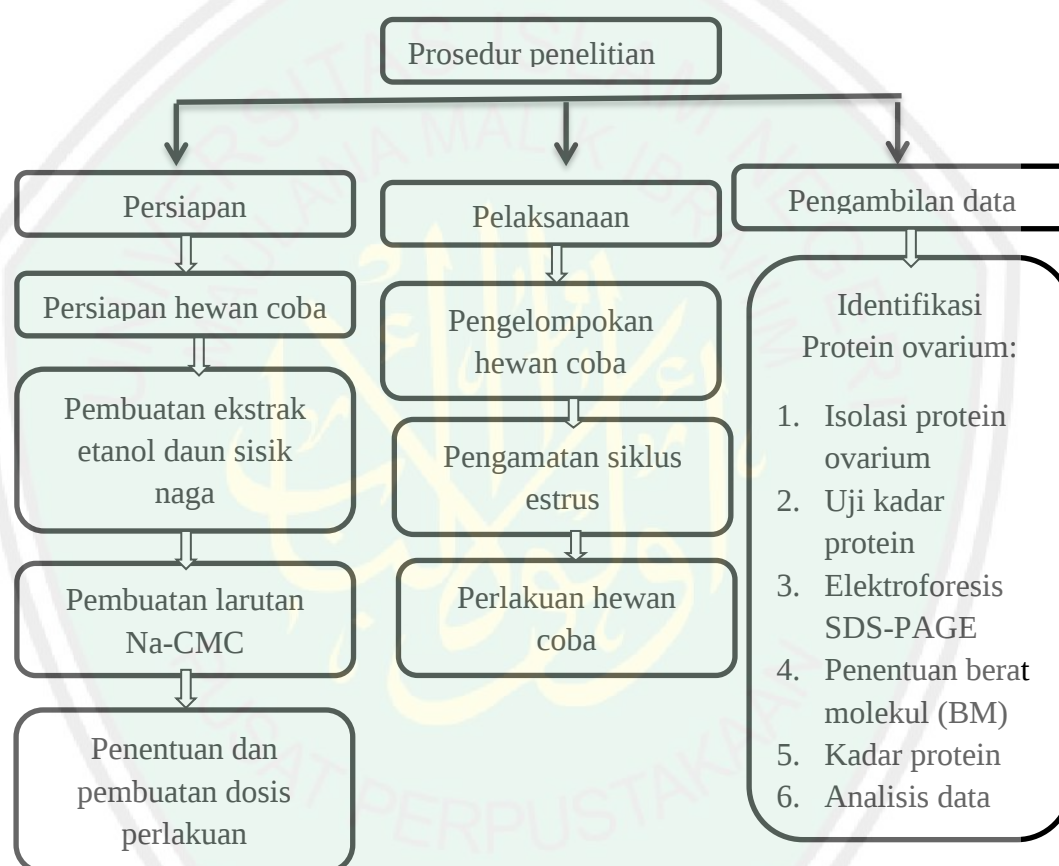
3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi: ekstrak sisik naga meliputi daun sisik naga (*P. piloselloides*), etanol 95%, akuades., pakan tikus (BR 1), Na-CMC 0,5%, ekstrak etanol, aquades, sekam, PBS (*Phosphat Buffer Saline*), *pheny methyl sulfonyl fluoride* (PMSF), *Tris-Cl*, *NP-40 lisis buffer*, *Na-Flouride*, SDS dan *Na-Deoxycholate*. Bahan yang digunakan untuk uji elektroforesis SDS-PAGE meliputi *Reducing Sample Buffer* (RBS), akuades steril, *Amonium Persulfat* (APS), akrilamid 30%, bisakrilamid, Tris base, SDS 10% dan *N,N,N',N'tetra metiletilendiamina*(TEMED). Uji kadar protein ovarium meliputi BSA (*Bovine Serum Albumin*), comissie brilian blue, asam phospat, aquades, etanol 96%.

3.6. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan 3 tahap, yaitu : 1) tahap persiapan yang meliputi: persiapan hewan coba, pembuatan ekstrak etanol daun sisik naga, pembuatan larutan Na-CMC 0,5%, serta penentuan dan pembuatan dosis perlakuan, 2) tahap pelaksanaan meliputi: pengelompokan dan

perlakuan hewan coba, dan 3) tahap pengambilan data meliputi: identifikasi protein ovarium yang meliputi tahap: isolasi protein ovarium, pengukuran kadar protein, elektroforesis SDS-PAGE, penentuan berat molekul (BM) protein. Analisis data dilakukan pada berat molekul protein ovarium:



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.6.1 Persiapan Perlakuan

3.6.1.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diaklimatisasi didalam laboratorium sebelum perlakuan selama 2 minggu. Selama proses aklimatisasi ini tikus diberi makan pellet (BR 1) diberi minum secara *ad libitum* (berlebih).

3.6.1.2 Pembuatan Sediaan Larutan Na-CMC 0,5 %

Sediaan larutan Na-CMC 0,5% dibuat dengan menaburkan 500mg Na-CMC kedalam 10 ml aquades dingin, diaduk hingga homogen menggunakan *stirrer*. Setelah homogen larutan dipanaskan dan dibiarkan selama kurang lebih 15 menit sampai bewarna bening dan berbentuk menyerupai jel. Selanjutnya diencerkan dalam labu ukur dengan aquades hingga volume 100 ml.

3.6.1.3 Pembuatan Larutan Lowry

Pembuatan reagen lowry terdiri dari 3 reagen. Reagen 1 yaitu Na_2CO_3 2% yang dilarutkan dengan NaOH 0,1 N. Reagen 2 yaitu CuSO_4 yang dilarutkan dalam larutan KNa tartarat 1%. Reagen 3 yaitu larutan folin yang dilarutkan pada aquades dengan perbandingan 1:1.

3.6.1.4 Penyerentakan Siklus Birahi

Sebelum diberikan perlakuan maka perlu dilakukan proses penyerentakan birahi. Hal ini dilakukan karena hewan betina sangat dipengaruhi oleh siklus birahi. Penyerentakan dilakukan dengan memberikan PMSG dan HCG pada tikus betina yang akan digunakan. Pemberian PMSG sebanyak 10 IU/ 200 grm BB, dan pemberian HCG sebanyak 10 IU/200 grm BB dilakukan 48 jam setelah pemberian PMSG (Widjiati, 2015), secara intraperitoneal. Setelah pemberian hormon tersebut di cek siklus birahi 17 jam kemudian.

3.6.1.5 Pemeriksaan Fase Estrus

Pemeriksaan ulasan vagina dilakukan menggunakan cotton buds, cover glass, objek glass, giemsa, methanol, NaCl fisiologis dan mikroskop

memasukkan *cotton buds* yang telah celupkan NaCl fisiologis ke lubang vagina dan diputar untuk mendapatkan lender, kemudian dioleskan ke objek glass, difiksasi dengan methanol PA, dan diwarnai dengan Giemsa, didiamkan selama 15 menit. Setelah pemberian giemsa lalu ditutup dengan cover glass, kemudian diamati dibawah mikroskop untuk menentukan fase estrus.

3.6.1.6 Penentuan dan Pembuatan Dosis Perlakuan Ekstrak Daun Sisik Naga (*P. piloselloides*)

Berdasarkan penelitian Mukhofifah (2015), menyimpulkan bahwa dosis:

I. Konversi Dosis Ekstrak Tanaman Standart (g/200 g BB tikus):

Dosis I (P1)	: 25 mg/200 g BB tikus	= 0,025 g/200g BB tikus
Dosis II (P2)	: 50 mg/200 g BB tikus	= 0,05 g/200g BB tikus
Dosis III (P3)	: 75 mg/200 g BB tikus	= 0,075 g/200g BB tikus
Dosis IV (P4)	: 100 mg/200 g BB tikus	= 0,1 g/200g BB tikus
Dosis V (P5)	: 125 mg/200 g BB tikus	= 0,125 g/200g BB tikus

II. Pembuatan Stok Ekstrak dan Na-CMC 0,5 % untuk 7 hari

Perhitungan total kebutuhan ekstrak dengan Na-CMC 0,5% untuk dibuat stok setiap 7 hari sekali (7 hari x 6 tikus x 2,5 ml):

Dosis I (P1)	: 0,025 g/ ekor (2,5 ml)	= 1,05 g/ 105 ml
Dosis II (P2)	: 0,05 g/ ekor (2,5 ml)	= 2,1 g/ 105 ml
Dosis III (P3)	: 0,075 g/ ekor (2,5 ml)	= 3,15 g/ 105 ml
Dosis IV (P4)	: 0,1 g/ ekor (2,5 ml)	= 4,2 g/ 105 ml

$$\text{Dosis V (P5)} : 0,125 \text{ g/ ekor (2,5 ml)} = 5,25 \text{ g/ 105 ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Total kebutuhan ekstrak selama 7 hari} &= 1,05 + 2,1 + 3,15 + 4,2 + 5,25 = \\ &15,75 \text{ g} \end{aligned}$$

Pembuatan stok Na-CMC 0,5% untuk lima hari dengan mengalikan kebutuhan larutan setiap tikus dengan total tikus dan total hari pembuat: $2,5 \times 36 \times 7 = 630 \text{ ml}$

III. Pembuatan Larutan PMSG 10 IU dan HCG 10 IU

Pembuatan larutan PMSG 10 IU dilakukan dengan cara melarutkan PMSG 1000 IU dilarutkan pada aquabides sebanyak 5ml (200 IU/ml). Diambil 1 ml dan ditambah 3 ml aquabides (50 IU/ml). Disuntikkan ke tikus sebanyak 0,2 ml (10 IU) secara intraperitoneal.

Pembuatan larutan HCG 10 IU dilakukan dengan cara melarutkan HCG 1500 UI menggunakan aquabides sebanyak 5 ml (300 IU/ml). Diambil 1 ml dan diencerkan dengan aquades sebanyak 5 ml (50 IU/ml). Disuntikkan ke tikus sebanyak 0,2 ml (10 IU) secara interperitoneal.

3.6.1.7 Pelaksanaan Penelitian

2.1.1.1 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan (1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan ekstrak). Ulangan pada setiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus: $(t-1)(r-1) \geq 15$ (Hanafiah, 2012), sehingga didapat pengulangan masing-masing perlakuan sebanyak 4 ekor tikus putih betina.

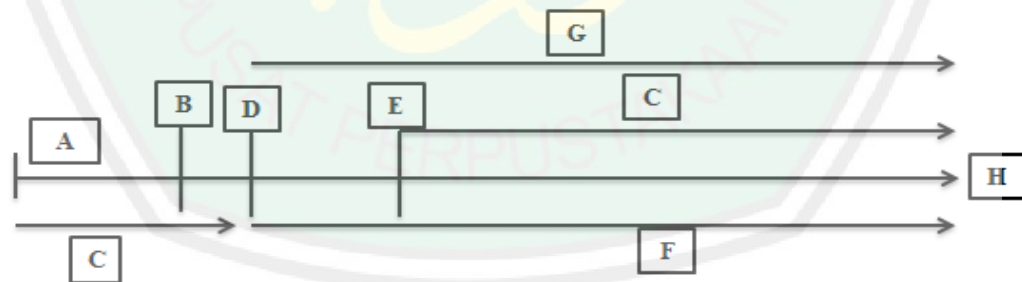
Pengelompokan perlakuan adalah sebagai berikut:

- a) Kelompok Kontrol (K) : Tikus yang diberi Na-CMC 0,5% tanpa diberi

ekstrak etanol daun *P. piloselloides*.

- b) Kelompok Perlakuan I : Tikus yang diberi ekstrak etanol daun *P. piloselloides* dengan dosis 25 mg/200g BB tikus + Na-CMC 0,5%
- c) Kelompok Perlakuan II : Tikus yang diberi ekstrak etanol daun *P. piloselloides* dengan dosis 50 mg/200g BB tikus + Na-CMC 0,5%
- d) Kelompok Perlakuan III : Tikus yang diberi ekstrak etanol daun *P. piloselloides* dengan dosis 75 mg/200g BB tikus + Na-CMC 0,5%
- e) Kelompok Perlakuan IV : Tikus yang diberi ekstrak etanol daun *P. piloselloides* dengan dosis 100 mg/200g BB tikus + Na-CMC 0,5%
- f) Kelompok Perlakuan V : Tikus yang diberi ekstrak etanol daun *P. piloselloides* dengan dosis 125 mg/200g BB tikus + Na-CMC 0,5%

Lama perlakuan adalah 15 hari (3 siklus estrus). Ekstrak diberikan secara per oral satu kali sehari.



Keterangan

- A : Aklimatisasi
- B : Penyuntikan hormon PMSG dan HCG
- C : Pembuatan apusan vagina
- D : hari ke-0
- E : Hari ke-5
- F : Pemberian ekstrak
- G : Lama perlakuan 15 hari

3.6.1.8 Pengamatan dan Pengambilan Data

3.6.1.8.1 Identifikasi Protein Ovarium

Ekstrak protein ovarium diperoleh dengan cara mengambil 1 ovarium tikus. Ovarium dibersihkan dan dipisahkan dari jaringan lemak, untuk kemudian disimpan menggunakan PBS dingin.

3.6.1.8.1.1 Isolasi Protein Ovarium

Isolasi protein ovarium dilakukan berdasarkan metode Dwipoyono (2007) yang dimodifikasi. Ovarium yang dicuci terlebih dahulu dalam PBS dingin dan steril. Kemudian ovarium masing-masing ditimbang. Setelah ditimbang, ovarium dipindahkan masing-masing tabung eppendorf untuk digerus menggunakan micropastle sampai halus. Ekstrak ovarium kemudian diberi 300 µl RIPA buffer yang mengandung 10 µl mM PMSF, 20 µl *Protease inhibitor cocktail* per mL suspensi. Suspensi testis dihomogenasi dengan vortex selama 10 menit kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 20.000 rpm, 4° C selama 15 menit. Sentrifugasi dilakukan berulang hingga supernatant jernih. Supernatant hasil sentrifugasi diambil dan dipindahkan pada eppendorf baru untuk pengukuran kadar protein dan uji elektroforesis.

3.6.1.8.1.2 Elektroforesis SDS-PAGE

Tahap elektroforesis dilakukan untuk mengetahui protein ovarium, dilakukan dengan teknik elektroforesis *Sodium dodecyl sulphate-polyacrilamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) berdasarkan berat molekul (Laemmli, 1970).

Tahap metode tersebut adalah sebagai berikut:

1. Persiapan gel

Plat gel dibuat dengan merangkai 2 plat kaca berjarak $\pm 0,75$ mm. Gel dibuat 2 lapis, yaitu *stacking gel* 4% sebagai tempat pengumpulan sampel sebelum elektroforesis dimulai dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (*separating gel* 12,5%).

Sebelum menuang media *separating gel*, cetakan plate kaca harus diuji dulu yaitu dengan mengisi plate menggunakan air hingga penuh. Hal ini dilakukan untuk mencegah kebocoran. Setelah cetakan tidak mengalami kebocoran, *separating gel* dituang diantara plate.

Separating gel dibuat dengan mencampurkan semua bahan (30% Acrylamide, 1 M Tris pH 6,8, ddH₂O, 10% SDS) kecuali *Ammonium persulfat* (APS) dan *N,N,N',N'* tetra metil etilendiamina (TEMED). APS dan TEMED ditambah setelah semua campuran homogen, kemudian divortex sebentar dan dimasukkan dalam plate dan dibiarkan 5-10 menit sampai gel mengeras. *Stacking gel* dituangkan diatasnya dan sisir dipasang sampai gel mengeras dan terbentuk sumuran. Setelah gel dan sumuran terbentuk, plate dengan gel dipasang pada perangkat elektroforesis. *Chamber* atau *reservoir* atas dan bawah diisi dengan *running buffer*.

2. Pemisahan protein

Sampel 4 μ l larutan hasil isolasi dicampur dengan RSB (*Reducing Sample Buffer*) sebanyak 12 μ l dipanaskan dalam oven bersuhu 95°C selama 5 menit, setelah itu sampel didinginkan .sampel yang telah dingin dimasukkan dalam sumur-sumur gel dengan volume 15 μ l untuk setiap sumur. Untuk standart protein diperlakukan sama. Setelah itu anoda dihubungkan dengan reservoir atas (*upper*

reservior) dan katoda dihubungkan dengan *reservior* bawah (*lower reservior*) yang sebelumnya sudah diisi dengan larutan buffer. *Running* dilakukan dengan arus konstan 100 volt, 40 mA, selama 80 menit. Proses pemisahan atau *running* dihentikan setelah warna biru penanda (*bromophenol blue*) sampai $\pm 0,5$ cm di atas plat bawah kaca.

3. Pewarnaan

Pewarnaan (*staining*) pita protein dilakukan dengan jalan merendam gel hasil elektroforesis (setelah dilepas dari rangkaian plate) dalam larutan *Coomasie brilliant blue* 0,25% selama 30 menit hingga terendam. Setelah diwarnai, dilakukan *destaining* untuk menghilangkan kelebihan warna dengan jalan merendam gel dalam larutan *destaining* sampai gel menjadi jernih dengan pita-pita terpisah jelas satu sama lain.

3.6.1.8.1.4 Penentuan Berat Molekul Protein

Tahap penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan setelah tahap elektroforesis selesai. Protein akan terpisah satu sama lain membentuk pita-pita berdasarkan berat molekulnya. Penentuan berat molekul pita protein menggunakan Kurva Standar Relatif (Rf) terhadap log berat molekul protein standar. Pengukuran Rf dilakukan dengan cara membagi jarak pita dari gel bagian atas dengan jarak penghentian elektroforesis. Selanjutnya dikonversikan dalam persamaan linier marker (Rantam, 2003)

$$R_f = \frac{\text{jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{jarak terakhir pergerakan yang ditempuh oleh protein}}$$

3.6.1.8.1.5 Penentuan Kadar Protein

Tahap penentuan kadar protein dilakukan setelah tahap isolasi selesai. Penentuan kadar protein ini menggunakan uji Lowry dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 650 nm.

3.6.1.8.2 Analisis Data

Data berupa berat molekul pita-pita protein ovarium dianalisis secara deskriptif.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak sisik naga (*Pyrosia piloselloides*) memiliki bahan aktif flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid, tannin-polifenil. Kandungan bahan aktif tersebut diduga memiliki kemampuan mempengaruhi kesuburan (fertilitas), maka dari itu perlu dilakukan uji fitokimia, uji kadar protein total ovarium dan profil protein ovarium. Pengujian uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak sisik naga, uji kadar protein bertujuan untuk mengetahui kadar protein total ovarium, dan dengan uji profil protein bertujuan untuk mengetahui berat molekul protein yang dikandung pada ovarium. Hasil ketiga uji tersebut disajikan sebagai berikut:

4.1. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Pyrosia piloselloides*)

Uji fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan bahan aktif yang terdapat pada ekstrak daun sisik naga. Dari hasil yang dilakukan mempunyai kandungan bahan aktif berupa flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, tannin-polifenol, tersaji dalam tabel 4.1 dibawah ini:

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Pyrosia piloselloides*)

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	NaOH	Warna jingga	Positif
	H ₂ SO ₄	Hijau kehitaman	Positif
	HCl+Mg	Jingga	Positif
Saponin	Aquades	Busa stabil	Positif
Triterpenoid	Kloroform+asam asetat anhidrat+H ₂ SO ₄	Cincin kecoklatan / violet	Positif
Steroid	Kloroform+H ₂ SO ₄	Cincin coklat kehitaman (bawah kekuniangan atas bagian atas kehitaan	Positif

Tannin-Polifenol	FeCl ₃	Hijau kehitaman	Positif
------------------	-------------------	-----------------	---------

Berdasarkan hasil uji fitokimia sisik naga pada tabel 4.1 mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid, tannin-polifenol. Hasil tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa sisik naga mengandung flavonoid, tannin, triterpenoid-steroid (Rahmaningtias, 2012), polifenol (Cahyadi, 2014), dan saponin (Rahayu, 2013). Peranan kandungan fitokimia dalam sisik naga sebagai antifertilitas meliputi flavonoid sebagai bahan aktif yang esterogenik, saponin sebagai antizigotik, anti-implantasi (Dande, 2012), antiestrogenic (Chou, 1971), menurunkan pelepasan LH dan memblokir siklus estrus (Benie, 1990). Fitoestrogen bersifat kompetitif dengan estradiol dalam tubuh dalam berikatan dengan reseptor estrogen. Fitoestrogen mampu menghalangi estrogen endogen untuk berikatan dengan reseptor, akibatnya dapat memicu feedback negative pada hipotalamus. Hipotalamus akan menghambat kerja hipofise anterior untuk memproduksi FSH sehingga dapat menghambat pertumbuhan folikel. Tannin sebagai zat yang bersifat sitotoksik (Ariani, 2008) dan antioksidan (Darvin, 2015) triterpenoid sebagai antioksidan (memperbaiki sel) dan steroid sebagai bahan pembentukan hormon (Setyowati, 2015). Mekanisme bahan aktif sebagai antioksidan dengan menghambat oksidasi dengan pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, menambahkan lemak dalam cincin aromatik pada antioksidan, menambahkan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Ketaren, 1986). Dari reaksi tersebut berdampak sel-sel dalam ovarium tidak mudah rusak, sehingga sel-sel pada jaringan ovarium dapat bekerja secara optimal dalam memproduksi hormon estrogen-progesteron yang bertanggung jawab dalam fertilitas (kesuburan).

4.2. Pengaruh Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*) Terhadap Kadar Protein Ovarium Total Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina

Kadar protein total pada ovarium tikus yang diinduksi ekstrak etanol sisik naga dihitung absorbansinya dengan menggunakan metode Lowry pada panjang gelombang 650 nm (lampiran 2). Namun, sebelumnya dibuat kurva standar agar dapat diketahui acuan kadar protein sampel yang akan diukur (lampiran 2). Hasil uji ini disajikan pada tabel 4.2:

Tabel 4.2 Hasil Kadar Protein Total Ovarium setelah Pemberian Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

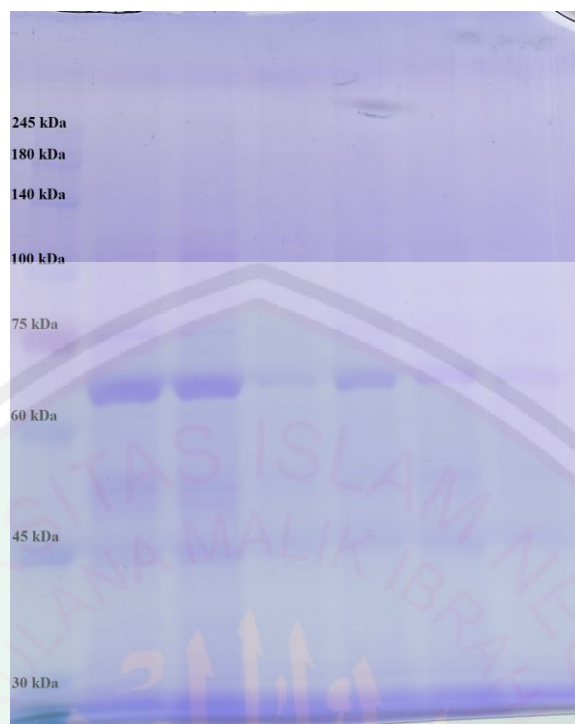
	Rerata Kadar Protein Total Ovarium dengan Perlakuan dosis/200 g BB					
	0 mg	25 mg	50 mg	75 mg	100 mg	125 mg
Kadar mg/ml	0.241314	0.268026	0.2553	0.238698	0.250842	0.256269

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kadar protein total ovarium yang memiliki konsentrasi tertinggi yaitu perlakuan 2 dengan nilai rata-rata absorbansinya 0,268026 mg/ml, sedangkan konsentrasi protein total terendah yaitu perlakuan 3 dengan nilai rata-rata absorbansinya 0.238698 mg/ml. Hal tersebut dapat kemungkinan dapat disebabkan oleh kandungan fitokimia yang berifat fitoestrogen. Semakin tinggi kadar protein total semakin tebal pula band protein yang dihasilkan pada proses elektroforesis. Akan tetapi, band pita protein yang dihasilkan tidak sesuai dengan kadar protein yang dihasilkan, kemungkinan hal tersebut terjadi dikarenakan berat molekul protein terlalu kecil sehingga tidak terseparasi pada gel.

4.3. Profil Protein Ovarium Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina yang Diinduksi Dengan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

Protein ovarium merupakan protein-protein yang terdapat dalam ovarium. Protein-protein tersebut merupakan penyusun atau kompleks struktur membran dan terlibat dalam komunikasi antar sel yang berperan dalam proliferasi, diferensiasi dan metabolisme sel, serta transport bahan-bahan yang diperlukan sel germinal (Reis, 2000). Hasil isolasi sampel ovarium pada penelitian ini telah dikonfirmasi menggunakan metode SDS-PAGE dengan konsentrasi gel 12% menggunakan acuan penelitian terdahulu yakni (Rahayu, 2013). Hasil identifikasi profil protein ovarium dengan metode SDS-PAGE dapat dilihat pada tabel 4.2.

Berdasarkan hasil identifikasi protein ovarium menggunakan metode SDS-PAGE 12% seperti terlihat pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa profil protein ovarium adalah sebagai berikut 26 pita protein yang terekspresi pada sampel tikus P1 (0 mg/200g BB), 26 pita protein pada P2 (25 mg/200g BB), 14 pita protein pada P2 (50 mg/200g BB), 13 pita protein pada P3 (75 mg/200g BB), 10 pita protein pada P4 (100 mg/200g BB), dan 5 pita protein pada P6 (125 mg/200g BB). Kemudian masing-masing pita protein diukur berat molekulnya dengan menggunakan persamaan linier terhadap kurva standar. Hasil pengukuran berat molekul (BM) masing-masing pita protein disetiap perlakuan seperti tersaji pada tabel 4.2, sedangkan perhitungan BM seperti lampiran 3.



Gambar 4.1 Profil protein ovarium dengan menggunakan SDS-PAGE. P1 (Perlakuan 1), P2 (Perlakuan 2), P3 (Perlakuan 3), P4 (Perlakuan 4), P5 (Perlakuan 5), P6 (Perlakuan 6) dan M (Marker)

Tabel 4.3 Berat Molekul (BM) Protein Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

Keterangan Gambar 4.3	Berat Molekul (kDa) dengan Perlakuan...					
	0 mg/200g r BB	25 mg/200g r BB	50 mg/200g r BB	75 mg/200g r BB	100 mg/200g r BB	125 mg/200g r BB
1	155	155	-	-	-	-
2	150	150	-	-	-	-
3	130	130	130	130	130	130
4	128	128	128	128	-	-
5	126	126	-	-	-	-
6	113	113	-	-	-	-
7	107	107	-	-	-	-
8	95	95	95	95	95	-
9	92	92	92	92	92	-
10	79	79	79	79	79	-
11	71	71	71	71	71	-
12	69	69	69	69	69	-
13	67	67	-	-	-	-
14	64	64	-	-	-	-
15	63	63	-	-	-	-

16	60	60	60	60	-	-
17	56	56	56	56	-	-
18	54	54	-	-	-	-
19	45	45	45	45	45	45
20	44	44	-	-	-	-
21	42	42	-	-	-	-
22	41	41	-	-	-	-
23	35	35	35	35	35	35
24	33	33	33	-	-	-
25	32	32	32	32	32	32
26	30	30	30	30	30	30
Jml protein terekpresi	26	26	14	13	10	5

Berdasarkan profil protein ovarium pada tabel 4.3 diatas, menunjukkan bahwa terdapat 3 kelompok protein ovarian, yakni 6 protein ovarium yang selalu terekspresi, baik P1 maupun pada perlakuan P2,P3,P4,dan P5, 2 protein ovarian yang hanya muncul pada perlakuan P1, P2, P3, 5 protein ovarium yang terekspresi pada perlakuan P1, P2, P3 dan P4, 3 protein yang terekspresi P4, 5 protein yang terekspresi pada P1, P2, P3, P4, P5. Protein yang tidak terekspresi pada P3, P4, P5, P6 adalah protein ovarian dengan BM 155, 150, 126, 113, 107, 67, 64, 63, 54, 44, 42, 41kDa. Protein yang tidak terekspresi pada P5 dan P6 adalah protein dengan berat molekul 128, 60, 56 kDa.

Pada penelitian ini, dari 11 macam protein (150, 128, 126, 113, 92, 69, 67, 60, 56, 54, 33kDa) diduga berperan pada oogenesis dan folikulogenesis. Sebagai contoh Mondschein (1991) yang melaporkan bahwa protein dengan berat molekul 150 kDa berfungsi sebagai IGF (*Insuline-Like Growth Factor-Binding*) yang berfungsi meningkatkan efek gonadotropin pada granulosa dan berkerja sama dengan growth hormon untuk proses maturasi ovarium. Dengan demikian, ketidak ekspresinya protein ini akan membuat proses maturasi ovarium menjadi

terhambat. Protein dengan berat molekul 128 kDa protein yang memproduksi EGF (*Epidermal Growth Factor*) berperan sebagai hormon untuk proses proliferasi sel, apabila protein ini tidak terekspresi maka tidak akan terjadi pembentukan granulosa . Protein dengan berat molekul 113 kDa merupakan anti eCG (*Equine Chorionic Gonadotropin*) yang merupakan hormon yang berfungsi sebagai anti apoptosis, akibat tidak terekspresinya hormon ini membuat sel pada ovarium akan terjadinya apoptosis (Boone, 1998). Protein dengan berat molekul 92 dan 63 kDa merupakan gelatin yang menyusun sel granulosa (Hwang, 1996). Protein dengan berat molekul 69 kDa merupakan HGF (*Hepatocyte Growth Factor*) mengatur steroidogenesis dan menekan apoptosis pada sel granulosa (Uzumcu, 2006). Dampak tidak terekspresinya hormon ini akan mengakibatkan tidak terjadinya proses steroidogenesis dan terjadinya proses apoptosis pada sel granulosa. Protein dengan berat 67 dan 33 kDa merupakan hormon yang sensitive pada lipase (HSL) yang bekerja untuk proses metabolisme kolesterol dan mendukung proliferasi sel dan oogenesis (Lobo, 2009), sehingga ketiakhadiran protein ini akan mengakibatkan proliferasi dan oogenesis akan terganggu. Protein dengan berat molekul 60 kDa merupakan protein HSP60 sebagai protein matrik mitokondria yang berfungsi sebagai deferensiasi folikel (Paranko, 1996). Akibat tidak terekspersinya protein ini proses pematangan folikel tidak terjadi sehingga tidak terjadinya folikel-folikel yang lainnya. Protein dengan berat molekul 56 kDa merupakan protein pembentuk ER β yang berfungsi sebagai pengikat estrogen (Novaira, 20016). Protein dengan berat molekul 54 kDa merupakan protein yang membentuk enzim P540ssc yang berfungsi sebagai enzim katalisator metabolisme steroid (Fuhrmann,1998), apabila enzim ini tidak terekspresi maka tidak terjadi

perombakan kolesterol menjadi steroid, akibatnya tidak terbentuk hormon estrogen. Sehingga penurunan ekspresi protein tersebut setelah pemberian ekstrak etanol daun sisik naga akan mempengaruhi jumlah oosit, maupun hormon yang dihasilkan. Selain itu 7 protein yang tidak terekspresi diduga berperan pada fase luteal diantaranya 95, 79, 71, 44, 33 kDa. Moldrup (1990) melaporkan bahwa protein dengan berat molekul 95 kDa berperan sebagai reseptor prolaktin merupakan hormon yang bertanggung jawab untuk produksi susu. Protein dengan berat molekul 79 kDa merupakan ligan reseptor LH sehingga dapat meningkatkan hormon tertentu (Keinanen, 1988). Protein dengan berat molekul 44 kDa merupakan protein yang berfungsi sebagai ligan yang terdapat pada zona pelusida sel ovum yang berfungsi untuk proses interaksi dengan sperma, sehingga apabila protein ini tidak terekspresi maka ovum dan sperma tidak akan terjadi fusi (Pires, 2013). Ketidak ekspresinya protein-protein tersebut dapat mengakibatkan penurunan kualitas ovum yang dihasilkan.

Tidak terekspresinya protein 56 kDa yang merupakan ER β yang berfungsi sebagai reseptor hormon estrogen untuk pematangan sel granulosa, akibat tidak terekspresinya protein ini akan menurunnya protein yang diinisiasi oleh estrogen. Mekanisme pengaruh estrogen dalam sintesis beberapa protein ovarium. Jalur pertama, diawali dengan masuknya estrogen dalam sel Estrogen secara cepat masuk ke sel target melalui membran sel menyebabkan fluktuasi ion dan aktivasi banyak protein kinase. Protein kinase yang teraktivasi sintesis protein meliputi E2 signaling nuclear, including ERs, co-regulatory protein, transcription factor (TFs) dan protein kromatin, hasilnya mengubah ekspresi gen yang responsive. ER berikatan dengan G protei-couple (GPR30 yang terletak pada

membran retikulum) (Prossnitz, 2014). Membrane ERs berasal dari satu gen yang mengkodekan Ers (Razandi, 1999). Hasil ekspresi gen ini pada akhirnya akan mempengaruhi terjadinya transkripsi dan translasi untuk menghasilkan protein.

Pada jalur ke dua, dalam mitokondria E2-ER mengubah fungsi mitokondria dengan mediasi ekspresi gen melalui interaksi dengan mtDNA secara langsung, serta meningkatkan superoksida dismutase mangan. Fungsi mitokondria juga dimodulasi oleh E2-ERs nuklear melalui ekspresi gen, yang produk proteinnya terlibat langsung di mitokondria (Pedram, 2006). Dalam signaling nuklear, ER memberi aksi E2 dengan dua mode yang berbeda yaitu dengan cara respon elemen estrogen (ERE) dependen dan ERE jalur independen (Hall, 2001). Jalur sinyal ERE secara dependen melibatkan interaksi dari E2-ER dengan Eres pada DNA kemudian meregulasi ekspresi gen. Sedangkan jalur sinyal ERE secara independen memerlukan modulasi ekspresi gen responsif secara langsung atau tidak langsung, melalui co-regulatory protein (CRs), interaksi E2-ER dengan faktor transkripsi sehingga terbentuknya protein (Yazar, 2016).

Berdasarkan penjelasan di atas, penurunan ekspresi protein ini merupakan satu dari beberapa penyebab jika kadar protein total ovarium yang tidak seimbang. Allah SWT telah menjelaskan dalam surat Al-Mulk (67); 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَوَاتٍ طِبَاقًا ۚ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۚ فَإِذْ جِئَ الْبَصَرُ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya: Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu Lihat sesuatu yang tidak seimbang?

Shihab (2002) menerangkan bahwa kata (تفاوت) mulanya mempunyai arti kejauhan. Dua hal ini dapat disimpulkan bahwa ada ketidakserasian, sehingga kata tersebut diartikan tidak serasi atau tidak seimbang. Pada keadaan ini, ketika kadar estrogen dalam keadaan seimbang, maka fungsi estrogen sebagai penginisiasi proses translasi akan berjalan dengan baik. Namun saat estrogen menurun dalam tubuh, maka dapat menyebabkan penurunan sintesis protein, yang ditunjukkan dengan tidak terekspresinya protein tersebut. Dampak dari ketidak seimbangan protein ini mengakibatkan proses metabolisme pada ovarium terhambat dengan ditandainya memanjangnya fase diestrus. Memanjangnya fase diestrus secara signifikan dapat mengurangi kehamilan (Vogel, 2002).

Fungsi dari sintesis protein ovarian pada tubuh telah dijelaskan pada Al-Qur'an surat Al-Imran(3): 191;

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya; “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.”

Berdasarkan ayat diatas bahwasannya Allah menciptakan segala sesuatu tanpa yang sia-sia, dan Allah SWT telah memperhitungkan dalam ukuran-ukurannya. Seperti halnya dengan protein ovarian, yang merupakan molekul berukuran kecil, namun memiliki pengaruh yang sangat besar pada fisiologi makhluk hidup. Kehilangan satu atau lebih jenis protein ovarian saja dapat menghambat metabolisme dalam tubuh, seperti halnya dalam penelitian ini,

kehilangan protein dengan BM 56 kDa maka dapat menghambat proses oogenesis dalam ovarium.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa profil protein ovarium tikus (*Rattus norvegicus*) betina setelah pemberian daun sisik naga (*P. piloselloides*) adalah 26 pita protein terekpresi pada perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2), 14 pita protein pada perlakuan 3 (P3), 13 pita protein pada perlakuan 4 (P4), 10 pita protein pada perlakuan 5 (P5), 5 pita protein pada perlakuan 6 (P6).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai presentase kandungan zat aktif yang terdapat dalam daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) melalui KLTP (Kromatografi Lapis Tipis Preparatif)
2. Uji lanjut *imonoblotting* untuk memastikan bahwa protein ovarium yang berhasil diisolasi adalah protein yang berperan dalam oogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, Ardi. 2006. Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Air Daun Sisik Naga(*Pyrrosia poliseloides*). *Skripsi*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Abdullah. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Diterjemahkan oleh M. Abdul Ghoffar E.M. dan Abdurrahim Mu'thi. Bogor: Pustaka Imam asy-Syafi'i.
- Al Qurthubi, Syaikh Ilam.2008.*Tafsir Al Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam. (Penerjemah: Muhyiddin Masridha).
- Agustini , Kurnia, Sumali Wiryiwidagdo, Dadang Kusmana. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenumgraecum* L.) Terhadap Perkembangan Kelenjar Mamae Tikus Putih Betina Galur Wistar. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. IV. No. 1
- Amiruddin, Tongku Nizwan Siregar. 2010. Karakterisasi Protein Inhibin Dari Sel Granulosa Hasil Kultur Dan Non Kultur Sebagai Dasar Produksi Antibody Monoclonal Inhibin. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol.4 No.1
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi keempat*. Jakarta: UI Press.
- Anwar, Ruswana. 2005. *Biosintesis, Sekresi dan Mekanisme Kerja Hormon*. Bandung: FK UNPAD
- Ariani, S.R.D., Endang S, Elfi Susanti, VH dan Setiyani. 2008. Activity Test Of Guava (*Psidium guajava* L) Leaf Methanol Extrak As Contraception Antifertility To Mice (*Rattus norvegicus*). *Indonesian Journal Of Chemistry*, Vol. 8,2.
- Ariyani, Kristin Kurnia. 2010. Efek Pemberian Ekstark Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*) Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva Pasca Gingivektomi Pada Tikus Wistar Jantan. Universitas Jember: *Skripsi*. Jember: UNEJ.
- Arifianti, Lusiana. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal planta husada*. Vol.2 No. 1.
- Aulanni'am. 2005. *Protein and These Analisis :in Indonesia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Aziz, Tamzil, Ratih Cindo K N, dan Asima Fresca. 20. Pengaruh Pelarut Heksana Dan Etanol, Volume Pelarut, Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. No.1, Vol.16.
- Barrett CB, Power RD. 1993. Progestins Inhibit Murine Oocyte Meiotic Maturation In Vitro. *J Exp Zool* 265:231–239.

- Baziad, Ali. 2003. *Menopause dan Andropause*. Jakarta : Yayasan Bina Pustaka.
- Benie T, El-Izzi A, Tahiri C, Duval J and Thieulant MLTI. 1990. *Combretodendrom Africanum* Bark Extract As An Antifertility Agen. I: Estrogenic Effect In Vivo And LH Release By Culture Gonadotrope Cells. *J Ethnopharmacol*. Vol. 29.
- Boone, David L. 1998. CAspase in the Rat Ovary: Localization and Possible Role in Follicular Atresia and Luteal Regression. *Biology of Reproduction* 58.
- Boone, David L. 1997. Induction Of Apoptosis In Equine Chorionic Gonadotropin (Ecg) - Primed Rat Ovaries By Anti-Ecg Antibody. *Biology Of Reproduction*. Vol.57.
- Cahyadi, Gde Agus Surya, I Gusti Agung Gede Bawa,dan Emmy Sahara. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri Pada Daun Herba Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Persl.). *Jurnal Kimia* 8(1).
- Chada, Sonita and Peter J. Hollenbeck. 2003. Review Mitochondrial Movement And Positioning In Axons: The Role Of Growth Factor Signaling. *The Journal Of Experimental Biology* 206.
- Chaqiqi, Firman.2013. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*) terhadap Berat dan Histologi Testis. *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Chou SC, Ramanathan S, Matsui A, Rojers J and Cutting WC. 1971. Isolation Of Saponis With Antifertility Activity From *Gleditschia horrida*. *Indian J Exp Biol*. Vol, 9.
- Dalimartha, Setiawan. 1999. *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Jakarta: Puspita Sehat.
- Dande, Payal and Suraj Patil. 2012. Evaluation Of Saponin From *Foenum Graecum* Seed For Its Antifertility Activity. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*. Vol.5, Suppl 3
- Dande, Payal Rahul, Chandrakant Bone, Nancy Pandita. 2014. Evaluation Of Saponin From *Sesbania sesban* L. MERR For Its Antifertility Effect In Female Albino Rat. *World Journal Or Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, Vol 3. Issue 3.
- Dewarhani, Yuliana Retno. 1995. Pengaruh Pencekokan Ekstrak Etanol Jagung Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca*, L) Terhadap Jumlah Anak Dari Mencit Betina (*Mus Musculus*) Strain AJ. *Tesis*. Jakarta: FK-UI.
- Fatchiyah. 2011. *Biologi molecular*. Jakarta : Erlangga.
- Feradis, MP. 2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Bandung: Alfabeta.

- Fuhrmann, Tamar Ronen, Rina Timberg, Steven R. King, Karen H. Hales, Dale B. Hales, Douglas M. Stocco and Joseph Orly. 1998. Spatio-Temporal Expression Patterns of Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) During Follicular Development in the Rat Ovary. *Endocrinology*. Vol.139, No.1.
- Ganong WF. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran (Review of Medical Physiology)*. Edisi-14. Alih bahasa : ardianto p. Jakarta: Tim EGC.
- Hall JM, Couse JF, Korach KS. 2001. The Multifaceted Mechanism Of Estradiol And Estrogen Receptor Signaling. *J Biol Chem*. Vol.276
- Hanafiah, Kemas Ali. 2012. *Rancangan Percobaan. Teori dan Aplikasi*. Jakarta: PT. Grafindo Persada.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia* terjemah K. Radmawinata dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hartoyo, Arif. 2003. *The dan Khasiatnya Bgai Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Heffner, L.J dan D.J. Schust. 2008. *At A Galance Sistem Reproduksi Edisi Kedua*. Jakarta: Erlangga.
- Hermadi, Herry Agoes, Hermadi, dan Mas'ud Hariadi. 2011. Isolasi, Identifikasi dan Permurnian Human Menopause Gonadotropin (hMG) dari Perempuan Menopause untuk Manipulasi Pertumbuhan Folikel Dan In Vitro Maturasi Pada Sapi Perah. *J.Penelit.Med.Eksata*, Vol.8, No.2
- Heti, Dany. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Herba SisikNaga (*Drymoglossum piloselloides* presl.) terhadap Sel T47D. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Novaira, Horacio J, J. B. Graceli, S. Capellino, A. Schoeffield, G. E. Hoffman, A. Wolfe, F. Wondisford, and S. Radovick. 2016. Development And Characterization Of Novel Rat. *Endocrinology*. Vol. 157(7).
- Hovenkamp, P H., M T M, Bosman, E, Hennipman., H P, Nootebom., G, Rodlilinder., M C, Ross. 1998. *Flora malesiana (Polypodiaceae)*. Netherlands: Hortus Botanicus.
- Hunter, R.H.F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. (Diterjemahkan D.K. Harya Putra). Bandung: ITB Press.
- Hwang, Juana-Juan, Sui-Wen Lin, Chen-Hsien Teng, Feng-Chun Ke, and Ming-Ting Lee. 1996. Relaxin Modulates The Ovulatory Process And Increases Secretion Of Different Gelatinases From Granulosa And Theca-Interstitial Cell In Rat. *Biology Reproduction* 55.

- Iswayuni, N. 2011. Pemberian Ekstrak Plasenta Meningkatkan Estradiol dan FSH serta Mengurangi Gejala Menopause. Tidak diterbitkan. Denpasar : Diakses 29 November 2016.
- Jasin, Maskoeri. 1984. *Sistematika Hewan (Invertebrate Dan Vertebrata)*. Surabaya: Sinar Wijaya.
- Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: UI Press
- Keinanen, Kari P. 1988. Effect of deglycosylation on the structure and hormone-binding activity of the lutropin receptor. *Biochem. J.* Vol. 256.
- Kusmana, Dadang, R. Lestari, Setiorini, A,N. Dewi, P.R.Ranti, dan R.R.R. Soraya. 2007. Efek Estrogenek Ekstrak Etanol 70% Kunyit (*Curcuma domestica* VAL.) Terhadap Mencit (*Mus musculus* L.) Betina Yang Diovarisektomi. *MAKARA, SAINS*, Vol.11, NO.2
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: UGM press.
- Laemmli, U. K. Cleavage of Structural Protein During The Assembly of The Head of Bacteriophage T4. *Journal Biology Of Reproduction*. Vol. 48.
- Lobo, Maria V.T., Lydia Huerta, Maria Isabel Arenas, Rebeca Busto, Migguel Lacuncion, and Antonia Martin-Hidalgo. 2009. Hormone-Sensitive Lipase Expression And IHC Location In The Rat Ovary, Oviduct, And Uterus. *Journal Of Histochemistry And Cytochemistry*. Vol.57 (1).
- Malinda, Ayu Fauzia, Fatmawali, dan Adithya Yudistira. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Paku Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* L.Presl) Terhadap Peroksidasi Lipid Hati pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl₄. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-Unstrat*. Vol.2 No.02.
- Malole, M.B.M dan C.S.V.Pramono.1989. *Penggunaan Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi :Institut Pertanian Bogor.
- Marimbi, Hanum.2010. *Biologi Reproduksi*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Markham, K R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Moldrup, Annette, Nils Billestrup, and Jens Hoiriis Nielsen. 1990. Rat Insulinoma Cells Express Both A 115-Kda Growth Hormone Receptor And A 95-Kda Prolactin Receptor Structurally Related To The Hepatic Receptor. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol.265, No.15
- Mukholifah. 2015. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica*. (L) Urban) terhadap Jumlah

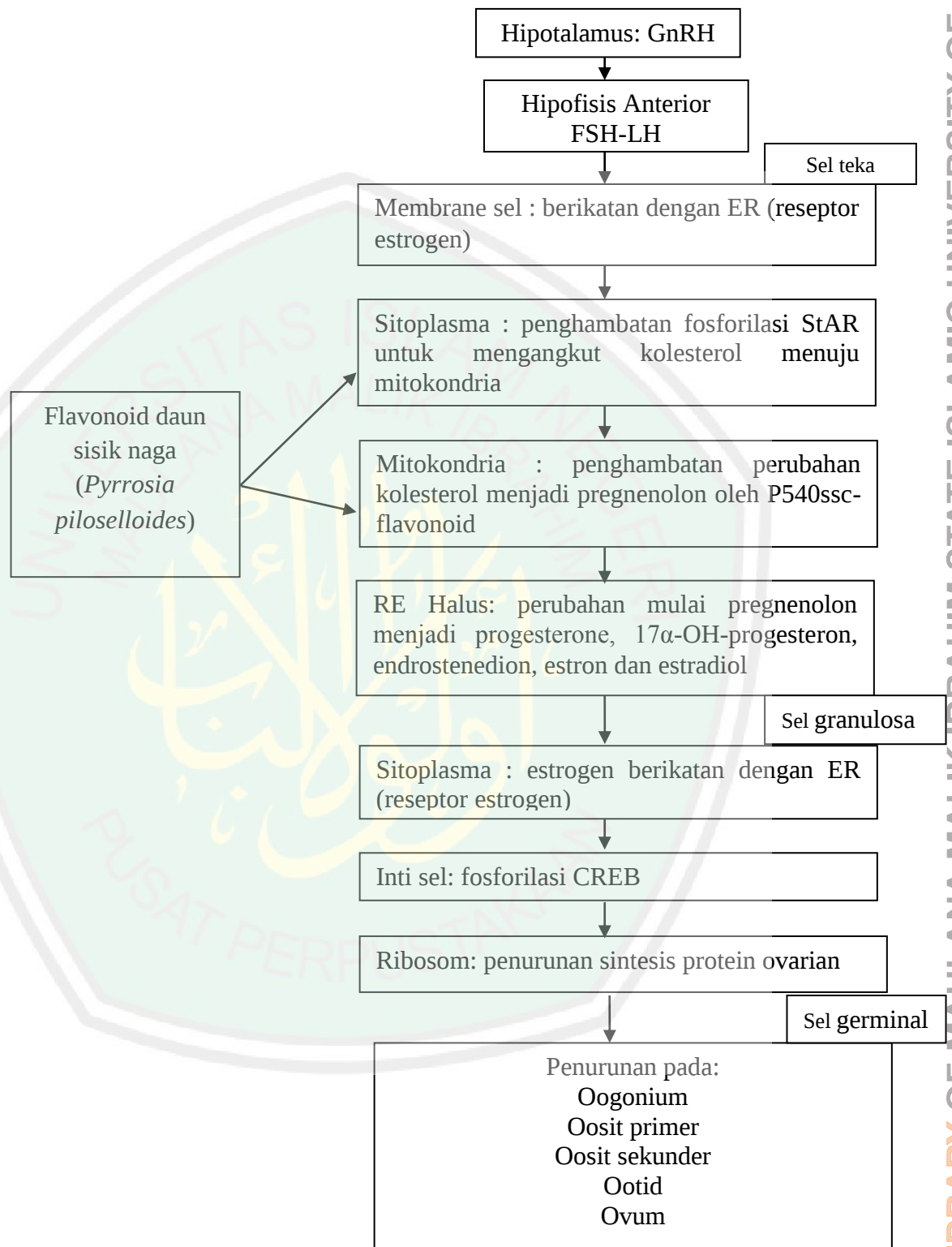
- Folikel, Kadar SOD dan MDA Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Paccola, C.C. 2013. The Rat Estrous Cycle Revisited: A Quantitative And Qualitative Analysis. *Anim. Reprod* Vol.10 No.4
- Pansky, Ben. 1982. *Review Medical Embryology*. McGraw-Hill
- Paranko Jorma, Jurgen Seitz, Andreas Meinhardt. 1996. Development Expression Of Heat Shock Protein 60 (HSP60) In The Rat Testis And Ovary. *Differentiation*. Vol. 60 (159-167).
- Partodihardjo, Soebadi. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara sumber widya.
- Pearce, E.C. 1997. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Pedram A, Rizandi M, Wallace DC, Levin ER. 2006. Functional Estrogen Receptor In The Mitochondrial Of Brest Cancer Cells. *Mol Biol Cell*. Vol.17.
- Pires Eusobio S, *et all*. 2014. SAS1B Protein (Ovastacin) Show Temporal And Spatial Restriction To Oocytes In Several Eutherian Orders And Initiates Translation At The Primary To Secondary Follicle Transition. *Dev Dyn*. Vol.242.
- Poedjiadi, Anna. 2007. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Prossnitz ER and Barton M. 2014. Estrogen Biology: New Insights Into GPER Function And Clinical Opportunities. *Mol Cell Endocrinol* .Vol.389.
- Rahayu, Adelina Rahayu. 2013. Kadar Testosteron dan Profil Testicular Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*). *Skripsi*. Malang: UIN Malang
- Rahmaningtias, Rizka. 2012. Identifikasi Senyawa Dalam Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*) dengan GC-MS dan Uji Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Hayati*.
- Risnasari, Iwan. 2002. Tannin. *Karya Ilmiah*. Sumatera:USU.
- Rantam, F. 2003. *Metode Imonologi*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Razandi M, Pedram A, Greene GL, Levin ER. 1999. Cell Membrane And Nuclear Estrogen Receptor (Ers) Originate From A Single Transcript: Studies Of Eralpha And Erbeta Expressed In Chinese Hamster Ovary Cell. *Mol Endocrinol*. Vol.13

- Robinson, Trevor. 1991. *Kandungan Organic Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit IPB.
- Sahid, Anwar, Dingse Pandiangan, Parluhutan Siahaan, Marhaenus J. Rumonodor. 2013. Uji sitoksisitas ekstrak methanol daun sisik naga (*drymoglossum piloselloides presl.*) terhadap sel leukemia P388. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2(2).
- Saryono. 2008. *Biokimia Reproduksi*. Yogyakarta: Mitra Cendekia.
- Saryono. 2009. *Biokimia Hormon*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Senja, Rima Yulia. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea L. var capitata f. rubra*). *Trad. Med. J.* Vol. 19(1).
- Setiawan, Rudi. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) Terhadap Penurunan Gula Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Sherwood. 2001. *Human Phydology From Cell to System, second Edition*. San Fransisco: West Publishing Company.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Smith, J.B, dan Soesanto, Mangkowidjojo. 1987. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. Australia: International Development Program of Australia Universities and Colleges.
- Spicer Spicer LJ, Aad PY, Allen DT, Mazerbourg S, Payne AH, Hsueh AJ. 2008. Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) Stimulates Proliferation And Inhibits Steroidogenesis By Bovine Theca Cells: Influence Of Follicle Size On Responses To GDF9. *Biol Reprod*. 78(2).
- Stocco, D.M., X.J. Wang, Y. Jo. And P.R. Manna. 2005. Multiple Signaling Phatways Regulating Streroidegenesis and Steroidogenic Acute Regulatory Protein Expression: More Complicated Than We Thought. *Molecular Endocrinology*. Vol. 19. No. 11.
- Suryohastari, Rr. Bhintarti. 2016. Analisis Protein Defensing Dari Biji Jintam Hitam (*Nigella sativa L.*) pada mencit (*Mus musculus*) yang diberi biji jintem hitam melalui teknik SDS-PAGE. *Al-kauniyah jurnal Biologi*, 9(1).
- Susilowati, L.N. 1995. Daya Antibakteri Daun *Drymoglossum heterophyllum C.Chr.* (Pakis duwitan) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Streptococcus Aureus* Serta Skrining Fitokimianya. *Laporan Penelitian*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi.

- Syuyuthi, Jalaluddin dan Jalaluddin Muhammad bin Ahmad al-Mahalliy. Tanpa tahun. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Nurul Huda.
- Svechnikov, K., G. Izzo, L. Landreh, J. Weisser and O. Soder. 2010. Endocrine disruptor and Leydig Cell Function. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Vol.210.
- Syuyuthi, Jalaluddin dan Jalaluddin Muhammad bin Ahmad al-Mahalliy. Tanpa tahun. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Nurul Huda.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2006. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Turner, C Donnel dan Joseph T Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum*. Penerjemah: Harsojo. Surabaya: Penerbit Airlangga University Press.
- Uzumcu, Mehmet, Zui Pan, Yi Chu, Peter E Khun and Rob Zachow. 2006. Immunolocalization Of The Hepatocyte Growth Factor (HGF) System In Rat Ovary And The Anti-Apoptotic Effect Of HGF In Rat Ovarian Granulosa Cells In Vitro. *Reproduction*. Vol.132
- Vitt, UA, Mazerbourg S, Klein C, Hsueh. 2002. Bone Morphogenetic Protein Receptor Type II Is A Reseptor For Growth Differentiation Factor-9. *Boil reprod* 67(2).
- Vogel GH. 2002. Ovarin Hormones. In : *Drug Discovery And Evaluation Pharmacological Assay*. *Spinger*, pp 1154-1171.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi IV*. Yogyakarta: UGM Press.
- Walker, W.H. and J.Cheng. 2005. FSH and Testosterone signaling in sertoli cells. *Journal of reproduction and fertility*. Vol.130.
- Wang, Xia Jia. 2006. *Natural Flavonoid In Star Gene Expression And Testosterone Biosynthesis*. United State Of America: Garrison Institute On Aging, Departemen Of Neurology Texas Tech University Health Sciences Center.
- Warditiani dkk, 2010. Skrining Fitokimia Methanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA UNUD*.
- Wati, Fatna Andika. 2010. Pengaruh Air Perasan Kulit Manis (*Citrus aurantium* sub spesies *sinensis*) Terhadap Tingkat Kematian Larva *Aedes aegypti* Instar III In Vitro. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta.

- Widjiati, Epy, Zaenal Mustakim, Lianny Nangoi. 2008. Identifikasi Growth Differentiation Factor-9 (Gdf) Pada Oosit Sapi Yang Dimaturasi Secara In Vitro Dengan Metode Elektroforesis. *Jurnal Ilmu Peternakan*. Vol. 3 No.2.
- Widjiati, Sri Pantja Madyawati, Rimayanti, Agung Budianto Achmad. 2015. Terapi Sel Punca Mesenkimal Sumsum Tulang Tikus dalam Meregenerasi Sel Sitotrofoblas Nekrosis yang Dipapar Carbon Black. *Jurnal Veteriner*. Vol.16 No.2.
- Yanti, Lisma, Yuwidia rise brasiska, Aang Hanifah. 2013 Antihiperglikemia Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga Dengan Metode Toleransi Glukosa. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and technology*. Vol.II No.1.
- Yasar, Pelin, Gamze Ayaz, Sirma Damla User, Gizem Gupur, Mesut Muyan. 2017. Molecular Mechanism Of Estrogen-Estrogen Receptor Signaling. Review Article. *Reprod Med Biol* 16:4-20
- Yatim, Wildan. 1982. *Reproduksi dan Embriologi*. Bandung: Tarsito.
- Yatim, Wildan. 1994. *Reproduksi dan Embriologi*. Bandung: Tarsito.

Lampiran 1. Kerangka Konsep Penelitian



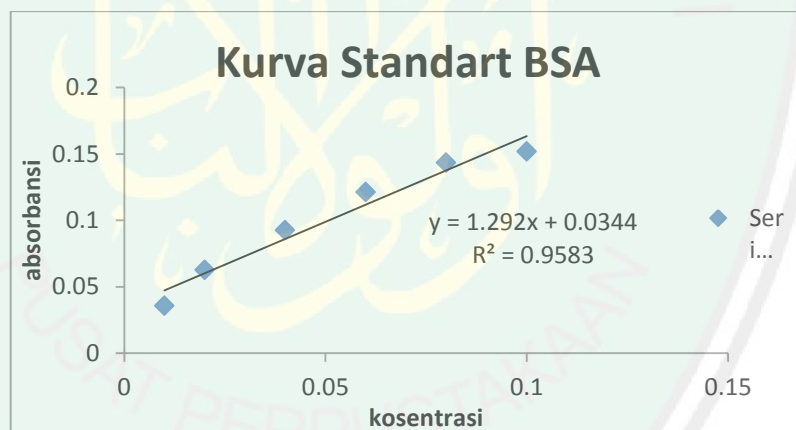
Lampiran 2. Kurva Standart Kadar Protein

1. Pembuatan kurva standart kadar protein total menggunakan metode lowry

Berikut ini merupakan hasil absorbansi dan pembuatan kurva standart:

Tabel 2.1 Hasil absorbansi kurva standart BSA

Kosentrasi standart (mg/ml)	Hasil absorbansi (X)
0.01	0.0356
0.02	0.0626
0.04	0.0925
0.06	0.1211
0.08	0.1434
0.1	0.1517



Gambar 2.1 Kurva Standart BSA

Berdasarkan kurva standart BSA diatas diketahui persamaan regresi liniernya adalah:

$$Y = 0.9583x + 0.0344$$

$$R = 0.9583$$

2. Perhitungan Kadar Protein Total Ovarium Tikus Betina Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

Perhitungan kadar protein total dilakukan dengan mengukur absorbansi dari masing-masing sampel menggunakan spektrofotometer dan mengkonversikan dalam persamaan regresi linier:

Contoh:

Diketahui hasil absorbansi (Y)= 0,241314

Dimasukkan ke persamaan linier $0.0779 = 0.1292x + 0.0344$

Maka: $X = (0,0779 - 0,0344) / 0.1292$

$X = 0,0336$

Hasil absorbansi kadar protein total ovarium tikus setelah pemberian sisik naga

Tabel 2.2 Hasil Absorbansi Protein Total Ovarium

Perlakuan	Ulangan	Nilai Absorbansi	Nilai X	Rerata
0 mg/200g BB	1	0.0779	0.03366873	0.09733
	2	0.1812	0.11362229	
	3	0.2164	0.14086687	
	4	0.1651	0.10116099	
25 mg/200g BB	1	0.1517	0.09078947	0.113332
	2	0.1789	0.11184211	
	3	0.2108	0.13653251	
	4	0.1819	0.11416409	
50 mg/200g BB	1	0.1337	0.07685759	0.105708
	2	0.1024	0.05263158	
	3	0.2794	0.18962848	
	4	0.1684	0.10371517	
75 mg/200g BB	1	0.1223	0.06803406	0.095762
	2	0.1482	0.0880805	
	3	0.1965	0.1254644	
	4	0.1655	0.10147059	
100 mg/200g BB	1	0.1331	0.07639319	0.103038
	2	0.1092	0.05789474	
	3	0.1886	0.11934985	

	4	0.2392	0.15851393	
125 mg/200g BB	1	0.1812	0.11362229	0.106289
	2	0.0764	0.03250774	
	3	0.2771	0.1878483	
	4	0.1522	0.09117647	



Lampiran 3. Penentuan Berat Molekul Relatif

1. Pembuatan kurva masa molekul protein standart

Penentuan berat molekul dilakukan dengan bantuan protein standart.

Untuk menghitung berat molekul protein ovarium dilakukan dengan menghitung Rf dari masing-masing pita menggunakan rumus:

$$R_f = a/b$$

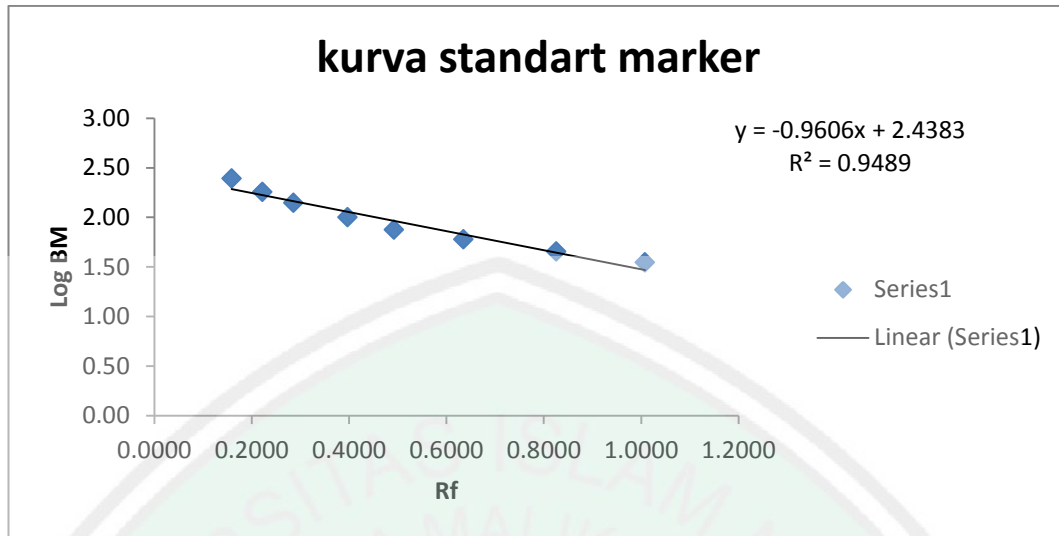
Keterangan:

a = jarak pergerakan pita protein dari sumuran (well) hingga pita yang dicari berat molekulnya

b = jarak terakhir pergerakan yang ditempuh oleh protein

Tabel 3.1 Nilai Rf dan Berat Molekul Marker

a	b	Rf (X)	Berat Molekul (kDa)	Log Berat Molekul (Y)
1	6.3	0.1587	245	2.39
1.4	6.3	0.2222	180	2.26
1.8	6.3	0.2857	140	2.15
2.5	6.3	0.3968	100	2.00
3.1	6.3	0.4921	75	1.88
4	6.3	0.6349	60	1.78
5.2	6.3	0.8254	45	1.65
6.35	6.3	1.0079	30	1.54



Gambar 3.1 Kurva Standart Berat Molekul Protein Standart

Berdasarkan kurva kurva berat molekul protein standart diatas diketahui persamaan regresi linier adalah:

$$Y = 2,4383 - 0,9606x$$

$$R = 0,9489$$

2. Perhitungan berat molekul (BM) pita protein ovarium

Perhitungan BM dilakukan dengan mengukur Rf dari masing-masing sampel dan mengkonversikan dalam regresi linier :

Contoh :

Jarak pergerakan pita protein dari sumuran (a) 1,6 cm, dan jarak pergerakan pewarna dari sumuran (b) 6,25 cm

$$\text{Maka nilai } R_f = a/b = 1,6/6,25 = 0,256$$

Selanjutnya Rf dikonversikan ke dalam persamaan linier protein standart:

$$Y = 2,4383 - 0,9606x$$

$$Y = 2,4383 - (0,9606 \times 0,256) = 2,192386$$

Berat Molekul (BM) = antilog Y

$$\text{antilog } 2,192386 = 156 \text{ kDa}$$

Berikut tabel BM protein ovarium pada masing-masing perlakuan:

Tabel 3.2 Berat Molekul Ovarium Pada Perlakuan 1 (0 mg/200gr BB)

NO	a	b	Rf	log BM (Y)	BM
1	1.6	6.25	0.256	2.1923864	155
2	1.7	6.25	0.272	2.1770168	150
3	2.1	6.25	0.336	2.1155384	130
4	2.15	6.25	0.344	2.1078536	128
5	2.2	6.25	0.352	2.1001688	126
6	2.5	6.25	0.4	2.05406	113
7	2.65	6.25	0.424	2.0310056	107
8	3	6.25	0.48	1.977212	95
9	3.1	6.25	0.496	1.9618424	92
10	3.5	6.25	0.56	1.900364	79
11	3.8	6.25	0.608	1.8542552	71
12	3.9	6.25	0.624	1.8388856	69
13	4	6.25	0.64	1.823516	67
14	4.1	6.25	0.656	1.8081464	64
15	4.15	6.25	0.664	1.8004616	63
16	4.3	6.25	0.688	1.7774072	60
17	4.5	6.25	0.72	1.746668	56
18	4.6	6.25	0.736	1.7312984	54
19	5.1	6.25	0.816	1.6544504	45
20	5.2	6.25	0.832	1.6390808	44
21	5.3	6.25	0.848	1.6237112	42
22	5.4	6.25	0.864	1.6083416	41
23	5.8	6.25	0.928	1.5468632	35
24	6	6.25	0.96	1.516124	33
25	6.1	6.25	0.976	1.5007544	32
26	6.3	6.25	1.008	1.4700152	30

Tabel 3.3 Berat Molekul Ovarium Pada Perlakuan 2 (25 mg/200gr BB)

NO	a	b	Rf	log BM (Y)	BM
1	1.6	6.25	0.256	2.1923864	155
2	1.7	6.25	0.272	2.1770168	150
3	2.1	6.25	0.336	2.1155384	130
4	2.15	6.25	0.344	2.1078536	128
5	2.2	6.25	0.352	2.1001688	126

6	2.5	6.25	0.4	2.05406	113
7	2.65	6.25	0.424	2.0310056	107
8	3	6.25	0.48	1.977212	95
9	3.1	6.25	0.496	1.9618424	92
10	3.5	6.25	0.56	1.900364	79
11	3.8	6.25	0.608	1.8542552	71
12	3.9	6.25	0.624	1.8388856	69
13	4	6.25	0.64	1.823516	67
14	4.1	6.25	0.656	1.8081464	64
15	4.15	6.25	0.664	1.8004616	63
16	4.3	6.25	0.688	1.7774072	60
17	4.5	6.25	0.72	1.746668	56
18	4.6	6.25	0.736	1.7312984	54
19	5.1	6.25	0.816	1.6544504	45
20	5.2	6.25	0.832	1.6390808	44
21	5.3	6.25	0.848	1.6237112	42
22	5.4	6.25	0.864	1.6083416	41
23	5.8	6.25	0.928	1.5468632	35
24	6	6.25	0.96	1.516124	33
25	6.1	6.25	0.976	1.5007544	32
26	6.3	6.25	1.008	1.4700152	30

Tabel 3.4 Berat Molekul Ovarium Pada Perlakuan 3 (50 mg/200gr BB)

NO	A	b	Rf	log BM (Y)	BM
1	2.1	6.25	0.336	2.1155384	130
2	2.15	6.25	0.344	2.1078536	128
3	3	6.25	0.48	1.977212	95
4	3.1	6.25	0.496	1.9618424	92
5	3.5	6.25	0.56	1.900364	79
6	3.8	6.25	0.608	1.8542552	71
7	3.9	6.25	0.624	1.8388856	69
8	4.3	6.25	0.688	1.7774072	60
9	4.5	6.25	0.72	1.746668	56
10	5.1	6.25	0.816	1.6544504	45
11	6	6.25	0.96	1.516124	33
12	5.8	6.25	0.928	1.5468632	35
13	6.1	6.25	0.976	1.5007544	32
14	6.3	6.25	1.008	1.4700152	30

Tabel 3.5 Berat Molekul Ovarium Pada Perlakuan 4 (75 mg/200gr BB)

No	a	b	Rf	log BM (Y)	BM
1	2.1	6.25	0.336	2.1155384	130
2	2.15	6.25	0.344	2.1078536	128
3	3	6.25	0.48	1.977212	95
4	3.1	6.25	0.496	1.9618424	92
5	3.5	6.25	0.56	1.900364	79
6	3.8	6.25	0.608	1.8542552	71
7	3.9	6.25	0.624	1.8388856	69
8	4.3	6.25	0.688	1.7774072	60
9	4.5	6.25	0.72	1.746668	56
10	5.1	6.25	0.816	1.6544504	45
11	5.8	6.25	0.928	1.5468632	35
12	6.1	6.25	0.976	1.5007544	32
13	6.3	6.25	1.008	1.4700152	30

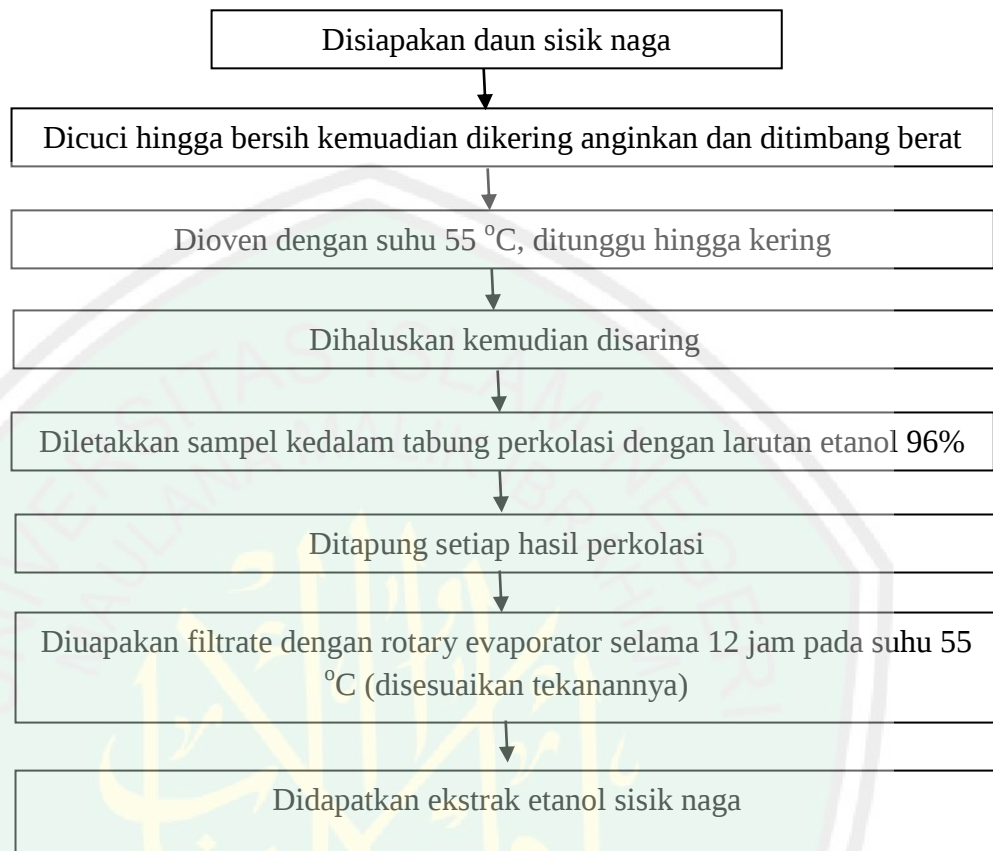
Tabel 3.6 Berat Molekul Ovarium Pada Perlakuan 5 (100 mg/200gr BB)

No	a	b	Rf	log BM (Y)	BM
1	2.1	6.25	0.336	2.1155384	130
2	3	6.25	0.48	1.977212	95
3	3.1	6.25	0.496	1.9618424	92
4	3.5	6.25	0.56	1.900364	79
5	3.8	6.25	0.608	1.8542552	71
6	3.9	6.25	0.624	1.8388856	69
7	5.1	6.25	0.816	1.6544504	45
8	5.8	6.25	0.928	1.5468632	35
9	6.1	6.25	0.976	1.5007544	32
10	6.3	6.25	1.008	1.4700152	30

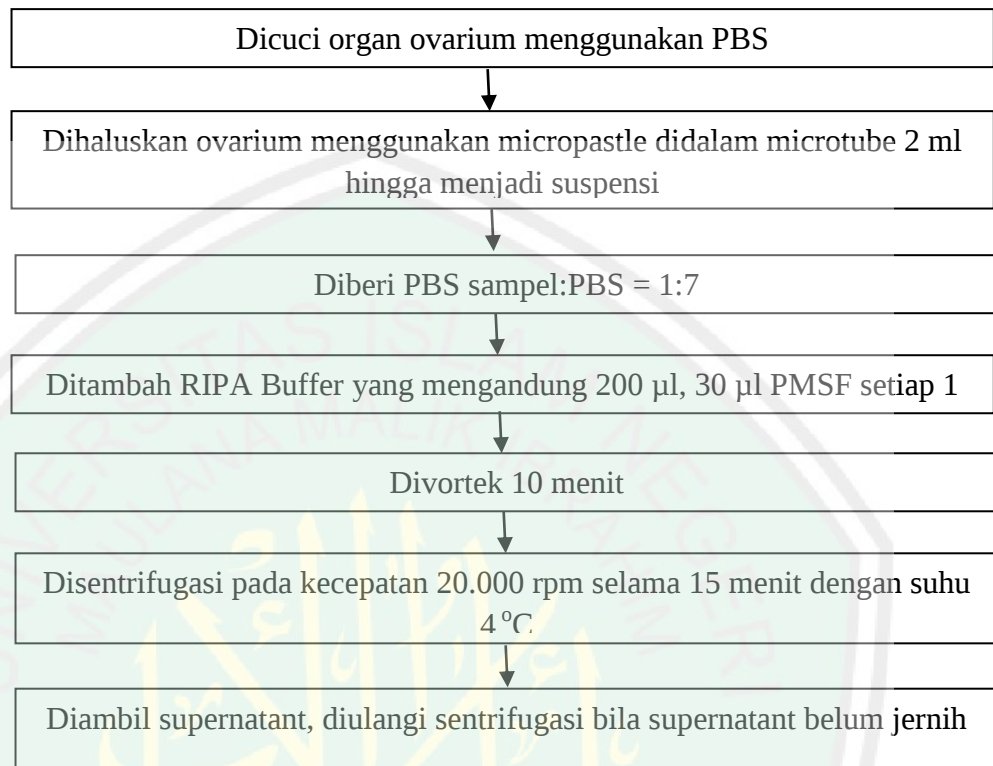
Tabel 3.7 Berat Molekul Ovarium Pada Perlakuan 6 (125 mg/200gr BB)

NO	A	b	Rf	log BM (Y)	BM
1	2.1	6.25	0.336	2.1155384	130
2	5.1	6.25	0.816	1.6544504	45
3	5.8	6.25	0.928	1.5468632	35
4	6.1	6.25	0.976	1.5007544	32
5	6.3	6.25	1.008	1.4700152	30

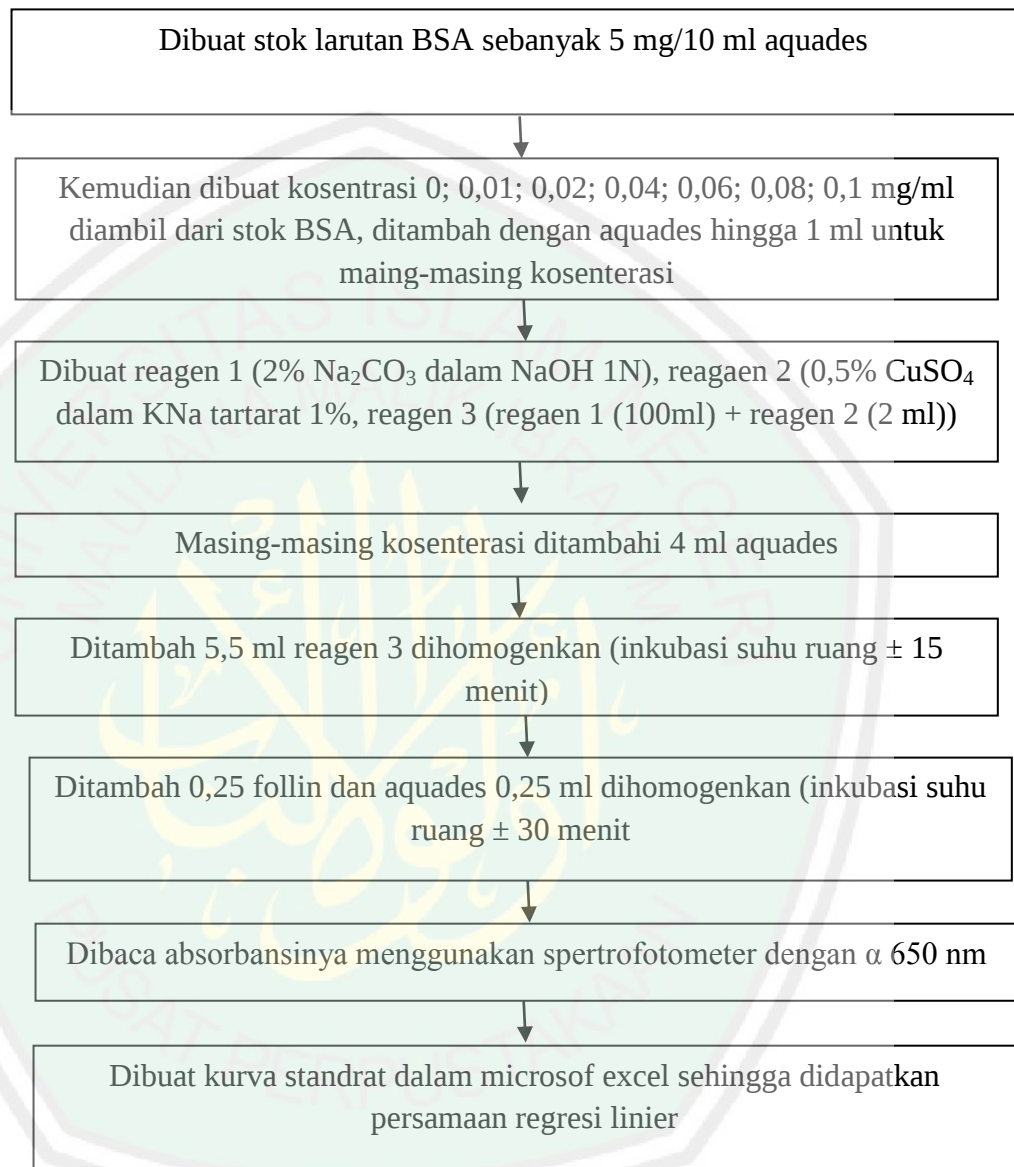
Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan Ekstark Etanol Daun Sisik Naga Dengan Metode Perkolasi



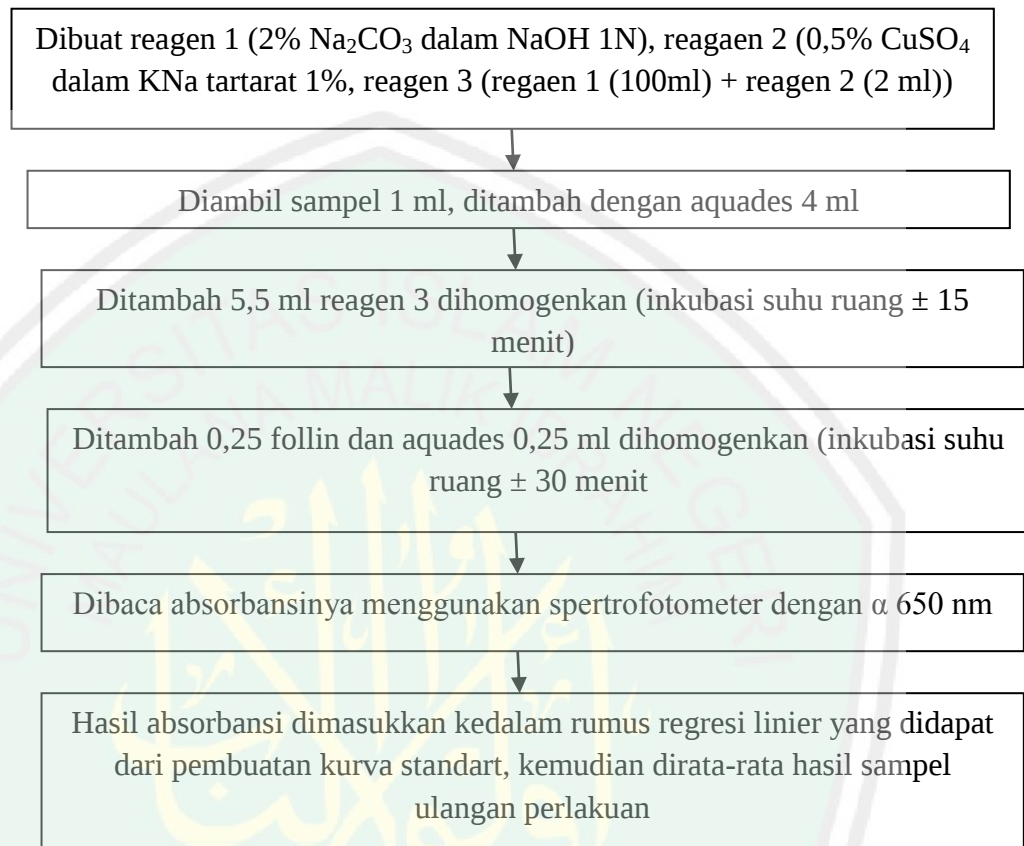
Lampiran 5. Skema Kerja Isolasi Protein Ovarium



Lampiran 6. Skema Kerja Pembuatan Kurva Standart BSA menggunakan Metode Lowry



Lampiran 7. Skema Kerja Pengukuran Kadar Protein Total Ovarium



Lampiran 8. Komposisi Larutan

1. Komposisi Larutan Isolasi Protein Ovarium

Nama Larutan	Komposisi	Jumlah
PBS		500 ml
RIPA buffer	0,5% NA-deoxycholate	5 mg
	0,1 SDS	1 mg
	50 mM NaF	2,1 mg
	NP 40	500 µl
	Aquades	500 µl

2. Komposisi Larutan pada Elektroforesis SDS-PAGE 12,5%

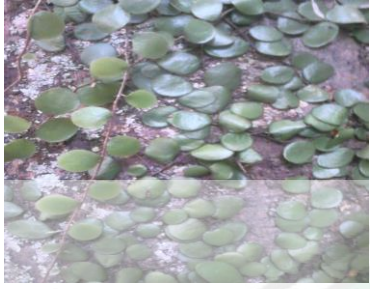
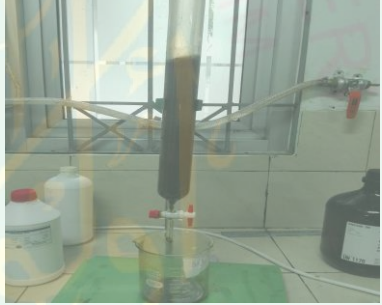
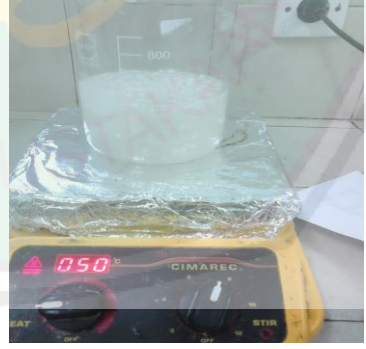
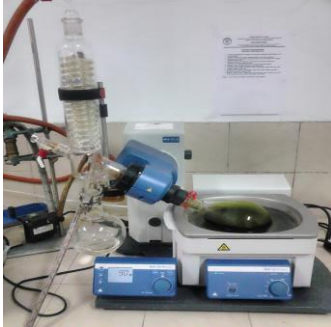
Nama Larutan	Komposisi	Jumlah
T-acrylamide 30%	acrylamid	2,92
	bis acylamide	0,08
	aquades	10 ml
1,5 Tris-HCl pH 8,8	tris base	5,446 g
	HCl 1 N	30 ml
	adjust ph	
1 M Tris-HCl pH 6,8	tris base	1,2 g
	ddh2o	12 ml
	adjust to pH 6,8 with 6 N HCl	
	ddh2o to	20 ml
10% SDS	SDS	10 g
	ddh2o	90 ml
10% APS	APS	0,1 g
	ddh2o	1 ml
10 x running SDS-PAGE	tris base	30,30 g
	glycine	144,1 g
	SDS	10 g
	EDTA-2 Na	0,268 g
	ddh2o	1 liter
2x RSB (reducing sample buffer)	125 mM tris	0,606 g
	4,6 % SDS	1,84 g
	10 % β- mercaptoethanol	4 ml
	20 % glicerol	5 ml
	0,1 % bromofenol blue	0,04 g
	aquades to	40 ml
staining gel	0,25 % comissie brilliant blue	0,25 g
	50 % methanol	50 ml
	5 % asam asetat	5 ml
	45 % ddh2o	45 ml

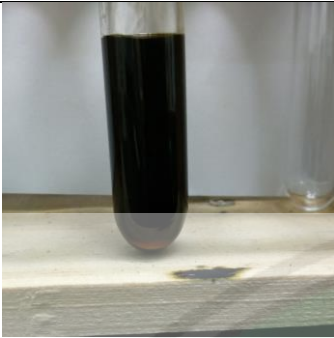
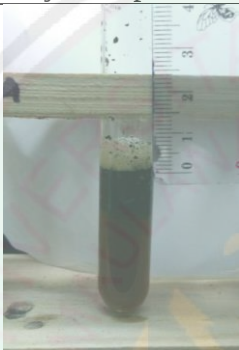
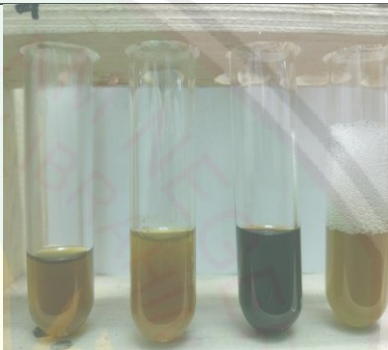
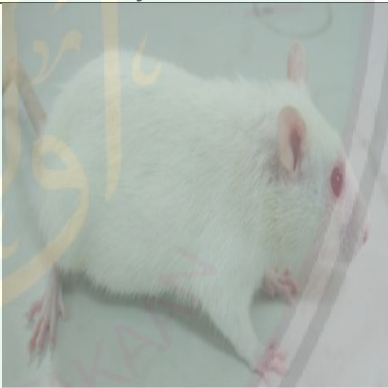
destaining gel	methanol	50 ml
	asam asetat glasial	50 ml
	ddh ₂ o	400 ml
komposisi stacking gel(1 buah gel)	30% T-acrylamide	225 μ l
	1 M tris pH 6,8	190 μ l
	ddh ₂ o	1055 μ l
	10% SDS	15 μ l
	10% APS	15 μ l
	TEMED	2,5 μ l
komposisi sparating gel	30% T-acrylamide	1562,5 μ l
	ddh ₂ o	1375 μ l
	1 M tris pH 6,8	752,5 μ l
	10% SDS	37,5 μ l
	10% APS	37,5 μ l
	TEMED	2,5 μ l

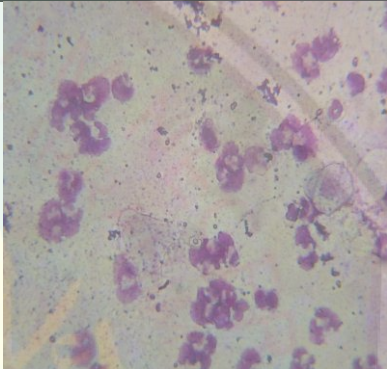
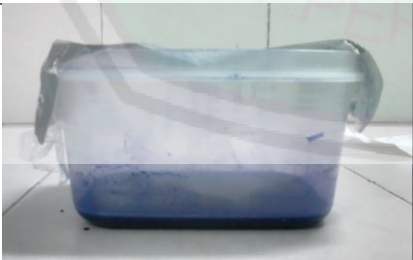
3. Uji Kadar Protein Dengan Metode Lowry

regaen 1	NaOH	0,4 gr
	aquades	100 ml
	2% Na ₂ CO ₄	2 grm
regen 2	KNa tartarat	1 gr
	aquades	100 ml
	0,5% CuSO ₄	0,5 gr
reagen 3	reagen 1	100 ml
	reagen 2	2 ml
reagen 4	Follin	10 ml
	aquades	10 ml
Stok BSA	BSA	5 mg
	Aquades	10 ml

Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

 Sisik naga (pyrrhosia piloselloides)	 Pencucian sisik naga
 Pentirisan sisik naga	 Pengeringan sisik naga
 Penimbangan sisik naga	 Perlokasi
 Penimbangan na-cmc	 Pembuatan nacmc
	

Rotary evaporator	Ekstrak sisik naga
 Uji triterpenoid	 Uji steroid
 Uji saponin	 Uji flavonoid
 Uji tannin-polifenol	 Tikus betina
 Ekstrak hasil rotary evaporator	 Kandang hewan coba

 Penyuntikan hormon	 Ekstrak berbagai dosis
 Pencekloan tikus	 Pengamatan siklus estrus
 Pengambilan sampel ovarium	 Elektroforesis protein
 Staining gel	 Destainin gel



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Imam Subandi
 NIM : 13620034
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil/ Genap TA
 Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si
 Judul Skripsi : Profil Protein Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides*)

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	10-02-2017	ACC Judul Skripsi	1.
2.	20-02-2017	Revisi Judul Skripsi	2.
3.	28-02-2017	Konsultasi BAB I	3.
4.	19-04-2017	Konsultasi BAB I dan BAB II	4.
5.	28-04-2017	Konsultasi BAB I, II dan III	5.
6.	05-05-2017	Revisi BAB I, II dan III	6.
7.	20-06-2017	ACC BAB I, II dan III	7.
8.	14-08-2017	Konsultasi Hasil Data Pengamatan	8.
9.	21-08-2017	Konsultasi Analisis Data	9.
10.	23-08-2017	Konsultasi Analisis Data	10.
11.	04-09-2017	Konsultasi BAB IV	11.
12.	07-10-2017	Revisi BAB IV	12.
13.	18-10-2017	Revisi BAB IV	13.
14.	26-12-2017	ACC BAB IV	14.
15.	04-01-2018	Konsultasi BAB V	15.
16.	05-01-2018	ACC Skripsi	16.

Pembimbing Skripsi,

Kholifah Holil M. Si
 NIP. 19751106 200912 2 002

Malang, 09, Januari 2018

Ketua Jurusan

Romaidi, M. Si, D. Sc
 NIP. 19810201 200901 1 019



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933

Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Imam Subandi
NIM : 13620034
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/Genap TA
Pembimbing : Umaiyyatus Syarifah, M.A
Judul Skripsi : Profil Protein Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Ekstrak Etanol Sisik Naga (*Ptychocheilichthys filamentosus*)

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	16-10-2017	Konsultasi BAB I, II, dan IV	1.
2.	18-10-2017	Revisi BAB I, II, dan IV	2.
3.	23-10-2017	Revisi BAB II dan IV	3.
4.	25-10-2017	Revisi BAB IV	4.
5.	01-12-2017	ACC BAB I, II, dan IV	5.
6.	0-01-2018	Revisi Abstrak Bahasa Arab dan Daftar Pustaka	6.
7.	09-01-2018	ACC Abstrak Bahasa Arab dan Daftar Pustaka	7.

Pembimbing Skripsi,

Umaiyyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Malang, 09 Januari 2018
Ketua Jurusan

Romaidi M. Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019