

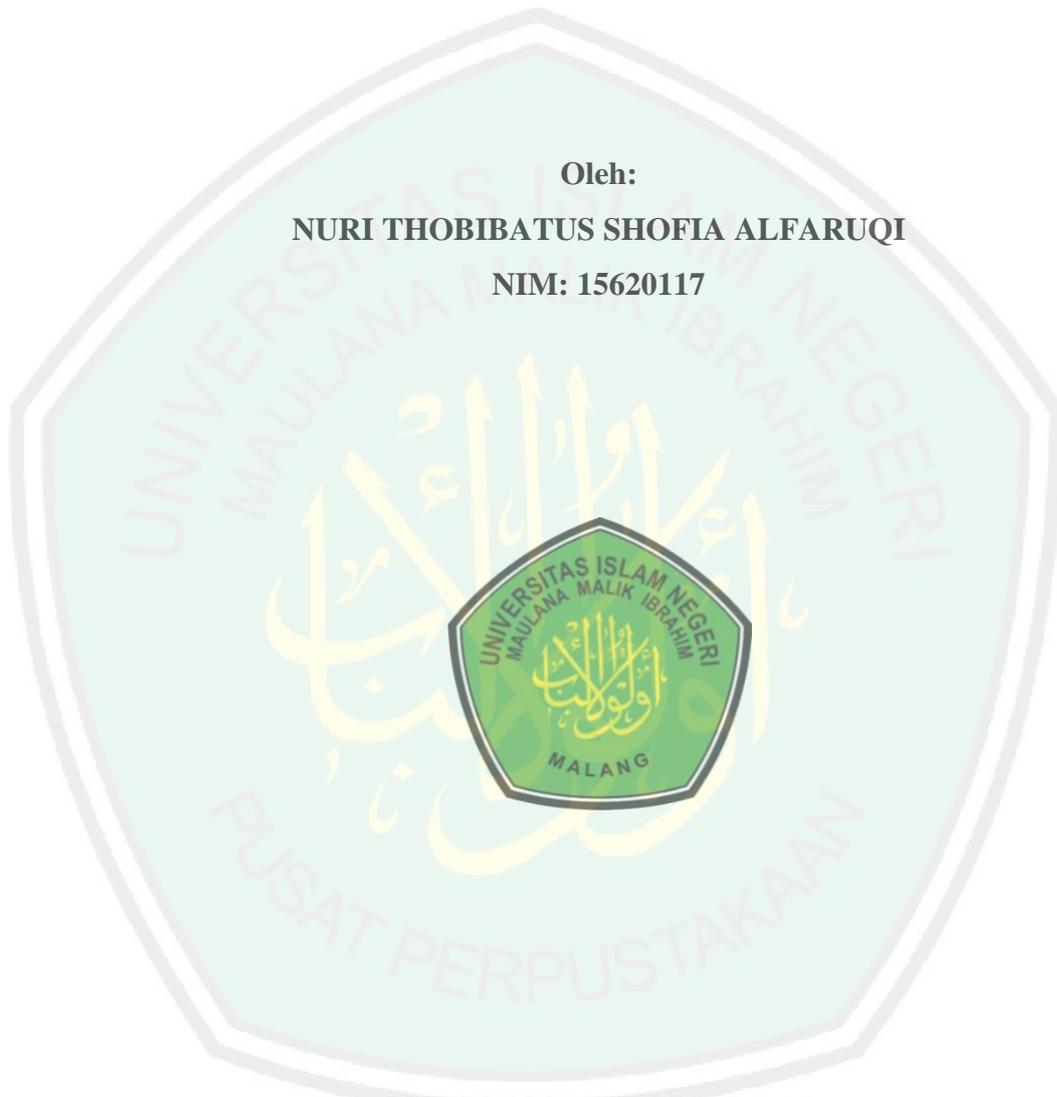
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH KURMA AJWA
(*Phoenix dactylifera*) TERHADAP PROLIFERASI SEL ENDOMETRIUM
KAMBING SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

NURI THOBIBATUS SHOFIA ALFARUQI

NIM: 15620117



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH KURMA AJWA
(*Phoenix dactylifera*) TERHADAP PROLIFERASI SEL ENDOMETRIUM
KAMBING SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

NURI THOBIBATUS SHOFIA ALFARUQI

NIM: 15620117

Diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh
gelar Sarjana Sains (S.Si)**

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH KURMA AJWA
(*Phoenix dactylifera*) TERHADAP PROLIFERASI SEL ENDOMETRIUM
KAMBING SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

Nuri Thobibatus Shofia Alfaruqi

NIM. 15620117

Telah disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



Kholifah Holil, M. Si
NIP. 19751106 200912 2 002



Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002



Mengesahkan
Program Studi Biologi

Winda Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH KURMA AJWA
(*Phoenix dactylifera*) TERHADAP PROLIFERASI SEL ENDOMETRIUM
KAMBING SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

NURI THOBIBATUS SHOFIA ALFARUQI

NIM. 15620117

Telah dipertahankan
Di depan dewan penguji skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 14 Desember 2020

Penguji Utama	<u>Dr. Kiptiyah, M.Si</u> NIP. 19731005 200212 2 003	
Ketua Penguji	<u>Prof. Dr. drh. Bayvinatul M., M.Si</u> NIP. 19710919 200003 2 001	
Sekretaris Penguji	<u>Kholifah Holil, M.Si</u> NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	<u>Mujahidin Ahmad, M. Sc</u> NIP. 19860512 201903 1 002	

Mengesahkan
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Kholifah Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

KARYA KECIL INI, KUPERSEMBAHKAN CINTA DAN BAKTI UNTUK:

- AYAH, BUNDA, DAN ADIK-ADIKKU
- KELUARGA BESAR YANG SUDAH MENSUPPORT
 - TEMAN-TEMAN SPERJUANGAN
 - TULLAB YANG HAUS AKAN ILMU



MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تَبْرَكَ الَّذِي نَزَّلَ الْفُرْقَانَ عَلَى عَبْدِهِ لِيَكُونَ لِلْعَالَمِينَ نَذِيرًا

Mahasuci Allah yang telah menurunkan Furqan (Al-Qur'an) kepada hamba-Nya (Muhammad), agar dia menjadi pemberi peringatan kepada seluruh alam (jin dan manusia). (Al Furqon, ayat 1)



PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nuri Thobibatus Shofia Alfaruqi
NIM : 15620117
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Kurma Ajwa
(*Phoenix dactylifera*) Terhadap Proliferasi Sel
Endometrium Kambing Secara *In Vitro*

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

Malang, 14 Desember 2020
Yang membuat pernyataan



Nuri Thobibatus Shofia Alfaruqi
NIM. 15620117

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) Terhadap Proliferasi Sel Endometrium Kambing Secara *In Vitro*” ini tidak dipublikasikan. Akan tetapi akses terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



ABSTRAK

Alfaruqi, Nuri Thobibatus Shofia. 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) Terhadap Proliferasi Sel Endometrium Kambing Secara *In Vitro*. Skripsi. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M. Si; Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, M. Si

Kata Kunci: Ekstrak Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*), Proliferasi Sel Endometrium, *In Vitro*.

Kegagalan implantasi embrio pada uterus dapat menyebabkan terjadinya keguguran atau abortus. Salah satu faktor kuatnya uterus sebagai tempat implantasi adalah ketersediaan hormon yang cukup. Endometrium merupakan lapisan jaringan pada uterus yang sangat responsif terhadap perubahan hormon. Suksesnya implantasi bergantung pada kuatnya sel epitel dan sel stroma endometrium. Kemampuan proliferasi sel endometrium akibat pengaruh hormon dipelajari secara *in vitro* dengan mengetahui nilai viabilitas (%) dan nilai PDT (jam) sel endometrium yang dikultur. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 5 konsentrasi perlakuan yaitu pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) pada medium DMEM 10% dengan konsentrasi 0 μ M, 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, dan 40 μ M dan 1 perlakuan kontrol 10 μ M genistein pada sel endometrium kambing secara *in vitro* yang diinkubasi selama 6 hari. Rancangan penelitian yang digunakan merupakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen dianalisis *One way* ANOVA dan uji lanjut dengan uji BNT 5%. Sedangkan, jika data normal dan tidak homogen dianalisis menggunakan uji Brown Forshyte dan diuji lanjut menggunakan uji Gomes-Howell. Berdasarkan data hasil yang diperoleh menunjukkan, ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) berpengaruh terhadap nilai viabilitas dan nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro*. Konsentrasi ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) yang paling berpengaruh terhadap nilai viabilitas (21.7 ± 6.51) (%) dan nilai PDT (1.53 ± 0.11) (jam) sel endometrium kambing secara *in vitro* adalah 10 μ M.

ABSTRACT

Alfaruqi, Nuri Thobibatus Shofia. 2020. The Effect of Ethanol Extraction Of Ajwa Date Fruit (*Phoenix dactylifera*) into Goat Endometrial Cell Decidualization In Vitro. Thesis. Biology Department Science and Technology Faculty Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Bology Advisor: Kholifah Holil, M. Si; Integration Advisor: Mujahidin Ahmad, M. Si

Key words: Ethanol Extraction Of Ajwa Date Fruit (*Phoenix dactylifera*), Goat Endometrial Cell Decidualization, In Vitro.

Embryo implantation failure in the uterine can be an abortion case. One factor to make uterine strength is the presence of enough hormone. The endometrium is responsive tissue for hormone changing. Successful implantation depends on the strength of the endometrium's epithelial cell and stromal cell strength. Endometrial cell decidualization because of a hormone can be learned in the study in vitro to determine the number of cell viability (%) and PDT (hour). This study aims to know the effect of ethanol extraction of Ajwa date fruit (*Phoenix dactylifera*) into goat endometrial cell decidualization in vitro. This study is experimental research with adding 5 groups (0 μ M, 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M) concentration treatments of ethanol extraction of Ajwa date fruit (*Phoenix dactylifera*) and one group treatment control (10 μ M genistein) into goats endometrial cell culture DMEM 10% for 6 days incubation. Normal and homogeneous data were conducted by ANOVA One way test and BNT 5% test, but normal and not homogeneous data were conducted by Brown-Forsythe and Gomes-Howell test. Based on the result of data analysis showed that ethanol extraction of Ajwa Date Fruit (*Phoenix dactylifera*) can affect goat endometrial decidualization in vitro. The most optimal concentrations of ethanol extraction of Ajwa Date Fruit (*Phoenix dactylifera*) into the number of cell viability and (21.7 \pm 6.51) (%) and PDT (1.53 \pm 0.11) (hour) is 10 μ M.

ملاخص البحث

نوري طبيبة اصفية الفرق. 2020. تأثير إعطاء ثمر عجوة (*Phoenix dactylifera*) مستخلص Ethanol على تكاثر خلايا بطانة الرحم في الماعز في المختبر. مقال. برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية في مالانج. مستشار علم الأحياء: خليفه هوليل الماجستير. مستشار ديني: مجاهد أحمد الماجستير.

الكلمات المفتاحية: مستخلص ethanol ثمر عجوة (*Phoenix dactylifera*) ، تكاثر خلايا بطانة الرحم ، في المختبر.

يمكن أن يؤدي عدم زرع الجنين في الرحم إلى الإجهاض أو الإجهاض. أحد عوامل قوة الرحم كمكان للزرع هو توافر الهرمونات الكافية. بطانة الرحم هي بطانة الرحم التي تستجيب بشكل كبير للتغيرات الهرمونية. يعتمد نجاح الزرع على قوة الخلايا الظهارية وخلايا انسجة بطانة الرحم. تمت دراسة قدرة تكاثر خلايا بطانة الرحم بسبب تأثير الهرمونات في المختبر من خلال معرفة الجدوى (%) وقيم PDT (سعة) لخلايا بطانة الرحم المزروعة. الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير مستخلص الإيثانول من ثمر عجوة (*Phoenix dactylifera*) على تكاثر خلايا بطانة الرحم في الماعز في المختبر. كانت هذه الدراسة عبارة عن دراسة تجريبية باستخدام 5 تراكيز معالجة وهي إعطاء مستخلص ethanol من ثمر عجوة (*Phoenix dactylifera*) في وسط DMEM بتركيز $0\mu\text{M}$ و $10\mu\text{M}$ و $20\mu\text{M}$ و $30\mu\text{M}$ و $40\mu\text{M}$ و 1 معاملة ضابطة genistein $10\mu\text{M}$ على خلايا بطانة الرحم الماعز في حضانة المختبر لمدة 6 أيام. كان تصميم البحث المستخدم عبارة عن تصميم عشوائي بالكامل (RAL). إذا كانت البيانات التي تم الحصول عليها موزعة بشكل طبيعي ومتجانسة ، يتم تحليل طريقة واحدة ANOVA واختبار إضافي باستخدام اختبار BNT بنسبة 5٪. وفي الوقت نفسه ، إذا كانت البيانات طبيعية وغير متجانسة ، فقد تم تحليلها باستخدام اختبار Brown Forshyte واختبارها باستخدام اختبار Gomes-Howell. بناءً على البيانات ، أظهرت النتائج أن مستخلص ethanol من ثمر عجوة (*Phoenix dactylifera*) أثر على حيوية خلايا بطانة الرحم الماعز وقيمها PDT في المختبر. كان لتركيز مستخلص ethanol عجوة (*Phoenix dactylifera*) التأثير الأكبر على قيمة الصلاحية (6.11 ± 21.7) (%) وقيمة PDT (1.53 ± 0.11) (سعة) لخلايا بطانة الرحم الماعز في المختبر كانت $10\mu\text{M}$.

KATA PENGANTAR

Sesungguhnya tiada kebesaran dan keagungan selain milik Allah, Tuhan sekalian alam. Allah yang telah menciptakan dan mengatur segala apa yang tercipta. Sebagai manusia yang merupakan makhluk ciptaanNya, seharusnya kita dapat menjalani hidup ini dengan petunjuk yang nyata kebenarannya, yaitu al-Qur'an dan Al- Hadist.

Puji syukur Alhamdulillah kepada Allah Robbil Izzati yang telah menganugerahkan kekuatan, kesehatan, dan tuntunan kepada penulis yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) Terhadap Proliferasi Endometrium Kambing Secara *In Vitro***”. Dengan rahmat dan petunjuk Allah SWT beserta perjuangan yang maksimal dan penuh cobaan serta rintangan. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dan pengikutnya hingga akhir zaman. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M. Ag. Selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P, selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Azizatur Rahmah, M. Sc, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat kepada penulis.
5. Kholifah Holil, M. Si, selaku dosen pembimbing utama yang dengan penuh keikhlasan dan kesabaran memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.

6. Mujahidin Ahmad, M. Sc, selaku dosen pembimbing agama yang dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan dan arahan dalam skripsi ini pada kajian integrasi Sains dan al- Qur'an.
7. Dr. Kiptiyah, M. Si dan Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku dosen ketua penguji dan penguji utama yang telah memberikan saran, nasehat dan kritiknya untuk kelancaran penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh dosen, laboran, dan staf administrasi di program studi biologi yang membantu memberikan kemudahan dalam penyusunan skripsi ini.
9. Lil Hanifah, S. Si, selaku laboran Lab Kultur Jaringan Hewan yang senantiasa memberikan saran, bantuan, arahan, dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Muhamad Basyarudin, M.Si, selaku laboran yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukan yang membangun kepada penulis.
11. Ayahanda Drs. H. Achmad Junaidi, M. Pd dan ibunda Erfatih Hasanah tercinta, adik-adikku Achmad Iqbal Kafie Al Faruqi dan Nuri Safiratun Nadzifa Al Faruqi yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moril maupun spiritual sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
12. Siti Munawarah, S. Si yang telah memberikan ide penelitian dalam penulisan skripsi ini.
13. Sahabat Barokallah Luthfia Ambarwati S. Si, Nur Rohmah Tria Romadhoni, S. Si, Rhesma Sylvia Rachman, S. Si, Syafrudin, S. Si, Mukhammad Zakariya Alwi, S. Si, Muhammad Nawfal Alauddin, S. Si dan Luhur Septiadi, S. Si yang telah berjuang sama-sama dalam suka maupun duka untuk menyelesaikan pendidikan S1 Biologi.

14. Teman-teman Genentist 2015 umumnya dan teman kelas Gen D khususnya yang sama-sama berjuang dalam studi Biologi.
15. Teman-teman satu bimbingan Siti Nur Annisah, S. Si dan Naila Arum Rifqiana, S. Si, serta yang berjuang bersama dalam Lab. KJH Mbak Khalimatus Sa'diyah, S. Si dan Habibi, S. Si.
16. Keluarga besar Kontrakan FISWAN yang sudah berbagi canda, tawa, tangis dan bahagia bersama.
17. Keluarga besar Tim Soal OBi HMJ Biologi Semut Merah, UIN MALIKI Malang.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat kepada pembacanya, Amin.

Malang, 14 Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN.....	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
ملاخص البحث.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
1.6 Batasan Masalah	6
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang Kurma	7
2.1.1 Deskripsi.....	7
2.1.2 Klasifikasi.....	9
2.1.3 Morfologi	10
2.1.4 Stadium Kematangan Buah Kurma	13
2.1.5 Kurma Ajwa.....	14
2.2 Tinjauan Tentang Uterus Kambing	15
2.3 Tinjauan Tentang Endometrium	17
2.3.1. Deksripsi Endometrium	17
2.3.2. Fungsi Estrogen Terhadap Endometrium	18
2.3.3 Kultur Sel Endometrium	20
2.4 Tinjauan Tentang <i>In Vitro</i>	21
2.4.1. Pertumbuhan Sel <i>In Vitro</i>	23
2.4.2. Proliferasi Sel <i>In Vitro</i>	25
2.5 Peran Fitoestrogen Terhadap Proliferasi Sel.....	27
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1.Rancangan Penelitian	29
3.2.Variabel Penelitian.....	29
3.3.Waktu dan Tempat	29
3.4.Alat dan Bahan.....	30

3.4.1.	Alat.....	30
3.4.2.	Bahan	30
3.5.	Prosedur Kerja	30
3.5.1	Persiapan	30
3.5.1.1.	Sterilisasi Peralatan.....	30
3.5.1.2.	Sterilisasi Pelarut dan Larutan	31
3.5.1.3.	Pembuatan Media Stok.....	31
3.5.1.4.	Pembuatan Ekstrak Kurma Ajwa	32
3.5.2.	Pelaksanaan.....	32
3.5.2.1.	Pembuatan Media DMEM 10%.....	32
3.5.2.2.	Kultur Sel Endometrium	32
3.5.2.2.1.	Metode Sampling Uterus.....	32
3.5.2.2.2.	Metode Isolasi Endometriun	33
3.5.2.2.3.	Metode Kultur Sel Endometrium.....	33
3.5.3.	Pengamatan.....	34
3.5.3.2.	Viabilitas Sel.....	34
3.5.3.3.	Tingkat Proliferasi Sel	34
3.6.	Analisis Data	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap viabilitas sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i>	36
4.2	Pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap proliferasi sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i>	41
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	49
5.2	Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN.....		58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	2.1.	Bagian-bagian Kurma	12
Gambar	2.2.	Stadium Kematangan Buah Kurma.....	14
Gambar	2.3.	Sistem Reproduksi Kambing Betina	15
Gambar	2.4.	Histologi Uterus.....	16
Gambar	2.5.	Struktur Estrogen	18
Gambar	2.6.	Skema Reseptor Estrogen Dalam Endometrium Terhadap Kebuntingan	19
Gambar	2.7.	Mekanisme Kerja Yang Dipengaruhi Reseptor Estrogen	20
Gambar	2.8.	Kultur Sel Endometrium Kambing.....	21
Gambar	2.9.	Kurva Pertumbuhan Kultur Sel.....	24
Gambar	2.10.	Siklus Sel.....	26
Gambar	2.11.	Struktur Isoflavon Yang Memiliki Kemiripan Dengan Estradiol.....	27
Gambar	2.12.	Mekanisme Pengikatan Reseptor Estrogen Dengan Ligan.....	28
Gambar	4.1.	Pengamatan Kultur Sel Endometrium Menggunakan Mikroskop Inverted Pada Hari Ke 6	33

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Tabel Kandungan Fitokimia Masing-masing Organ <i>Phoenix dactylifera</i>.....	9
Tabel 4.1. Rerata pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap viabilitas (%) sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i> pada hari ke 6.....	37
Tabel 4.2. Uji ANOVA pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap viabilitas (%) sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i> pada hari ke 6.....	39
Tabel 4.3. Uji BNT (5%) pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap viabilitas (%) sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i> pada hari ke 6.....	39
Tabel 4.4. Rerata pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap PDT sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i> pada hari ke 6.....	44
Tabel 4.5 Uji Brown-Forsythe pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i> pada hari ke 6	44
Tabel 4.6. Hasil Uji lanjut Games-Howell pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (<i>Phoenix dactylifera</i>) terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara <i>in vitro</i> pada hari ke 6....	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.....	58
Lampiran 2.....	59
Lampiran 3.....	60
Lampiran 4.....	64
Lampiran 5.....	68
Lampiran 6.....	74



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keberhasilan kelahiran individu baru merupakan tujuan utama dari reproduksi. Terjadinya kelahiran individu baru diperoleh setelah melalui serangkaian proses di dalam tubuh yang saling berhubungan satu sama lain (Roupa *et al*, 2009). Tahap yang sangat penting dalam proses terjadinya kebuntingan adalah implantasi (Saraswat, 2016).

Implantasi pada mamalia merupakan proses yang melibatkan interaksi sangat dekat antara blastosit dan uterus sebagai tempat menempelnya embrio dan berkembang menjadi janin (Dey *et al*, 2004). Kegagalan sebelum terjadinya kebuntingan dapat disebabkan oleh gagalnya tahap implantasi. Kegagalan implantasi menyebabkan embrio tidak dapat menempel pada endometrium. Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya keguguran atau abortus (Helmita *et al*, 2007).

Islam telah menyinggung proses awal terjadinya dan berkembangnya individu dalam suatu tempat yang dinamakan rahim. Hal tersebut disinggung secara implisit dalam al- Qur'an surah Al-Mu'minin ayat (13):

ثُمَّ جَعَلْنَاهُ نُطْفَةً فِي قَرَارٍ مَّكِينٍ ﴿١٣﴾

Artinya: "Kemudian Kami jadikan saripati itu air mani (yang disimpan) dalam tempat yang kokoh (rahim)."

Berdasarkan Al-Mahally (2007) dalam Tafsir Jalalain, menyatakan bahwasanya *ثُمَّ جَعَلْنَاهُ* memiliki arti (*kemudian Kami jadikan ia*) manusia atau keturunan Adam dalam *نُطْفَةٍ* (*nutfah*) yakni air mani di dalam *قَرَارٍ مَّكِينٍ* memiliki arti tempat yang kokoh. Menurut Shihab (2002), kata *قَرَارٍ مَّكِينٍ* memiliki makna tempat yang kokoh dan kuat sebagai tempat terjadinya implantasi dan perkembangan embrio. Tempat kokoh yang dimaksud tersebut adalah rahim atau uterus.

Salah satu faktor kuatnya uterus sebagai tempat implantasi adalah ketersediaan hormon yang cukup. Selain itu, implantasi ditandai dengan menempelnya embrio (blastokista) pada permukaan endometrium (Dey, 2004). Saat terjadi implantasi, endometrium harus dalam keadaan kondusif untuk memungkinkan perlekatan dan pertumbuhan awal plasenta (Widayati, 2013). Menurut Haibin (2005), syarat keadaan kondusif untuk implantasi adalah bertambahnya ketebalan diameter uterus karena adanya penebalan dinding endometrium. Penebalan dinding endometrium terjadi akibat adanya proliferasi sel-sel endometrium.

Endometrium merupakan organ yang sangat responsif terhadap perubahan hormon dibandingkan dengan jaringan miometrium dan perimetrium (Fernandez, 2015). Endometrium terus mengalami pertumbuhan dan diferensiasi ketika menerima rangsangan dari hormon ovarium dalam peranannya sebagai media implantasi (Guidence, 2003). Jaringan utama penyusun endometrium yang sangat berperan penting terhadap keberhasilan implantasi adalah jaringan epitel dan jaringan stroma (Senger, 2003). Suksesnya implantasi bergantung pada penerimaan dan kesiapan jaringan epitel dan jaringan stroma endometrium (Simon *et. al*, 2000 dan Diedrich *et.al*, 2007). Saraswat (2016) menambahkan, hormon yang berperan dalam proses proliferasi endometrium yaitu hormon estrogen.

Peran hormon estrogen adalah memicu proliferasi endometrium (Iswahyuni, 2011). Hormon estrogen akan mempengaruhi sel epitel dan stroma endometrium berproliferasi sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium. Tipisnya dinding endometrium akan memperkecil terjadinya kebuntingan (Wibowo, 2015), karena turunnya konsentrasi hormon estrogen dalam darah menyebabkan tidak terjadinya penebalan endometrium (Satasiwi, 2008).

Rendahnya konsentrasi hormon estrogen bisa disebabkan oleh berbagai faktor, diantaranya kekurangan nutrisi pada makanan, adanya gangguan pada ovarium, tingkat usia, tingkat stres ataupun disebabkan oleh adanya faktor genetik (Suwartini *et al*, 2013). Estrogen mempengaruhi endometrium dengan cara berikatan dengan reseptor estrogen yang terdiri dari reseptor estrogen alfa (ER- α) dan reseptor estrogen beta (ER- β) (Silva, 2016). Apabila kadar hormon estrogen

dalam jumlah sedikit, maka peran hormon estrogen dapat digantikan oleh estrogen sintetis ataupun fitoestrogen.

Kemampuan proliferasi endometrium akibat pengaruh hormon estrogen atau fitoestrogen dapat dipelajari secara *in vitro* melalui kultur sel endometrium. Selain keberadaan hormon ataupun penggantinya, faktor-faktor yang mendukung keberhasilan proliferasi kultur sel endometrium adalah jenis substrat, ketersediaan nutrisi pada media, temperatur yang optimal, pH yang optimal dan kecukupan penyediaan oksigen (Harlystiarini, 2010). Penelitian Ananda (2019) melaporkan, dosis 100µg/g estradiol sintetis menunjukkan hasil yang terbaik dalam meningkatkan proliferasi kultur sel endometrium domba.

Penggunaan hormon estrogen sintetis dapat memberikan efek samping diantaranya yaitu *hiperplasia* dan *karsinoma* pada uterus dengan pemakaian jangka panjang (Badziat, 2003). Staar *et al.*, (2005) melaporkan, dalam penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa fitoestrogen dapat memberikan aktivitas antikarsinogenik. Oleh karena itu sebagai pengganti penggunaan estrogen sintetis adalah penggunaan estrogen dari bahan herbal yaitu fitoestrogen.

Fitoestrogen merupakan bahan alami tanaman yang memiliki struktur mirip dengan estrogen. Fitoestrogen memiliki sifat estrogenik dan anti estrogenik (Melda, 2012). Fitoestrogen berguna sebagai pengganti hormon estrogen dan memiliki aktivitas proapoptosis dan antioksidan (Saryono, 2016). Saraswat (2016) menambahkan fitoestrogen dapat digunakan dalam terapi pengaturan fertilitas.

Ada berbagai macam tanaman tumbuh di muka bumi yang berpotensi mengandung fitoestrogen. Tanaman tersebut tersedia di alam dan dapat dibudidayakan untuk dimanfaatkan. Nikmat yang diberikan Allah SWT kepada makhlukNya terdapat dalam Surah Asy-Syu'ara (7):

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya. Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?"

Menurut al-Qurthubi (2009) kata كَرِيمٌ memiliki arti baik dan mulia. Shihab (2002) menambahkan, kata كَرِيمٌ di sini memiliki makna segala sesuatu termasuk tumbuhan

yang baik dan memiliki berbagai macam manfaat. Hal ini mengarahkan manusia untuk memperhatikan aneka tumbuhan dan berbagai manfaat yang terdapat di dalamnya. Salah satu tanaman bernilai gizi tinggi yang baik adalah kurma.

Kurma (*Phoenix dactylifera*) merupakan tanaman yang memiliki nilai gizi tinggi sehingga memiliki potensi untuk dimanfaatkan di bidang kesehatan. Buah kurma merupakan bagian dari pohon kurma yang memiliki khasiat obat, ketika dikonsumsi ataupun dipadukan dengan tanaman herbal yang lainnya. Beberapa tahun terakhir banyak dilakukan penelitian farmakologis secara *in vitro* maupun *in vivo* terhadap manfaat kandungan buah kurma pada masing-masing jenis fitokimia. Salah satu fitokimia yang dapat dimanfaatkan untuk kesehatan reproduksi adalah fitoestrogen (Alawi, 2017). Menurut Thompson (2006), menyatakan bahwa genistein merupakan kandungan fitoestrogen paling tinggi dalam buah kurma. Kandungan fitoestrogen dalam 100 gram buah kurma kering paling tinggi berturut-turut adalah genistein (3,4 µg), daidzein (1,2 µg), formononetin (0,4 µg) dan glycitein (0,2 µg). Kurma memberikan pengaruh terhadap proses reproduksi pada wanita (Saryono, 2016), salah satunya dalam Mosfegh, *et al* (2016) menyatakan, buah kurma dapat meningkatkan hormon estrogen dan progesteron secara signifikan.

Buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) merupakan jenis buah kurma yang memiliki kandungan fitoestrogen. Jenis kurma ini mengandung kadar nutrisi dan kimia tertinggi dari pada kurma yang lainnya (Jaouni *et al*, 2019). Kandungan fitoestrogen pada kurma Ajwa adalah 329,5 mg per 100 gram buah kering (Husnia, 2018). Untuk mengetahui pengaruh buah kurma Ajwa terhadap sel endometrium secara langsung dapat diketahui melalui penelitian secara *in vitro*.

Secara *in vitro* pengaruh pemberian fitoestrogen kurma Ajwa terhadap tingkat proliferasi kultur sel endometrium dapat diketahui dengan menentukam nilai viabilitas dan nilai *Population Doubling Time* (PDT) terhadap sel yang dikultur (Trenggono, 2009). Hasil nilai PDT menunjukkan waktu yang diperlukan oleh populasi sel untuk menjadi dua kali lipat dari jumlah semula. Fitoestrogen mampu menjadi pengganti keberadaan hormon estrogen karena berat molekulnya

yang rendah sehingga dapat menembus membran sel dan berinteraksi dengan reseptor sel.

Proliferasi sel dapat dipengaruhi oleh suatu stimulus atau ligan. Fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor estrogen yang masih kosong dalam membran sel. Briant (2002) menambahkan fitoestrogen akan berikatan dengan reseptor hormon sel target dan mengaktifkan beberapa protein dalam sel melalui fosforilasi. Proses transduksi sinyal yang terjadi diteruskan ke dalam inti sel untuk mengaktifkan faktor transkripsi yang dilanjutkan dengan siklus sel (Cambel, 2008).

Konsentrasi ekstrak kurma Ajwa yang ditambahkan dalam penelitian ini merujuk pada hasil penelitian Sasano *et al* (2019) terkait efek fitoestrogen kedelai terhadap kultur sel *line* stroma endometrium dengan konsentrasi 0 μM , 10 μM , 20 μM , 50, 100 μM . Pada penelitian tersebut ditunjukkan bahwa konsentrasi 10 μM dapat meningkatkan proliferasi kultur sel *line* stroma endometrium secara signifikan. Namun pada konsentrasi 20 μM , 50 μM , 100 μM dapat menghambat proliferasi sel *line* stroma endometrium. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh fitoestrogen terhadap proliferasi sel bergantung pada konsentrasi tertentu. Selain itu kandungan fitoestrogen kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan fitoestrogen kurma. Berdasarkan hal tersebut untuk menemukan konsentrasi yang tepat, maka dalam penelitian ini memodifikasi konsentrasi menjadi 0 μM , 10 μM , 20 μM , 30 μM dan 40 μM .

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap viabilitas sel endometrium kambing secara *in vitro*?
2. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap viabilitas sel endometrium kambing secara *in vitro*.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap proliferasi kultur sel endometrium kambing secara *in vitro*.
2. Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap proliferasi kultur sel endometrium kambing secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Secara teoritis, penelitian ini mampu memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) terhadap proliferasi kultur sel endometrium kambing secara *in vitro*.
2. Secara aplikatif, dapat memberikan informasi bagi bidang kesehatan dan masyarakat mengenai pengaruh fitoestrogen ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) sebagai obat untuk masalah reproduksi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Uterus kambing dalam fase anestrus diperoleh dari Rumah Pemotongan Hewan Kota Malang.

2. Sampel yang digunakan adalah sel endometrium yang diisolasi dari uterus kambing yang diinkubasi dalam DMEM 10% FBS (*Fetal Bovine Serum*) selama 6 hari dengan 5% CO₂ pada suhu 37⁰C.
3. Kurma yang digunakan adalah kurma varitas Ajwa pada stadium kimri, berwarna hijau, dan diperoleh dari Wisata Kebun Kurma, Pasuruan.
4. Ekstrak kurma yang digunakan menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi.
5. Konsentrasi ekstrak kurma Ajwa (*Phoenix dactilyfera*) yang ditambahkan dalam media adalah 0 µM, 10 µM, 20 µM, 30 µM dan 40 µM.
6. Parameter yang diamati adalah viabilitas dan proliferasi (berdasarkan nilai *Population Doubling Time* (PDT)) kultur sel endometrium kambing.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Kurma

2.1.1 Deskripsi

Kurma adalah tanaman yang berasal dari daerah Timur Tengah dan merupakan tanaman berbuah yang tertua di wilayah Arab Saudi (Sakr, 2010). Tanaman ini juga dianggap sebagai makanan pokok di kawasan Asia Barat Daya dan Afrika Utara. Meskipun demikian, sebenarnya tanaman kurma juga dapat tumbuh di Australia, Meksiko, Amerika Selatan, Afrika Selatan, Amerika Serikat terutama di California, Arizona dan Texas (Alawi, 2017).

Pohon kurma termasuk dalam Famili *Arecaceae* yang dapat tumbuh di wilayah tropis maupun subtropis (Sidiq *et al.*, 2013; Eoin, 2016). Kurma memiliki nama latin *Phoenix dactylifera* yang berasal dari bahasa Yunani. “*Phoenix*” memiliki arti buah ungu atau merah, sedangkan “*dactylifera*” berasal dari dua kata yaitu “*dactylus*” yang berarti jari dan “*ferous*” yang berarti bantalan (Ashrafan dan Esfahami, 2011).

Kurma memiliki lebih dari 1500 varietas di dunia. Beberapa varietas yang umum diketahui diantaranya adalah Ajwa, Abel, Al-Khunaizi, Barakwi, Bireir, Dabbas, Empress, Khalas, Khodri, Ruthana, Sukkary, Sefri, Segae, Munifi, Hilali, Barhi, Dyri, Degletnoor, Khadrawy, Medjool, Thoory, Zahidi, Assel, Dhakki, Hallavi, Dora, Ruchdi, Fitmi dan Kentichi (Deshpande, 2017). Masing-masing varietas memiliki kadar kandungan kimia dan nutrisi yang berbeda.

Kandungan nutrisi yang umum ditemukan dalam berbagai varietas kurma dapat diketahui baik dalam bentuk makronutrien maupun mikronutrien (Mallhi, 2014). Buah kurma kering per 100 gram mengandung 280 kkal energi, 75 gram karbohidrat, 63 gram gula, 8 gram serat, lemak 0,4 mg/dl, protein 2,5 gram, vitamin C 0,4 mg 1% (USDA Nutrient Database). Al Farsi *et al.* (2007) menambahkan, nutrisi yang terkandung dalam kurma diantaranya vitamin A, B1 dan B2. Kandungan nutrisi lainnya terdapat mineral, vitamin, karbohidrat, senyawa fenolik, antioksidan dan serat.

Fitokimia kurma banyak terkandung pada buahnya. Al-Daihan dan Baht (2012) melakukan penelitian tentang perbandingan analisis fitokimia pada organ tumbuhan kurma (*Phoenix dactylifera*) yang ditunjukkan dalam tabel berikut:

Tabel. 2.1. Tabel Kandungan fitokimia pada masing-masing organ (*Phoenix dactylifera*) (Al-Daihan dan Baht, 2012).

	Karbohidrat	Alkaloids	Steroids	Saponins	Flavonoids	Tannins
Daun	√	√	√	-	-	√
Buah	√	√	√	√	√	√
Biji	√	√	√	-	-	-
Batang	√	√	-	-	√	√

Keterangan: √: ada, -: tidak ada

Allah SWT menyebut buah kurma dalam al-Qur'an melebihi buah-buahan yang lain. Dalam Kitab *Mu'jam Al-Mufashir li Al-Fazhil Qur'an*, dijelaskan bahwa kurma disebutkan sebanyak 20 kali dalam 16 surah. Surah yang dimaksud adalah Surah Ar-Rahman ayat 11 dan 68, Surah Qaf ayat 10, Surah Yasin ayat 34, Surah As-Syu'ara ayat 148, Surah Ar-Ra'd ayat 4, Surah Maryam ayat 23 dan 25, Surah Al-Baqarah ayat 266, Surah Al-An'am ayat 99 dan 141, Surah An-Nahl ayat 11 dan 67, Surah Al-Isra' ayat 91, Surah Al-Kahf ayat 32, Surah Taha ayat 71, Surah Al-Mu'minin ayat 19, Surah Al-Qamar ayat 20, Surah Al-Haqqah ayat 7 dan Surah 'Abasa ayat 20 (Ahmad, 2013).

Berdasarkan hal tersebut, salah satu firman Allah tentang buah kurma dalam surah An-Nahl ayat (67):

وَمِنْ ثَمَرَاتِ النَّخِيلِ وَالْأَعْنَابِ تَتَّخِذُونَ مِنْهُ سَكَرًا وَرِزْقًا حَسَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً

لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٦٧﴾

Artinya: "Dan dari buah korma dan anggur, kamu buat minuman yang memabukkan dan rezeki yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang memikirkan."

Menurut dalam Tafsir Jalalain (2007), menyatakan bahwa kata *الْخَيْلِ* memiliki arti (*kurma*), *سَكْرًا* bermakna minuman yang memabukkankata dan *رِزْقًا* *حَسَنًا* memiliki arti (rizki yang baik). Kata *سَكْرًا* yang dimaksud adalah khamar yang dapat memabukkan. Hal ini diturunkan sebelum adanya perintah mengharamkan khamar. Ash-Shiddieqy (2000) menambahkan, yang dimaksud dengan rizki yang baik adalah yang dihalalkan dari buah tersebut dan segala yang telah diolah dari buah tersebut baik berupa manisan, cuka, maupun minuman perasan.

Perasan buah kurma telah banyak diketahui memiliki manfaat bagi kesehatan baik dikonsumsi secara langsung ataupun dikombinasikan dengan tanaman herbal yang lain. Penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* telah banyak dilakukan untuk menguji kandungan fitokimia kurma dan manfaatnya (Chao dan Kruger, 2007). Berbagai manfaat kurma diantaranya sebagai penurun kolesterol, mengobati penyakit kardiovaskuler dan kompresi kanker. Faradina (2018) menambahkan manfaat kurma yang lainnya adalah sebagai antinflamasi, antioksidan, anti-karsinogenik, mengobati anemia, sembelit, pencegah diabetes, hepatoprotektif, pengobatan infertilitas, memperlancar persalinan dan agen fitoestrogen. Menurut Thompson (2006) dalam Alawi (2017), menyatakan bahwa kandungan fitoestrogen dalam kurma Ajwa terdiri dari genistein, formononetin, daidzein, glycitein, matairecinol, lariciresinol, pinoresinol, secosolaricitesinol dan coumestrol.

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi kurma (*Phoenix dactylifera*) dalam ITIS (2010) adalah berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Superdivisi : Embriophyta
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Liliae
Ordo : Arecales
Famili : Arecaceae
Genus : Phoenix
Spesies : *Phoenix dactylifera*

2.1.3 Morfologi

Pohon kurma dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 25-30 meter. Pohon kurma dapat tumbuh dalam bentuk tumbuhan tunggal (Gambar 2.1. A) atau membentuk rumpun yang terdiri dari beberapa batang dalam satu perakaran (Lobo *et al.*, 2014). Akar pohon kurma memiliki sistem perakaran fasikulata yang panjangnya bisa mencapai 4 hingga 10 meter sehingga mampu mencapai kedalaman untuk sumber daya air (Zaid dan de Wet, 2002). Batang pohon kurma atau *stipe* berbentuk vertikal silinder tunggal yang ditutupi oleh serat pangkal daun yang berfungsi untuk menyimpan cadangan air serta melindungi dari insekta ataupun hewan herbivora (Zaid dan De Wet, 2002). Air dan nutrisi ditranslokasi melalui jaringan vaskular yang tersusun dari bundel vaskular yang tertumpuk rapat.



Gambar 2.1. A. Pohon kurma (Rahmani *et al.*, 2014), B. Cabang buah kurma (Lobo *et al.*, 2014), C. Bagian-bagian buah kurma (Ghnimi *et al.*, 2016).

Batang tumbuh secara vertikal di kuncup terminal dan lateral melalui kambium fasikular (Lobo *et al.*, 2014). Daun pohon kurma disebut juga dengan “*fronds*”. Menurut Uhl dan Dransfeld (1987) dalam Lobo *et al.* (2014), daunnya memiliki panjang 4-6 meter dan lebar 0,5 meter di pelepah tengah yang menyempit menuju kedua ujung daun, dengan duri pada tangkai daun, berbentuk menyirip, dan secara spiral diatur di sekitar batang. Jumlah daun yang tumbuh setiap tahunnya bervariasi, sekitar 10-26. Satu pohon dewasa mampu memiliki 100 hingga 125 anak daun, dan yang aktif dalam proses fotosintesis hanya 50% jumlah daun. Masing-masing daun terdiri dari 150 lembar anak daun yang panjangnya 30 cm dan lebar 2 cm. Daun tidak bisa gugur kecuali dengan dipangkas secara manual.

Buah kurma memiliki biji tunggal yang dilindungi oleh perkamen halus (endokarp), mesokarp yang berbulu dan kulit buah (perikarp) (Gambar 2. 1. C). Masing-masing daerah atau wilayah memiliki karakteristik buah kurma yang berbeda-beda, baik dalam karakteristik organoleptik, fisik dan kandungan kimianya (Al-Qarawi *et al.*, 2004). Bentuk umum dari buah kurma adalah lonjong dan beberapa diantaranya mencapai bentuk bulat. Pohon kurma mulai berbuah pada rentan usia 5 tahun dengan produksi buah pertahun mencapai 400-600 kg dan akan terus berproduksi hingga 60 tahun (Alawi, 2017).

2.1.4 Stadium Kematangan Buah Kurma

Kematangan buah kurma dibagi menjadi 5 stadium (Gambar. 2.2). Stadium kematangan kurma menurut Shahib (2003):

a. Stadium Hababouk

Tahap ini dimulai setelah terjadinya fertilisasi dan berlangsung selama 4 hingga 5 minggu yang ditandai dengan hilangnya dua karpel yang tidak dibuahi. Pada tahap ini buah kurma masih tertutupi oleh kelopak daun dan masih akan terus berkembang hingga menjadi warna hijau.

b. Stadium Kimri

Tahap ini biasanya disebut *green stage* yang ditandai dengan perubahan warna yang berlangsung cepat dari hijau menjadi suatu warna karakteristik selama stadium khalal. Buah kurma pada tahap ini memiliki tekstur yang masih keras dan mengandung sejumlah substansi tannin yang larut air.

c. Stadium Khalal

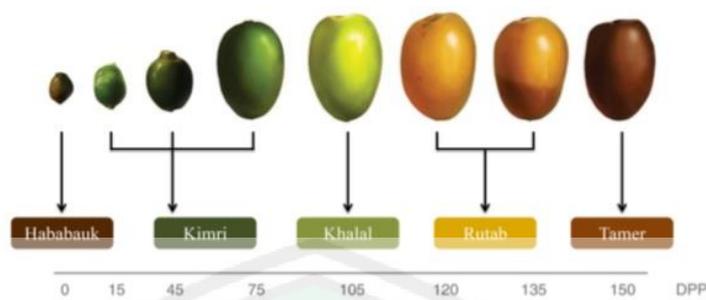
Buah kurma pada tahap ini secara fisiologis mulai matang namun daging buah masih keras. Buah secara penuh mengalami perubahan warna dari hijau menjadi hijau kekuningan, kuning, merah muda, hingga merah. Warna biji kurma berubah dari putih menjadi coklat.

d. Stadium Ruthab

Buah kurma pada tahap ini mengalami pematangan dengan berubah warna menjadi coklat atau hitam. Buah kurma menjadi lebih lembut dan mengandung lebih banyak soluble tannin. Kandungan air mencapai sekitar 43%. Buah tidak lagi keras dan warnanya cenderung lebih tua.

e. Stadium Tamr

Buah kurma pada tahap ini kadar air rata-rata adalah 24%, sebab buah kurma mengandung padatan maksimal dan kehilangan cukup banyak air sehingga mengandung kadar gula yang cukup tinggi. Pada tahap ini buah kurma sepenuhnya matang dan berwarna coklat kusam atau hampir hitam.



Gambar 2.2. Stadium kematangan buah kurma Ajwa (Alawi, 2017)

2.1.5 Kurma Ajwa

Kurma Ajwa merupakan salah satu jenis varietas kurma yang berwarna coklat gelap apabila matang. Kurma Ajwa umumnya tumbuh di wilayah Madinah, Saudi Arabia. Jenis kurma ini mengandung kadar nutrisi dan kimia tertinggi dari pada kurma yang lainnya (Jaouni *et al*, 2019). Keistimewaan kurma Ajwa diriwayatkan dalam kitab *Shahih al-Bukhari* yang isinya adalah berikut,

حَدَّثَنَا جُمُعَةُ بْنُ عَبْدِ اللَّهِ حَدَّثَنَا مَرْوَانُ أَحْبَرَنَا هَاشِمُ بْنُ هَاشِمٍ أَحْبَرَنَا عَامِرُ بْنُ سَعْدٍ عَنْ أَبِيهِ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَنْ تَصَبَّحَ كُلَّ يَوْمٍ سَبْعَ تَمْرَاتٍ عَجْوَةٍ لَمْ يَضُرَّهُ فِي ذَلِكَ الْيَوْمِ سُمٌّ وَلَا سِحْرٌ
(رواه البخاري)

Telah menceritakan kepada kami Juma'ah bin Abdillah, telah menceritakan kepada kami Marwan, telah mengabarkan kepada kami Hasyim bin Hasyim, telah mengabarkan kepada kami Amir bin Said dari bapaknya (Said bin Abi Waqash) dia berkata, aku mendengar Rasulullah Saw bersabda "Barangsiapa mengkonsumsi tujuh butir Kurma Ajwa pada pagi hari, maka pada hari itu ia tidak akan terkena racun maupun sihir" (HR Al-Bukhori).

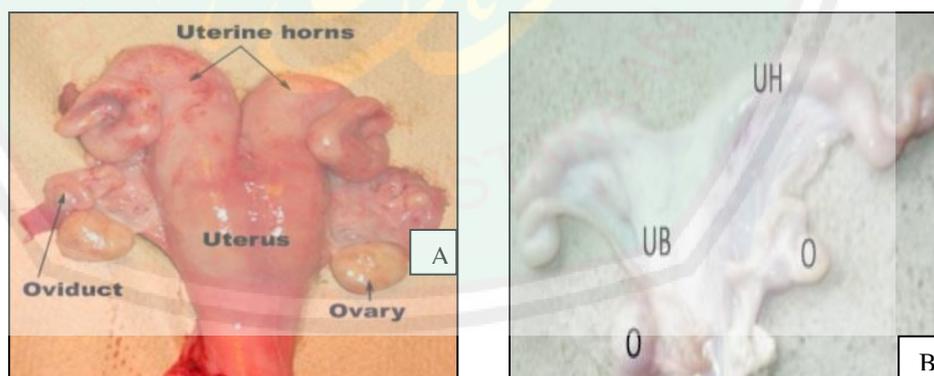
Kurma Ajwa adalah varietas kurma yang memiliki total senyawa fenolik tertinggi (22,11 mg/ 100 g DW), lalu diikuti oleh Nbt Saif (22 mg/ 100 g DW) dan Khla Al Qassim (10,47 mg/ 100 g DW) (Hariadi, 2010). Dalam Khalid *et al*. (2017) dijelaskan bahwa, kandungan fenolik pada kurma Ajwa yaitu sekitar 10 mg/100 g– 290 mg/100 g tergantung pada stadium kematangan buah. Total fenolik tertinggi terjadi pada stadium kimri (290 mg/ 100 g), kemudian khalal (150 mg/ 100 g), ruthab (20 mg/ 100 g) dan tamr (10 mg/ 100 g). Kandungan fitoestrogen pada kurma Ajwa adalah 329,5 mg per 100 gram buah kurma (Husnia, 2018).

2.2 Tinjauan Tentang Uterus Kambing

Uterus merupakan bagian dari saluran reproduksi betina yang mempunyai dinding tebal. Uterus memiliki bentuk morfologi mirip buah alpukat yang kecil dengan panjang 7 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2-3 cm. Umumnya, setiap spesies memiliki uterus yang terdiri atas dua bagian utama, yaitu bagian atas yang melebar disebut badan rahim (corpus uteri) dan bagian bawah yang berbentuk silinder disebut leher rahim (cervix uteri) (Ahwani, 2012).

Jenis uterus pada mamalia terdiri dari empat macam yaitu uterus dupleks, uterus bikornis, uterus bipartitus, dan uterus simpleks. Uterus kambing memiliki tipe uterus bipartitus, dikarenakan ujung distal dan kedua cornus berfungsi sehingga menampilkan bentuk corpus yang cukup besar. Uterus bipartitus memiliki septum yang memisahkan kedua cornua uteri dan corpus uteri besar.

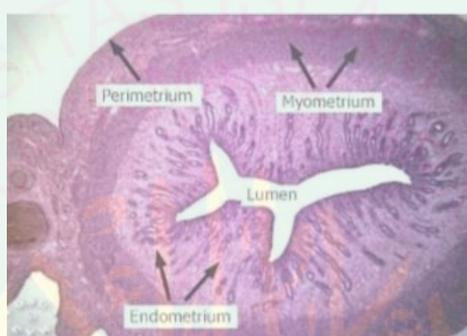
Uterus adalah organ reproduksi betina yang halus dan berotot memiliki fungsi untuk menerima dan tempat berkembangnya ovum yang sudah dibuahi. Uterus pada kambing bunting akan tampak lebih besar dibandingkan dengan uterus normal seiring pertumbuhan janin dan meningkatnya volume cairan yang terkait. Nilai biometrik tanduk uterus akan meningkat bersamaan dengan meningkatnya fase kebuntingan dibandingkan dengan uterus normal (Gambar 2.3) (Jaji *et al.*, 2012).



Keterangan : UH; *uterine horns* (tanduk uterus), UB; *uterine body* (uterus), O; *ovary* (ovarium)

Gambar 2.3. A. Sistem reproduksi kambing betina bunting (Waseh, 2016), B. Sistem reproduksi kambing betina normal (Jaji, *et al.*, 2012)

Jaringan perimetrium merupakan jaringan terluar dari uterus. Dinding uterus terdiri dari 3 jaringan, yaitu endometrium atau dinding rahim, miometrium atau tunika muskularis dan perimetrium tunika serosa (gambar 2.4) (Cavalcanto, 2007). Endometrium tersusun atas sel epitel berlendir dan memiliki pembuluh darah. Miometrium adalah jaringan yang terletak setelah endometrium yang terdiri dari urat daging licin melingkar kuat (sirkuler) disebelah dalam dan memanjang (longitudinal) di sebelah luar. Jaringan vaskular merupakan jaringan yang banyak memiliki pembuluh darah dan kapiler, terletak di antara miometrium dan endometrium (Hardjoprajanto, 1995).



Gambar. 2.4. Histologi Uterus (Cavalcanto, 2007)

2.3 Tinjauan tentang Endometrium

2.3.1. Deskripsi Endometrium

Endometrium adalah lapisan terdalam pada uterus sebagai tempat menempelnya embrio pada saat terjadinya kebuntingan. Awal terjadinya kebuntingan ditandai dengan menempelnya embrio (blastokista) pada permukaan endometrium (Dey, 2004). Sebagai tempat menempelnya embrio, endometrium tersusun atas pembuluh darah dan selaput lendir yang mengandung kelenjar (Agarwal, 2005). Dalam Ananda (2019) dijelaskan, endometrium terus mengalami pertumbuhan dan diferensiasi ketika merespon hormon ovarium dalam perannya sebagai media implantasi blastosis dan meregenerasi jaringan endometrium untuk kembali bersiklus apabila tidak terjadi implantasi. Kesiapan implantasi dipengaruhi oleh kemampuan penerimaan dan kesiapan jaringan epitel dan jaringan stroma endometrium.

Endometrium memiliki 3 komponen, yaitu epitel kolumnar simpleks bersilia dan bergoblet, kelenjar uterus yang merupakan invaginasi dari epitel

luminal kemudian meluas hampir ke miometrium, dan stroma endometrium. Lapisan endometrium terbentuk dari 2 lapisan yang terdiri dari stratum spongiosum dan stratum basale. Stratum spongiosum merupakan lapisan fungsional yang melapisi rongga uterus dan akan meluruh ketika menstruasi. Stratum basale merupakan lapisan permanen yang membentuk lapisan fungsional baru setelah terjadinya menstruasi (Liyanda, 2017). Stratum spongiosum sangat responsif terhadap hormon yang dapat dinilai dari ukuran dan distribusi kelenjarnya. Stratum spongiosum saat dalam keadaan normal tersusun beraturan dan tegak lurus terhadap struktur basale, sedangkan saat fase sekresi tampak lapisan stratum kompakum yang tipis di bawah epitel permukaan dengan stroma padat dan kelenjarnya yang lurus, kelenjar ini akan berkelok-kelok saat berfungsi. Lapisan yang kedua adalah stratum basale yang kurang respon terhadap hormon, berfungsi pada waktu regenerasi (Kurman dan Mazur, 2005).

Sel-sel penyusun endometrium terdiri dari sel epitel dan lamina propria yang mengandung kelenjar tubular sederhana yang bercabang pada bagian dalamnya. Lapisan bagian dalam endometrium dilapisi epitel selapis kolumnar dan jaringan ikat yang tebal di stroma endometrium. Senger (2003) menambahkan dua jaringan utama penyusun endometrium dalam menjalankan fungsinya, yaitu jaringan epitel dan jaringan stroma. Sel-sel epitelnya adalah selapis toraks dan bercampur dengan sel-sel bersilia dan sel sekretoris (Nurchahyo, 2010).

Endometrium akan meluruh jika tidak terjadi pembuahan dan akan menebal pada saat terjadi ovulasi (Marimbi, 2010). Dellman dan Brown (1992) menambahkan, penebalan dinding endometrium pada mamalia dikenal dengan kranakula. Kranakula banyak mengandung fibroblast dan vasikularis yang ekstensif. Endometrium memiliki peran untuk mempersiapkan proses nidasi serta menjaga plasenta (Yatim, 1995).

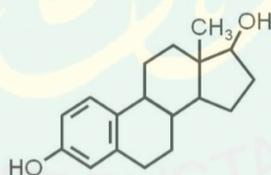
Implantasi ditandai dengan menempelnya embrio (blastokista) pada permukaan endometrium (Dey, 2004). Saat terjadi implantasi, endometrium harus dalam keadaan kondusif untuk memungkinkan perlekatan dan pertumbuhan awal plasenta (Widayati, 2013). Menurut Haibin (2005), syarat keadaan kondusif untuk implantasi adalah bertambahnya ketebalan diameter uterus karena adanya

penebalan dinding endometrium. Penebalan dinding endometrium terjadi akibat adanya proliferasi sel-sel endometrium.

Proliferasi endometrium dapat dipicu oleh keberadaan hormon estrogen (Iswahyuni, 2011). Hormon estrogen akan mempengaruhi sel epitel dan stroma endometrium berproliferasi sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium. Tipisnya dinding endometrium akan memperkecil terjadinya kebuntingan (Wibowo, 2015), karena turunnya konsentrasi hormon estrogen dalam darah menyebabkan tidak terjadinya penebalan endometrium (Satasiwi, 2008).

2.3.2. Fungsi Estrogen Pada Endometrium

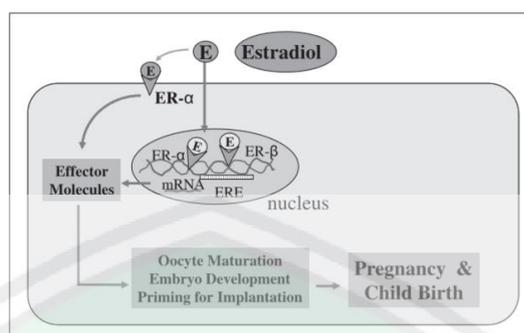
Estrogen merupakan hormon steroid dengan 10 atom C dan dibentuk terutama dari 17-ketosteroid androstendion. Estradiol dianggap sebagai estrogen yang utama, karena memiliki potensi 12 kali lebih tinggi dibandingkan estron dan 8 kali lebih tinggi dibandingkan estriol (Speroff, 2005). Dalam Hikmah (2014), estrogen memiliki struktur kimia yang secara umum terdiri dari gelang A yang inti steroidnya selalu tidak jenuh, pada atom karbon nomor 1-2, 3-4 dan pada atom karbon nomor 5-10 terdapat ikatan rangkap, dan terdapat gugus OH pada karbon nomor 3.



Gambar 2.5. Struktur Estrogen (Ramamurthy, 2015)

Fungsi estrogen pada uterus terutama pada endometrium adalah memicu proliferasi dan memperkuat kontraksi uterus (Gambar 2.5) (Iswahyuni, 2011). Estrogen di dalam endometrium dilepaskan ke dalam darah oleh folikel ovarium yang sedang tumbuh untuk merangsang perbaikan endometrium. Sel-sel dari stratum basalis mengalami mitosis dan menghasilkan stratum fungsional yang baru. Setelah itu endometrium menebal, kelenjar uterina yang lurus akan

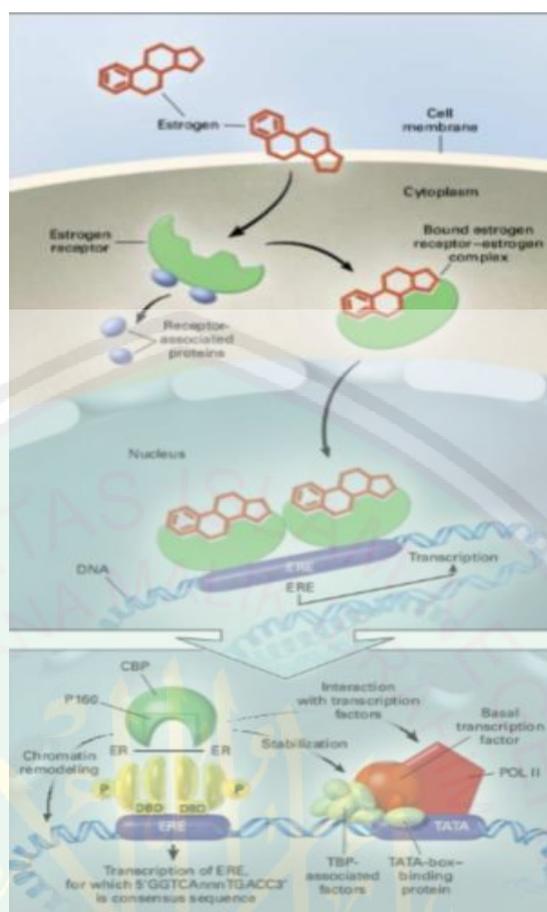
mengembang dan arteri spiralis akan menembus stratum fungsional karena pengaruh hormon estrogen (Liyanda, 2017).



Gambar 2.6. Skema reseptor estrogen dalam endometrium terhadap kebuntingan (Rosseli dan R. K. Dubey, 2006)

Mekanisme kerja hormon estrogen dipengaruhi oleh reseptor estrogen. Jaringan target dipengaruhi oleh molekul estrogen yang berikatan dengan reseptor estrogen. Gen reseptor hormon estrogen adalah RE- α , dan ditemukan jenis reseptor estrogen lain yaitu RE- β pada kromosom yang berbeda di tahun 1996 (Liu, 2005).

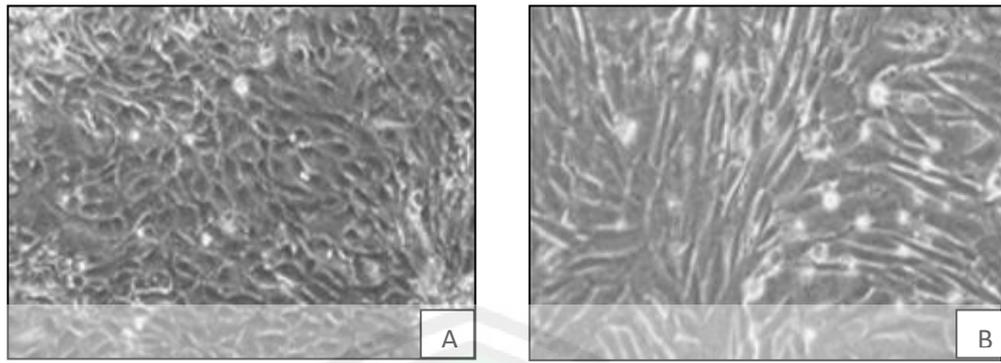
Estrogen yang menempel pada reseptornya akan mengaktifkan fungsi kerjanya terhadap organ reproduksi (Gambar 2. 7). Gen reseptor akan mengkode protein sebagai ligan. Ligan akan mengaktivasi faktor transkripsi beberapa domain penting untuk berikatan dengan hormon. Protein dihasilkan dalam nukleus, sehingga ketika estrogen menembus membran sel mampu berikatan dengan reseptor kemudian menginisiasi terjadinya transkripsi dan translasi yang menghasilkan protein pengkode proliferasi untuk memulai proses proliferasi sel (Gruber, 2002).



Gambar 2.7. Mekanisme kerja yang dipengaruhi reseptor estrogen (Gruber, 2002)

2.3.3. Kultur Sel Endometrium

Endometrium merupakan salah satu lapisan pada uterus yang terus mengalami pertumbuhan dan diferensiasi sebagai rangsangan dari hormon ovarium. Endometrium mengalami berbagai perubahan berupa proliferasi dan apoptosis sesuai dengan siklus reproduksinya (Senger, 2003). Du *et al.* (2009) menambahkan bahwa sel yang berasal dari endometrium merupakan sel yang paling dinamis karena diperbarui setiap bulannya setiap siklus dan terdiri dari sel epitel kelenjar dan stroma. Secara umum, regulasi endometrium pada hewan dan manusia cenderung memiliki kesamaan dalam merespon hormon steroid (Janzen *et al.*, 2003). Kemampuan ini dapat dimanfaatkan untuk mengetahui mekanisme seluler regulasi hormon terhadap endometrium melalui kultur sel atau secara *in vitro*. Pada kultur sel endometrium kambing atau domba tampak seperti koloni berbentuk fibroblast (Ananda, 2019).



Gambar. 2.8. A. Kultur sel epitel endometrium kambing, B. Kultur sel stroma endometrium kambing (Qin *et al.*, 2015).

Suatu stimulus dapat mempengaruhi proliferasi sel endometrium. Stimulus dapat berupa penambahan *growth factor*, hormon estradiol, progesteron maupun fitoestrogen (Islam *et al.*, 2016; Ananda, 2019). Kultur sel primer endometrium mencapai konfluen setelah 96 jam atau 4 hari inkubasi. Sasano *et al.*, (2019), melakukan suatu penelitian tentang pengaruh fitoestrogen terhadap proliferasi endometrium dan diketahui waktu optimum yang dibutuhkan adalah 72-96 jam. Masing-masing jenis sel kultur membutuhkan waktu yang berbeda untuk berproliferasi. Menurut Ghobadi *et.al* (2018), waktu yang diperlukan untuk proliferasi kultur sel endometrium adalah 21 jam hingga 45 jam. Sedangkan menurut Jividen (2014) kultur sel endometrium dapat dilakukan selama 0-16 hari. Selain waktu yang optimum, faktor yang mempengaruhi proliferasi kultur sel endometrium adalah ketersediaan nutrisi pada media yang sesuai dan antibiotik yang dibutuhkan sebagai pertahanan bagi pertumbuhan sel.

2.4 Tinjauan Tentang *In Vitro*

Kultur sel (*in vitro*) hewan adalah teknik yang banyak digunakan untuk mengisolasi sel, jaringan dan organ dari hewan dan menumbuhkannya dalam lingkungan buatan. Istilah kultur, menunjukkan teknik mempertahankan hidup sel dalam media yang sesuai dengan kondisi aslinya (Oyeleye, *et. al*, 2016). Menurut Merten (2006), jenis-jenis jaringan yang dapat tumbuh dalam media kultur meliputi jaringan ikat, jaringan fibroblas, jaringan epitel dan berbagai jenis sel tumor.

Kultur sel (*in vitro*) telah terbukti menjadi metode yang paling baik digunakan untuk mempelajari mekanisme dan fungsi berbagai sel. Sejumlah sel dapat dibiakkan dalam jumlah besar untuk mempelajari aktifitas selulernya berupa diferensiasi dan proliferasinya. Penerapan kultur sel hewan digunakan untuk penelitian kanker, pembuatan vaksin, produksi protein rekombinan, pemilihan dan perbaikan obat, terapi gen, terapi sel punca dan teknologi fertilisasi *in vitro* (Oyeleye, *et. al*, 2016).

Mekanisme menumbuhkan jaringan organisme di luar tubuh, ditumbuhkan dalam kondisi media kultur yang sesuai. Kondisi media kultur yang sesuai mengandung nutrisi yang baik dalam bentuk padat maupun bentuk cair. Faktor nutrisi seperti serum, hormon dan lainnya dapat ditambahkan ke media kultur untuk mendukung pertumbuhan, diferensiasi dan proliferasi sel. Kondisi lingkungan dalam kultur dibentuk dengan pengaturan pH, suhu, O₂, tekanan osmosis, substrat melekatnya sel, proteksi terhadap toksik dan faktor pertumbuhan. Dalam media pertumbuhan sel hewan, nutrisi pada media harus terpenuhi dari luar sel karena sel hewan tidak mampu mensintesis nutrisi sendiri. Kebutuhan nutrisi sel dapat diberikan melalui media kultur yang cocok untuk pertumbuhannya. Jika media yang digunakan tidak sesuai dengan jenis sel yang dikultur, maka sel akan autolisis. Selain itu, antibiotik dibutuhkan sebagai pertahanan bagi pertumbuhan sel (Oyeleye, *et. al*, 2016).

Media kultur sel yang dapat digunakan terdiri dari banyak jenis, diantaranya *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM), *Minimal Essential Medium* (MEM), *Basal Medium Eagle's* (BME), *Park Memorial Institute* (RPMI), Ham medium dan *Rosewell* (Yao, 2017). Media kultur yang banyak digunakan untuk menumbuhkan sel kultur adalah DMEM yang ditambahkan serum 10% (Potter dan DeMerse 2001). Salah satu serum yang umum digunakan adalah *Fetal Bovine Serum* (FBS) yang berfungsi sebagai faktor pertumbuhan, faktor hormonal, faktor perlekatan dan penyebaran sel (Malole, 1990).

Suhu yang ideal untuk kultur sel hewan disesuaikan dengan suhu tubuh hewan tersebut. Pada kultur sel hewan mamalia suhu yang ideal adalah 37⁰C. pH yang baik adalah pH yang tidak kurang dari 7.0 Kestabilan pH dapat dijaga dengan penambahan NaHCO₃ dalam media kultur dan diinkubasi dengan 5%

karbondioksida. Media kultur sebaiknya dihindarkan dari pembentukan busa yang dapat menyebabkan adanya resiko kontaminasi dan denaturasi protein (Freshney, 2005).

Parameter yang digunakan untuk menentukan keberhasilan sel yang dikultur adalah menghitung nilai viabilitas sel. Nilai viabilitas dapat dijadikan acuan sebagai penanda sitotoksitas suatu material. Salah satu indikasi sitotoksitas suatu bahan adalah adanya penurunan viabilitas sel dan proliferasi sel kultur (Trenggono, 2009; Freshney, 2005).

Identifikasi sel dilakukan dengan menambahkan pewarna *Trypan blue*. Sel yang normal atau hidup menunjukkan warna bening karena membran sel tidak mengikat zat warna biru, sedangkan sel yang rusak atau mati akan menunjukkan warna biru karena mengikat zat warna (Trenggono, 2009). Hasil perhitungan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati kemudian dihitung untuk mengetahui persentase viabilitas sel menggunakan rumus %viabilitas sel dalam Kalajanti (2006) sebagai berikut:

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{Jumlah sel yang hidup}}{\text{jumlah sel yang dihitung}} \times 100\%$$

Nilai viabilitas sel yang tinggi menunjukkan kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang dengan baik. Semakin banyak jumlah sel yang hidup maka potensi sel untuk tumbuh dan berkembang semakin tinggi. Salah satu faktor penting yang mengatur perkembangan sel adalah proliferasi sel (Takeuchi, 2014).

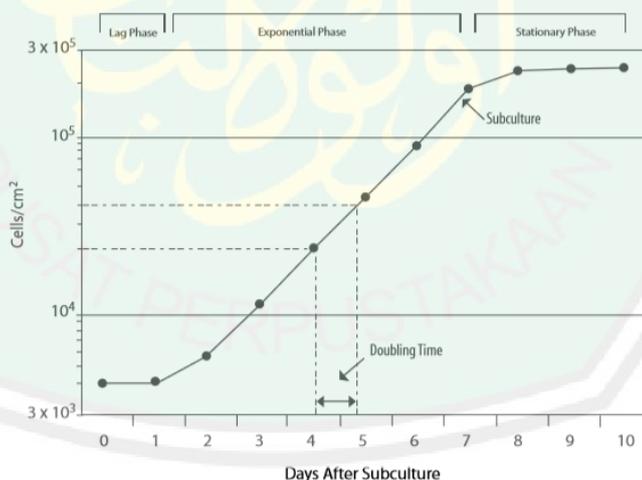
2.4.1. Pertumbuhan sel *in vitro*

Pertumbuhan sel secara *in vitro* dibagi menjadi tiga fase yaitu fase *lag*, fase *log* dan fase *plateu* (Gambar 2. 9) (Djuwita, 2002). Fase *lag* merupakan fase adaptasi sel dengan lingkungannya ditandai dengan perlekatan dan penyebaran sel pada substrat tanpa peningkatan jumlah sel (Butler, 2004). Pada fase ini konsentrasi sel sama atau hampir sama dengan konsentrasi pada waktu subkultur (10^4 sel/ml), enzim polimerase meningkat, diikuti dengan sintesis DNA dan protein subkultural baru (Budianto, 2002).

Fase *log* ditandai dengan adanya peningkatan sel secara eksponensial, ditandai dengan terjadi pertumbuhan sel mencapai konfluen. Fraksi pertumbuhan

pada fase ini mencapai 90%-100%. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai konfluen tergantung pada konsentrasi awal saat dilakukan *seeding*, kepekatan dan kemampuan kecepatan pertumbuhan sel. Proliferasi sel akan terhenti setelah 1 atau 2 siklus berikutnya. Freshney (2005) menyebutkan, fase log adalah keadaan dalam kultur sel yang sangat produktif, karena populasi sel sangat seragam dan viabilitas tinggi sehingga pada fase ini merupakan waktu optimal untuk dilakukan *sampling*.

Fase pleteu ditandai dengan adanya konfluen sel yang dikultur, diketahui dengan permukaan substrat yang terpenuhi oleh interkasi sel dan lingkungannya (Djuwita, 2002). Pada tahap ini fraksi pertumbuhan akan turun mencapai 0%-10% dan mencapai tahap stationari. Sel yang mencapai konfluen, kecepatan pertumbuhan sel akan berkurang. Pada beberapa kasus, proliferasi sel akan terhenti setelah 1-2 siklus, namun beberapa sel dapat melakukan diferensiasi untuk tetap mempertahankan viabilitasnya. Pada fase ini sel tetap dapat disubkultur, namun lebih baik untuk melakukan subkultur sebelum fase pleteu karena fraksi pertumbuhan akan menjadi lebih tinggi (Djuwita, 2002; Freshney, 2005).



Gambar 2. 9. Kurva Perumbuhan kultur sel (ATCC, 2014).

Allah SWT menciptakan segala sesuatunya melalui beberapa tahapan. Salah satunya adalah fase pertumbuhan sel yang telah disinggung secara implisit dalam al- Qur'an Surat Nuh ayat (14),

وَقَدْ خَلَقَكُمْ أَطْوَارًا ﴿١٤﴾

Artinya: “Padahal Dia sesungguhnya telah menciptakan kamu dalam beberapa tingkatan kejadian”.

Menurut Shihab (2002), kata أَطْوَارًا berasal dari kata طور yang berarti masa atau fase. Kata tersebut juga dapat bermakna kondisi yang dialami sesuatu. Dalam kondisi ini dapat ditujukan pada fase-fase pertumbuhan sel secara *in vitro*.

2.4.2. Proliferasi sel *in vitro*

Proliferasi sel didefinisikan sebagai peningkatan jumlah sel karena pertumbuhan dan pembelahan sel. Laju proliferasi sel antar sel berbeda-beda tergantung pada sifat sel yang dimiliki. Faktor yang mempengaruhi proliferasi sel dapat berupa agen farmakologis dan polutan. Uji proliferasi sel dalam *in vitro* berguna untuk mengetahui sitoksisitas dan apoptosis sel (Willey dan Sons, 2014).

Proliferasi sel dipengaruhi oleh suatu stimulus atau ligan. Ligan akan berikatan dengan reseptor pada membran sel dan mengaktifkan beberapa protein yang terdapat dalam sel melalui fosforilasi. Proses transduksi sinyal diteruskan ke dalam inti sel untuk mengaktifkan faktor transkripsi yang akan mengaktifkan siklus sel (Cambel, 2008).

Kemampuan proliferasi sel dalam kondisi *in vitro* dapat diketahui dengan menghitung nilai nilai PDT (*Population Doubling Time*). Nilai PDT merupakan waktu yang dibutuhkan sel untuk meningkatkan jumlahnya dua kali lipat dari pada jumlah semula. Nilai PDT yang rendah menunjukkan bahwa proliferasi sel yang terjadi lebih cepat dibandingkan nilai PDT yang lebih tinggi (Trenggono, 2009).

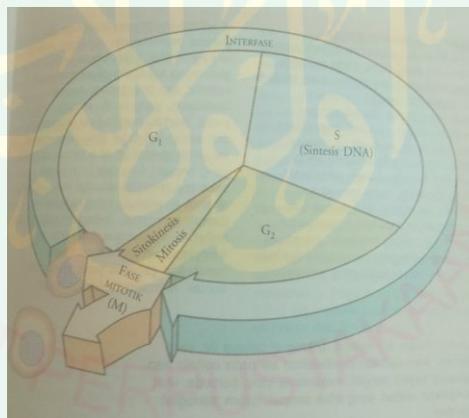
Pertumbuhan sel yang optimal ditunjukkan oleh meningkatnya proliferasi sel yang baik. Keterlambatan urutan periode pertumbuhan *exponensial* terjadi pada fase *log*. Ketika densitas sel (sel/cm² substrat) sudah menutupi permukaan substrat atau ketika konsentrasi sel (sel/ml medium) melewati kapasitas, sebaiknya dilakukan subkultur dan lebih sering mengganti medium (Freshney, 2005).

Bagian dari proliferasi sel yang berfungsi mempertahankan populasi sel adalah siklus sel. Sumadi dan Aditya (2007) menjelaskan, siklus sel adalah

kegiatan yang terjadi dari satu pembelahan sel ke pembelahan sel berikutnya. Siklus sel sendiri merupakan pertambahan massa, duplikasi bahan genetik yang dikenal sebagai interfase dan pembelahan sel.

Siklus sel terdiri dari dua tahapan, yaitu tahap interfase (I) dan tahap mitotik (M). Pada tahap interfase, sel mengalami proses pertumbuhan dan membuat salinan kromosom yang digunakan untuk persiapan tahap mitotik, sehingga tahap terpanjang dari siklus sel adalah tahap interfase (90% dari siklus sel). Pada tahap mitotik, terjadi proses pembelahan sel berupa mitosis dan sitokinesis. Tahap terpendek dalam siklus sel adalah tahap mitotik (10% dari siklus sel) (Albert, 2002; Campbell, 2008).

Siklus sel terdiri dari empat fase, yaitu G₁ (*gap* 1), S (sintesis), G₂ (*gap* 2), dan M (mitosis) (Gambar 2.9). Sel memulai sintesis protein dan RNA untuk persiapan melakukan pembelahan sel pada fase G₁. Selanjutnya, sel memasuki fase S untuk mensintesis DNA. Sel kembali mempersiapkan diri sendiri melakukan sintesis RNA pada fase G₂ untuk melakukan pembelahan sel di fase M menjadi dua sel (Freshney, 2005).

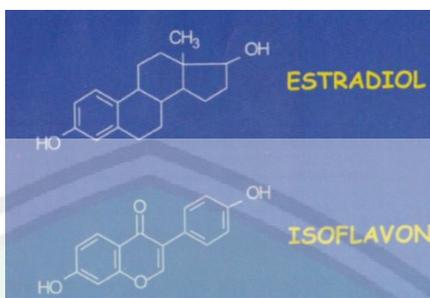


Gambar. 2.10. Siklus sel (Cambel, 2000)

2.5 Peran Fitoestrogen Terhadap Proliferasi Sel

Fitoestrogen merupakan bahan alami yang diketahui memiliki struktur yang paling mirip dengan estrogen (Gambar 2. 11) dan memiliki aktivitas estrogenik dan anti estrogenik (Melda, 2012). Sebagian besar kelompok fitoestrogen merupakan senyawa pengganti senyawa fenolik yaitu flavonoid

(Hughes, 2003). Dalam Badziat (2013), fitoestrogen terdiri dari beberapa jenis, seperti isoflavon (genistein, daidzein, formononetin, equol), lignan (enterolakton, enterodiol), coumestan (coumestrol), lakton (zerealenon) dan sterol (sitoesterol).

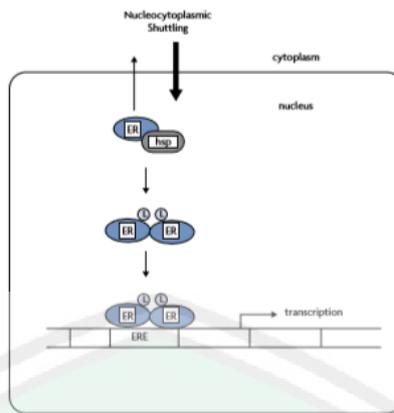


Gambar 2.11. Struktur Isoflavon yang memiliki kemiripan dengan struktur Estradiol (Badziat, 2003)

Fiteoestrogen mempengaruhi kerja fisiologis organ dengan dua mekanisme yaitu secara genomik dan non genomik. Fitoestrogen memiliki berat molekul yang rendah sehingga dapat menembus membran sel dan berinteraksi dengan reseptor dan enzim. Mekanisme genomik termasuk efek estrogenik dan antiestrogenik terhadap estrogen reseptor (ERs) sedangkan mekanisme non genomik termasuk menghambat tirosin kinase, inhibisi topoisomerase DNA, aktifitas anti oksidan, menghambat angiogenesis dan ihibisi enzim aromatase (Chici dan Micheli, 2005).

Fitoestrogen bekerja sebagai *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERMs) karena dapat bersifat estrogenik pada jaringan tertentu dan antiestrogenik pada jaringan yang lain. Gruber (2002) menambahkan, fitoestrogen dapat menjadi agonis atau antagonis tergantung pada jaringan target, jenis dan jumlah reseptor hormon estrogen serta kondisi hormon endogen.

Fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor hormon estrogen dengan cara membentuk ikatan pada reseptor estrogen masih kosong (Muljati, 2003). Fitoestrogen berikatan dengan reseptor estrogen di dalam sitoplasma sel dan menghasilkan ikatan hormon-reseptor yang aktif. Ikatan hormon-reseptor tersebut menuju inti sel dan berkombinasi dengan DNA sehingga mengawali transkripsi DNA dan muncul respon biologis berikutnya (Aryanti dan Eti, 2016).



Gambar. 2.12. Mekanisme pengikatan reseptor estrogen dengan ligan (Hughes, 2003)



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) *one way* untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap proliferasi sel endometrium kambing. Pada penelitian ini menggunakan 6 perlakuan dan 4 ulangan yang terdiri dari:

1. Perlakuan pertama (P0) : kultur sel endometrium tanpa pemberian ekstrak kurma
2. Perlakuan kontrol (P1) : kultur sel endometrium dengan pemberian fitoestrogen sintetik (Genistein) 10 μM
3. Perlakuan ekstrak 1 (P2) : kultur sel endometrium dengan pemberian ekstrak kurma 10 μM
4. Perlakuan ekstrak 2 (P3) : kultur sel endometrium dengan pemberian ekstrak kurma 20 μM
5. Perlakuan ekstrak 3 (P4) : kultur sel endometrium dengan pemberian ekstrak kurma 30 μM
6. Perlakuan ekstrak 4 (P5) : kultur sel endometrium dengan pemberian ekstrak kurma 40 μM

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas : pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan konsentrasi yang berbeda
- b. Variabel terikat : nilai viabilitas dan PDT kultur sel endometrium kambing
- c. Variabel kontrol : suhu inkubator, CO₂, H₂O, alat dan bahan yang digunakan

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei- Agustus 2020 di Laboratorium Kultur Jaringan Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spatula, timbangan analitik (Sortarius, Finlandia), *sprayer*, termos, gunting bedah, botol selai 100 mL, pinset, bunsen, gelas ukur 100 ml, tabung enlemeyer 100 ml, botol *schott* 100 ml, tutupan botol *schott*, botol falkon, mikropipet 1000 μ l, mikropipet 20-200 μ l, mikropipet 0,5-10 μ l, tip biru, tip kuning, tip putih, spuit 10 ml, *milipore*, *beaker glass* 5 ml, *beaker glass* 1000 ml, *tissue culture dish* (TC dish), TC (*Tissue culture*) dish, cawan petri, *tube sentrifuge* 10 ml, *tube sentrifuge* 1,5 ml, mortal, corong kaca, oven (Hareus, Thermoscientific, Jerman), *waterbath*, *sentrifuge* (Labatuge 200, Thermoscientific, Jepang), vorteks (Type 37600, Thermolyne, Malaysia), *incubator* (HERA Cell 150, ThermoScientific), *Laminar Air Flow* (LAF) (Vertical Air Flow, AlabTech, Korea), *cell counter* (AMQAF1000, Termofisher, USA), mikroskop *inverted* (Nikon Eclipse, Jepang), kulkas (Clasio XD7, Toshia) dan *autoclave* (Daihan Labtech, BioMedic, Korea).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah uterus kambing yang diperoleh dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Gadang, kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) kering pada stadium kimri, aquades, etanol 70%, media *Dulbecco Modified Eagle Medium* (DMEM) (12100-038, Gibco, USA), tripsin, alkohol 70%, NaCl 0,9%, *Diionized Water* (DI), serum 10%, *penicillin-streptomycin*, NaHCO₃ (Himedia), HEPES (Promega, USA), *Phosphat Buffer Saline* (PBS), Geninstein (Accenturebio, China), DMSO (Bioworld, Indonesia), kertas lakmus, teepol, sabun cuci, *handwash*, spirtus, *rotary vacum evaporator*, kertas saring *whattsman* dan aluminium foil.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Persiapan

3.5.1.1 Sterilisasi Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Semua alat yang

akan digunakan direndam terlebih dahulu di dalam air berisi teepol maksimal selama 24 jam. Setelah itu, alat-alat dibilas menggunakan air mengalir sebanyak 21 kali dan diakhiri dengan bilasan menggunakan aquades. Selanjutnya, alat-alat tersebut dikeringkan di dalam oven dengan suhu 60°C selama 1 jam. Alat-alat kemudian dibungkus menggunakan aluminium foil untuk melanjutkan ke proses sterilisasi berikutnya. Sterilisasi alat berupa penutup botol *schott*, *tube centrifuge*, tip, dan kain sablon disterilisasi menggunakan metode panas dengan mensterilisasi alat di dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat berupa cawan petri, botol selai, tabung reaksi, rak, gunting bedah, pinset, spatula, *beaker glass*, gelas ukur dan corong disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 121°C selama 3 jam.

3.5.1.2 Sterilisasi Pelarut dan Larutan

Semua bahan pelarut seperti aquades dan larutan NaCl 0.9% yang akan diperlukan dalam penelitian ini disterilisasikan terlebih dahulu dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Pelarut dan larutan disimpan sampai digunakan.

3.5.1.3 Pembuatan Media Stok

Kebutuhan komposisi untuk membuat media adalah 100 ml media DMEM, 0.37 gram NaCHO₃, 0.238 gram HEPES, 1 ml penicillin-streptomycin. Masing-masing bahan ditimbang menggunakan timbangan analitik. Semua alat dan bahan yang akan digunakan untuk membuat media stok disterilisasi terlebih dahulu di dalam LAF menggunakan sinar UV selama 30 menit. Semua bahan dicampur kemudian dan dilarutkan dalam 100 ml DMEM pada tabung enlemeyer dan dihomogenkan. Setelah homogen, larutan disterilisasi kembali menggunakan mikrofilter (*membrane filter*) yang berpori 0,22 μl dengan bantuan *syringe injection*. Proses pembuatan media stok dilakukan di dalam LAF. Media yang sudah disterilisasi kemudian disimpan dalam lemari es dengan suhu -4°C .

3.5.1.4 Pembuatan Ekstrak Kurma Ajwa

Buah kurma Ajwa pada stadium Kimri kering diperoleh dari Wisata Kebun Kurma Pasuruan. Ekstrak kurma diperoleh dengan menggunakan metode maserasi berdasarkan metode dalam (Faradina, 2018) menggunakan pelarut etanol 70%. Buah kurma ditumbuk dan dipisahkan dengan bijinya menggunakan mortal alu Selanjutnya, 5 gram serbuk buah kurma dilarutkan menggunakan pelarut etanol 10 ml. Filtrat hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring whattsman no. 1 hingga tidak terdapat residu. Hasil saringan dibiarkan dalam suhu ruang diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental disimpan dalam suhu -4° sampai digunakan. Untuk membatu kelarutan ekstrak dalam medium, ekstrak dilarutkan dengan pelarut DMSO 1% dalam 1 ml dan disterilisasi menggunakan *milipore*.

3.5.2 Pelaksanaan

3.5.2.1 Pembuatan Media DMEM 10%

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan sinar UV dalam LAF selama 30 menit. Media DMEM 10% terdiri dari 2700 μ l media stok DMEM 0% dan 300 μ l FBS. Perlakuan pemberian genistein dan ekstrak kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) diencerkan menggunakan DMSO 1%. Stok media DMSO diperoleh dari DMSO 1% ke dalam 1 ml DI. Kertas label disiapkan pada masing-masing TC dish untuk membedakan jenis konsentrasi yang terdiri dari 0 μ M, perlakuan kontrol (genistein 10 μ M), 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, dan 40 μ M. Sampel diinkubasi dalam inkubator 5% CO_2 37°C .

3.5.2.2 Kultur Sel Endometrium

3.5.2.2.1 Metode Sampling Uterus

Uterus kambing yang diperoleh dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH) Kota Malang. Selanjutnya, dilakukan proses pencucian (*washing*) yaitu membersihkan jaringan ikat yang menempel pada uterus menggunakan 100 ml NaCl 0,9%. Selanjutnya, uterus dimasukkan dalam botol berisi 100 ml NaCl 0,9% dan penicillin-streptomycin 1%. Uterus yang sudah diperoleh dan dibersihkan disimpan dalam termos berisi air hangat (37°C) untuk dibawa ke laboratorium.

3.5.2.2.2 Metode Isolasi Endometrium

Sampai di laboratotium, sampel uterus disimpan dalam waterbath dengan suhu 37°C . Alat-alat bedah steril disiapkan di dalam LAF. Uterus dibersihkan menggunakan NaCl 0,9% hangat. Uterus dibersihkan dengan PBS sebanyak dua kali. Bagian tengah uterus dibelah menggunakan *forceps* dan dibentangkan di atas cawan petri. PBS sebanyak 10 ml ditambahkan di atas uterus yang sudah dibedah. Jaringan endometrium diperoleh dengan mengkerok lapisan paling atas uterus menggunakan spatula (gambar 3.1) yang diambil menggunakan spuit 10 ml dan dimasukkan ke dalam *tube centrifuged* 15 ml dan di sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 5 menit.



Gambar 3.1. Teknik isolasi jaringan endometrium kambing (dokumentasi pribadi).

3.5.2.2.3 Metode Kultur Sel Endometrium

Kultur sel endometrium dilakukan di dalam LAF. Pellet jaringan endometrium yang sudah disentrifugasi ditambahkan dengan $300\mu\text{l}$ *Trypsin* EDTA dan diinkubasi dalam *water bath* 37°C selama 45 menit. Untuk menginaktifkan kerja *Trypsin* EDTA, *Trypsin* EDTA dibuang dan digantikan dengan media DMEM 0% dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 2000rpm selama 5 menit. Kemudian, pellet ditambahkan dengan media DMEM 10% dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 2000rpm selama 5 menit. Langkah berikutnya, dibuang supernatant dan disisakan pelet $\pm 500\mu\text{l}$. $50\mu\text{l}$ kultur sel endometrium dikultur pada masing-masing perlakuan.

3.5.3 Pengamatan

Pengamatan hasil kultur untuk mengetahui pertumbuhan dan morfologi sel serta mendeteksi adanya kontaminasi dilakukan setiap tiga hari sekali dengan menggunakan mikroskop *iverted*.

3.5.3.1 Viabilitas Sel

Pengamatan viabilitas sel dilakukan untuk mengetahui jumlah sel yang hidup dan sel yang mati. Langkah yang dilakukan diambil sel sebanyak 10 μ l kemudian ditambahkan 10 μ l *trypan blue* 0.4% dan dihomogenkan, diletakkan pada *haemocytometer single use*, selanjutnya dimasukkan ke dalam *countees* yang sudah *disetting*. Mesin akan membaca jumlah sel keseluruhan (sel/ml), jumlah sel yang mati (sel/ml) dan jumlah sel yang hidup (sel/ml), serta persentase sel yang hidup (viabilitas sel).

3.5.3.2 Tingkat Proliferasi Sel

Tingkat proliferasi diamati berdasarkan nilai *Population Doubling Time* (PDT) (hari) dan nilai viabilitas sel (%). Langkah pertama memisahkan sel dengan substrat melalui proses tripsinasi. Langkah selanjutnya media dibuang, kemudian sel dicuci sebanyak 2 kali menggunakan 1 ml PBS, ditambahkan tripsin 1 ml, EDTA 0.25%, dikocok secara perlahan dan diinkubasi pada suhu 37⁰C dan 5% CO₂ selama 5 menit.

Data yang diperoleh (jumlah sel keseluruhan) dimasukkan ke dalam rumus nilai PDT (jam). Rumus menentukan nilai PDT (jam) dalam Ghobadi (2018) adalah sebagai berikut:

$$PDT = T \times \frac{\ln 2}{\ln\left(\frac{X_e}{X_b}\right)}$$

Ghobadi (2018) menyebutkan, T adalah jumlah hari inkubasi sel kultur, ln adalah (*natural logarithm*), X_e adalah jumlah sel akhir dan X_b adalah jumlah sel akhir.

3.6 Analisis Data

Data hasil nilai viabilitas dan PDT kultur sel endometrium yang diperoleh, dianalisis menggunakan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) *one way* untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylivera*) terhadap proliferasi kultur sel endometrium. Syarat yang harus dipenuhi dalam ANOVA *one way* adalah data harus terdistribusi normal dan varians yang sama atau homogen. Apabila data tidak terdistribusi normal dilakukan uji Kruskal-Wallis, sedangkan apabila data tidak homogen dilakukan dengan uji Brown-Forsythe (Hanafiah, 2016).

Apabila hasil analisis ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada masing-masing perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan $\alpha = 0.05$. Jenis uji lanjut yang digunakan tergantung pada nilai KK (koefisien keragaman). Menurut Hanafiah (2016), jika nilai KK besar (minimal 10% untuk data homogen dan 20% untuk data heterogen), maka uji lanjut dilakukan menggunakan uji Duncan. Apabila nilai KK sedang (5-10% untuk data homogen dan 10-20% untuk data heterogen), maka diuji lanjut menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau LSD. Sedangkan apabila nilai KK kecil (maksimal 5% untuk data homogen dan maksimal 10% untuk data heterogen), maka dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau Tukey.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Endometrium adalah lapisan pada uterus yang terus mengalami pertumbuhan dan diferensiasi ketika menerima rangsangan dari hormon ovarium dalam peranannya sebagai media implantasi (Guidence, 2003). Jaringan utama penyusun endometrium yang sangat berperan penting terhadap keberhasilan implantasi adalah jaringan epitel dan jaringan stroma (Senger, 2003). Suksesnya implantasi bergantung pada penerimaan dan kesiapan jaringan epitel dan jaringan stroma endometrium (Simon *et. al*, 2000 dan Diedrich *et.al*, 2007).

Endometrium mengalami berbagai perubahan meliputi proliferasi dan apoptosis sel sesuai dengan siklus reproduksinya (Senger, 2003). Kemampuan proliferasi dan regenerasi jaringan endometrium dapat disebabkan oleh keberadaan progenitor sel endometrium yang terdapat pada lapisan basal endometrium (Gargett, 2007). Selain itu, Fernandez (2015) menambahkan, endometrium merupakan jaringan yang paling responsif terhadap perubahan hormon reproduksi. Kemampuan ini dapat dimanfaatkan untuk mempelajari peranan hormon yang dapat mendukung keberhasilan endometrium sebagai media implantasi.

Hull *et al*, (2007) telah melakukan terapi sel dan jaringan endometrium untuk mencari solusi terhadap permasalahan gangguan reproduksi. Selanjutnya dalam Ananda (2019) disebutkan, penambahan hormon estradiol menunjukkan hasil terbaik dalam meningkatkan proliferasi sel endometrium domba yang dikultur dibandingkan progesteron. Salsano (2019) juga melakukan penelitian tentang pengaruh paparan fitoestrogen genistein dan daidzein terhadap proliferasi kultur sel endometrium manusia.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap proliferasi endometrium kambing secara *in vitro*. Adapun keberhasilan kultur sel endometrium dapat diketahui berdasarkan kemampuan sel dalam viabilitas dan *Population Doubling Time* (PDT).

4.1 Pengaruh pemberian ekstrak buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap viabilitas sel endometrium kambing secara *in vitro*.

Nilai viabilitas dihitung untuk mengetahui kemampuan sel hidup dan menjalankan metabolismenya. Menurut Bolt (2001) viabilitas merupakan parameter penting yang menunjukkan kemampuan sel untuk bertahan hidup dan menjalankan metabolisme dalam media selama proses kultur. Rerata nilai viabilitas kultur sel endometrium pada masing-masing perlakuan yang diamati pada hari ke- 6 adalah sebagai berikut:

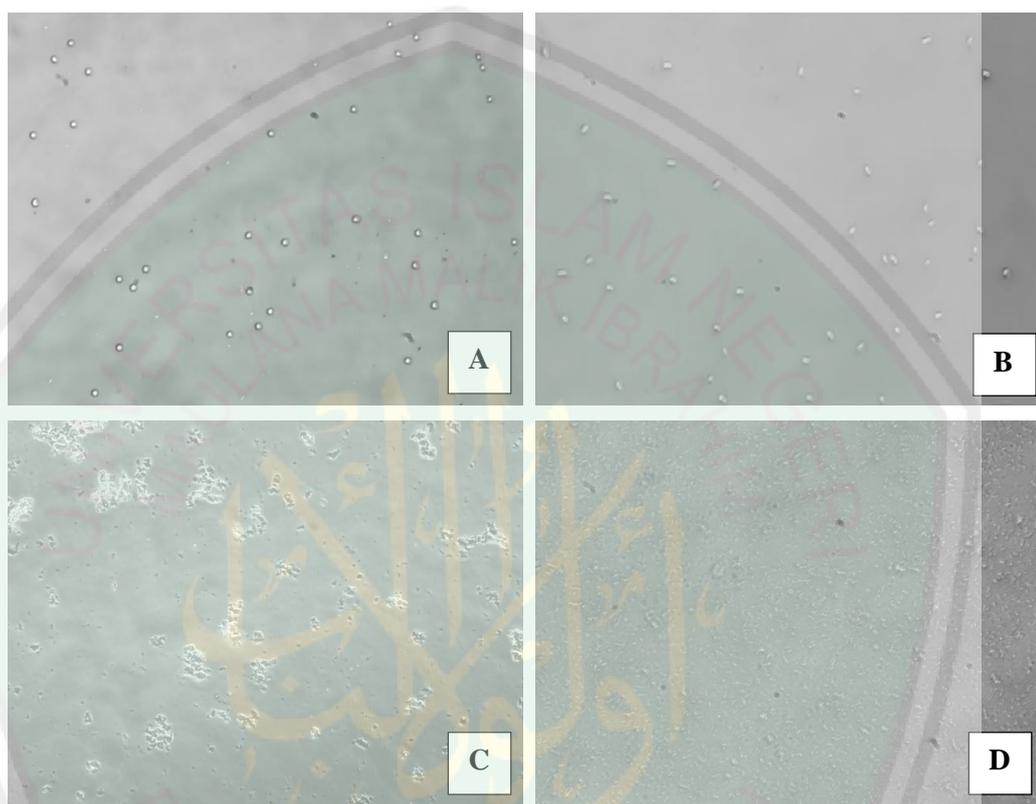
Tabel 4.1 Rerata pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap viabilitas (%) sel endometrium kambing secara *in vitro* pada hari ke 6.

Perlakuan	Viabilitas (%) pada ulangan ke-				Rerata Viabilitas ± SD (%)
	1	2	3	4	
P0 (0 µM)	13.04	12.82	11.76	4.87	10.6 ± 3. 87
P1 (10 µM Genistein)	13.33	20	27.27	26.53	21.7 ± 6. 51
P2 (10 µM)	53.08	36.58	29.15	23.25	35.5 ± 12. 9
P3 (20 µM)	33.68	28.24	30.43	15.95	27.0 ± 7. 74
P4 (30 µM)	17.80	14.75	15.87	7.14	13.8 ± 4. 67
P5 (40 µM)	7.69	0.99	0	1.44	2.53 ± 3. 49

Berdasarkan tabel 4. 1 dapat diketahui bahwa viabilitas sel yang tidak diberikan perlakuan ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) maupun genistein yaitu P0 (0 µM) memiliki nilai rerata paling rendah yaitu 10.6 ± 3.87. Konsentrasi ekstrak buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) yang memiliki nilai viabilitas paling tinggi berturut-turut adalah P2 (10 µM) (35.5 ± 12. 9), P3 (20 µM) (27.0 ± 7. 74), P4 (30 µM) (13.8 ± 4. 67) dan P5 (40 µM) (2.53 ± 3. 49). Nilai rerata viabilitas sel P2 (10 µM) (35.5 ± 12. 9), selanjutnya dibandingkan dengan perlakuan kontrol genistein yaitu P1 (21.7 ± 6. 51). Hal ini menunjukkan ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) memiliki kemampuan lebih tinggi dari genistein terhadap viabilitas kultur sel endometrium kambing.

Gambar pengamatan kultur sel endometrium kambing dapat diamati pada gambar 4.1. Karakteristik sel endometrium sebelum dikultur berbentuk bulat kecil belum berkoloni (*single cell*) (Gambar 4.1.A). Selanjutnya, di hari pertama sel

memanjang berbentuk lonjong dan saling mendekat (Gambar 4.1.B). Sel membentuk koloni pada inkubasi hari ke 3 (Gambar 4.1.C). Pada kultur hari ke 6, tampak beberapa sebaran koloni sel fibrolas dan beberapa koloni kecil yang baru tampak (Gambar 4.1.D). Berikut ini merupakan hasil pengamatan kultur sel endometrium kambing menggunakan Mikroskop *Inverted* dengan Perbesaran 400 kali:



Gambar 4.1. Pengamatan kultur sel endometrium kambing menggunakan Mikroskop *Inverted* perbesaran 400 kali. A. Prekultur. B. Pengamatan hari pertama. C. Pengamatan hari ke 3. D. Pengamatan hari ke 6.

Data rerata nilai viabilitas yang diperoleh selanjutnya diuji ANOVA menggunakan SPSS v16. 0. Syarat yang harus dipenuhi dalam uji ANOVA adalah uji normalitas dan homogenitas dengan taraf signifikansi 5%. Berdasarkan data yang normal dan homogen (lampiran 3.2), maka dilanjutkan uji ANOVA. Tabel ANOVA pada nilai viabilitas kultur sel endometrium kambing adalah sebagai berikut:

Tabel 4.2. Uji ANOVA pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap viabilitas (%) sel endometrium kambing secara *in vitro*.

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel (5%)
Perlakuan	5	2848.949	569.790	10.742*	2.63999
Galat	18	954.751	53.042		
Total	23	3803.07			

Keterangan: (*) berpengaruh nyata

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui nilai F hitung (10.742) > F tabel (2.63) pada taraf signifikansi 5%. Dengan demikian, hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis 1 (H_1) diterima. Jadi, dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) berpengaruh terhadap viabilitas kultur sel endometrium kambing.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing perlakuan, maka perlu dilakukan uji lanjut. Uji lanjut ditentukan berdasarkan nilai koefisien keragaman yang diperoleh yaitu 2,96%. Menurut Hanafiah (2016), Apabila nilai KK kecil (maksimal 5% untuk data homogen dan maksimal 10% untuk data heterogen), maka diuji lanjut menggunakan uji BNT (Beda Nyata Jujur) atau Tukey. Hasil uji lanjut BNT pada taraf signifikan 5% adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3. Uji BNT (5%) pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap viabilitas (%) sel endometrium kambing secara *in vitro* pada hari ke 6.

Perlakuan	Rata-rata Viabilitas \pm SD (%)	Notasi (5%)
P5 (40 μ M)	2.53 \pm 3.49	a
P0 (0 μ M)	10.6 \pm 3.87	ab
P4 (30 μ M)	13.8 \pm 4.67	b
P1 (10 μ M Genistein)	21.7 \pm 6.51	bc
P3 (20 μ M)	27.0 \pm 7.74	cd
P2 (10 μ M)	35.5 \pm 12.9	d

Berdasarkan tabel di atas, dapat diketahui bahwa pengaruh buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) pada masing-masing perlakuan yaitu P5 (40 μM) memiliki notasi yang sama dengan P0 (0 μM), yang artinya memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata. P0 (0 μM), memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata pula dengan P4 (30 μM) yang diketahui dari nilai notasi yang sama akan tetapi memiliki pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Pengaruh yang tidak berbeda nyata juga terlihat dari notasi yang muncul pada P1(10 μM Genistein) dan P3 (20 μM). P5 (40 μM), P4 (20 μM) dan P3 (10 μM) menunjukkan perbedaan pengaruh yang signifikan yang ditunjukkan oleh notasi ketiga perlakuan tersebut dibandingkan perlakuan yang lainnya.

Potensi P0 (0 μM) terhadap viabilitas kultur sel endometrium kambing memiliki pengaruh yang sama dengan P5 (40 μM) dan P4 (30 μM). Hal ini bisa disebabkan karena konsentrasi ekstrak pada P5 dan P4 yang terlalu tinggi sehingga menghambat sel endometrium untuk tumbuh. Sel endometrium yang tidak tumbuh menjadi sel mati dan menjadi kontaminasi sel lain yang sedang tumbuh, sehingga nilai viabilitas sel rendah. Pertumbuhan sel yang terhenti dapat disebabkan oleh adanya aktivitas antiestrogenik. Ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) memiliki kandungan fitoestrogen yang memiliki gugus OH yang sama dengan gugus estradiol sehingga salah satu dari persyaratan untuk aktifitas estrogenik antiestrogenik terjadi (Salahuddin *et al*, 2019). Dalam penelitian Lecomte *et al.*, (2017) tentang efek fitoestrogen dalam *in vitro* disebutkan, aktivitas estrogenik dapat menginduksi berbagai faktor pertumbuhan dan perkembangan siklus sel. Sel endometrium memiliki dua reseptor hormon estrogen yaitu ER α yang memiliki efek proliferasif dan ER β yang bertindak sebagai regulator negatif ER α . Dalam kondisi fitoestrogen tinggi, fitoestrogen akan berikatan dengan ER β yang menyebabkan pertumbuhan sel endometrium terhambat.

Potensi P1(10 μM Genistein) dan P3 (20 μM) memiliki pengaruh yang sama terhadap viabilitas kultur sel endometrium kambing. Pawiroharsono (2007) menyatakan, genistein dapat menghambat pembelahan dan proliferasi sel, baik itu sel normal, sel yang mengalami hiperplasia, sampai pada sel kanker. Mekanisme tersebut terjadi apabila konsentrasi genistein lebih besar dari 5 μM . Berdasarkan

hal tersebut, dapat diketahui konsentrasi pada P1(10 μM Genistein) dan P3 (20 μM) dapat menghambat pertumbuhan sel sehingga berpengaruh terhadap nilai viabilitas sel yang rendah.

P3 (20 μM) juga memiliki pengaruh yang hampir sama pula dengan P2 (10 μM). Pada uji Tukey HSD (lampiran 3.2.d) tingkat persamaan P1(10 μM Genistein) dan P3 (20 μM) memiliki nilai signifikansi 0.902, sedangkan tingkat persamaan P3 (20 μM) dan P2 (10 μM) memiliki nilai signifikansi 0.586. Data tersebut menunjukkan persamaan pengaruh P(10 μM Genistein) dan P3 (20 μM) lebih tinggi dibandingkan P3 (20 μM) dan P2 (10 μM).

P2 (10 μM) memiliki pengaruh yang hampir sama dengan P3 (20 μM). Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui P2 (10 μM) juga berpotensi menghambat pertumbuhan sel, namun berdasarkan notasi yang berbeda yang dimiliki P2 (10 μM), P2 (10 μM) memiliki pengaruh yang paling baik terhadap viabilitas sel. Dalam Yanti, *et.al* (2011) disebutkan, fitoestrogen mampu mempengaruhi transfer hormon intraseluler melalui transmembran ke reseptor yang ada di inti sel. Fitoestrogen berikatan dengan reseptor estrogen di dalam sitoplasma sehingga menghasilkan ikatan hormon-reseptor yang aktif, ketika ikatan tersebut masuk ke dalam inti sel dan berkomunikasi dengan DNA. Pengaruh fitoestrogen terhadap sel bersifat bifasik, yaitu konsentrasi 1- 10 μM dapat menginduksi sintesis DNA dan konsentrasi 20- 90 μM memiliki sifat menghambat sintesis DNA (Wang dan Kurzer, 2003). Hal inilah yang mengawali respon biologis berikutnya (Aryanti dan Eti, 2016). Jadi dapat diketahui, konsentrasi ekstrak yang kurang dari 10 μM dapat mendukung pertumbuhan sel dan menghasilkan viabilitas sel kultur yang lebih baik.

Viabilitas kultur sel yang baik dapat dijadikan sebagai parameter keberhasilan kultur sel. Nilai viabilitas sel dapat digunakan sebagai penanda biologis suatu bahan bersifat toksik (Trenggono, 2009). Nilai viabilitas yang lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol P1 (10 μM Genistein) adalah P2 (10 μM) dan P3 (20 μM) (Tabel 4.1). Ekstrak etanol kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan, antikanker dan antimikrobia (Chaiyarit, 2019). Kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) menurut Abed *et. al* (2018)

adalah *p-coumaric acid hexose*, *rosmadial*, *quercetin*, *quercetin-3, 7-di-O-glucoside* dan *ganodermic acid*. Antioksidan pada buah kurma (*Phoenix dactylifera*) melindungi sel dengan berperan sebagai *free radical scavenging* sehingga dapat menurunkan efek menurunnya sistem reproduksi (Zare *et al.*, 2020).

Sumber toksisitas sel endometrium yang dikultur dalam penelitian ini diduga akibat proses penghancuran jaringan menjadi *single cell* yang kurang optimal. Hal tersebut dapat menjadi faktor lain yang menyebabkan rendahnya nilai viabilitas pada P0 (0 μM), P4 (30 μM), dan P5 (40 μM) (Tabel 4.1). Sumber toksisitas pada sel dapat disebabkan oleh penghancuran membran sel dan reaksi enzimatik (Aslanturk, 2018). Waktu inkubasi tripsin yang terlalu lama saat isolasi sel endometrium yang akan dikultur diduga menjadi penyebab rusaknya membran sel. Dalam Ananda *et al.*, (2019) dijelaskan, tripsin memprovokasi perubahan ultrastruktural pada permukaan sel, melepaskan glikoprotein dan gula dari membran sel serta mencegah pembentukan glikoprotein yang berdampak pada kerusakan membran sel. Sel yang rusak ini kemudian menjadi agen toksisitas pada sel yang lain sehingga menghambat pertumbuhan sel dan menyebabkan nilai viabilitas sel yang rendah. Sehingga dalam penelitian ini perlu diketahui lebih lanjut tentang teknik isolasi dan waktu inkubasi yang lebih baik dalam mengisolasi sel epitel dan sel stroma endometrium.

Kemampuan kultur sel endometrium untuk tumbuh mempertahankan hidupnya (viabilitas) dapat dipengaruhi oleh penambahan faktor pertumbuhan (*growth factor*) dengan reaksi enzimatik yang tepat, konsentrasi dan waktu inkubasi yang optimum. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat diketahui bahwa konsentrasi 10 μM dapat meningkatkan nilai viabilitas sel endometrium secara *in vitro*, sedangkan konsentrasi 20 μM , 30 μM , dan 40 μM dapat menurunkan nilai viabilitas sel endometrium secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu yang Allah ciptakan telah memiliki kadar atau ukuran sesuai dengan kepentingannya masing-masing. Begitu juga pada pertumbuhan sel endometrium kambing yang dikultur membutuhkan konsentrasi

yang sesuai dengan manfaatnya untuk nilai viabilitas sel. Salah satu firman Allah dalam al-Qur'an surah Al-Hijr ayat 21 adalah sebagai berikut:

﴿وَإِن مِّن شَيْءٍ إِلَّا عِندَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ﴾

Artinya: "Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya; dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu".

Berdasarkan Tafsir Jalalain (2007), menyatakan *إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ* bermakna sesuai dengan kepentingan-kepentingannya. Dalam Tafsir Al-Qhurtubi (2009) ditambahkan, kata tersebut bermakna Allah menurunkan sesuatu sesuai dengan kehendakNya dan sesuai dengan kebutuhan makhluknya dan ukurannya.

4.2. Pengaruh pemberian ekstrak buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro*.

Proliferasi sel dapat dipengaruhi oleh stimulus atau ligan (Hughes, 2003). Kemampuan kultur sel endometrium untuk berproliferasi dapat diketahui dengan menghitung nilai PDT (*Population Doubling Time*). Nilai PDT yang rendah menunjukkan proliferasi yang terjadi lebih cepat dibandingkan nilai PDT yang tinggi. Berikut ini adalah rerata nilai PDT kultur sel endometrium pada masing-masing perlakuan yang diamati pada hari ke 6:

Tabel 4. 4. Rerata pengaruh pemberian ekstrak etanol kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap PDT sel endometrium kambing secara *in vitro* pada hari ke 6.

Perlakuan	PDT (jam) pada ulangan ke-				Rerata PDT ± SD (jam)
	1	2	3	4	
P0 (0µM)	5.724	5.718	4.763	4.43	5.16 ± 0.66
P1 (10 µM Genistein)	1.658	1.557	1.392	1.503	1.53 ± 0.11
P2 (10 µM)	0.906	0.948	0.948	1.404	1.05 ± 0.23
P3 (20 µM)	1.538	1.685	1.624	2.039	1.72 ± 0.22
P4 (30 µM)	5.821	5.304	5.979	5.647	5.69 ± 0.28
P5 (40 µM)	20.97	21.66	21.93	20.78	21.3 ± 0.54

Berdasarkan tabel 4. 4 dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) yang memiliki nilai rerata PDT paling rendah berturut-turut adalah P2 (10 µM) (1.05 ± 0.23), P1 (10 µM Genistein) (1.53 ± 0.11), P3 (20 µM) (1.72 ± 0.22), P0 (0µM) 5.16 ± 0.66 , P4 (30 µM) (5.69 ± 0.28), dan P5 (40 µM) (21.3 ± 0.54). Kemampuan sel berproliferasi yang paling baik dengan nilai rerata PDT paling rendah terdapat pada P2 (10 µM) yaitu 1.53 ± 0.11 . Hal ini menunjukkan, ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) pada P2 (10 µM) memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol P1 (10 µM Genistein) terhadap proliferasi kultur sel endometrium kambing.

Data tabel 4.4, selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan SPSS v.16.0. Data yang terdistribusi normal namun tidak homogen, diuji menggunakan uji Brown-Forsythe Test (Lampiran 4.2) (Hanafiah, 2016). Tabel uji Brown-Forsythe pada taraf signifikansi 5% tentang pengaruh ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap nilai PDT adalah sebagai berikut:

4.5. Uji Brown-Forsythe pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro*.

	Statistik ^a	db1	db2	Sig.
Brown-Forsythe	15.31	5	8.962	0.00

Berdasarkan tabel 4.5. dapat diketahui bahwa nilai signifikan $0.00 < 0.05$ pada taraf signifikansi 5%. Dengan demikian, hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis 1 (H_1) diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) berpengaruh terhadap proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro*.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing perlakuan, maka perlu dilakukan uji lanjut. Uji lanjut yang digunakan yaitu uji Games-Howell (lampiran 4.2). Perbedaan masing-masing perlakuan berdasarkan notasi yang ditunjukkan pada hasil uji lanjut Games-Howell pada taraf signifikansi 5% adalah sebagai berikut:

4.6. Hasil Uji lanjut Games-Howell pengaruh pemberian ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro*.

Perlakuan	Rata-rata PDT \pm SD (jam)	Notasi (5%)
P2 (10 μ M)	1.05 \pm 0.23	a
P1 (10 μ M Genistein)	1.53 \pm 0.11	ab
P3 (20 μ M)	1.72 \pm 0.22	b
P0 (0 μ M)	5.16 \pm 0.66	c
P4 (30 μ M)	5.69 \pm 0.28	c
P5 (40 μ M)	21.3 \pm 0.54	d

Perbedaan notasi pada tabel 4.5 menunjukkan P2 (10 μ M) memiliki pengaruh yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. P1 (10 μ M Genistein) memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan P3 (20 μ M). Selain itu, dua perlakuan yang memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata juga terdapat pada P0 (0 μ M) dan P4 (30 μ M) karena notasi yang sama. Sedangkan perlakuan P5 (40 μ M) memiliki pengaruh yang berbeda nyata pula dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

P2 (10 μ M) merupakan perlakuan yang secara nyata paling berpengaruh dalam mempercepat proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro* dengan rata-rata nilai PDT paling rendah yaitu 1.05 \pm 0.23. Pemberian ekstrak buah

kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan konsentrasi 10 μM memiliki potensi yang lebih baik terhadap proliferasi kultur sel endometrium kambing dibandingkan perlakuan kontrol P1 (10 μM Genistein), sehingga mampu menjadi stimulus paling baik yang mendukung proliferasi kultur sel endometrium kambing. Aktivitas estrogenik dapat terjadi akibat adanya senyawa fitoestrogen terkandung dalam ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) pada rentan konsentrasi 1-10 μM . Fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor estrogen yang masih kosong dalam membran sel. Fitoestrogen yang berikatan dengan reseptor hormon estrogen sel endometrium menyebabkan terjadi proses transduksi sinyal yang diteruskan ke DNA dalam inti sel untuk mengaktifkan proses transkripsi dan dilanjutkan dengan proses siklus sel untuk berproliferasi (Briant, 2002) dan (Campbell, 2008).

Potensi P1 (10 μM Genistein) sebagai perlakuan kontrol dengan nilai rata-rata PDT 1.53 ± 0.11 memiliki pengaruh yang tidak jauh berbeda dengan P2 (10 μM). Nilai PDT yang lebih tinggi menunjukkan potensi perlakuan kontrol P1 lebih rendah dibandingkan P2. Hal tersebut dapat disebabkan genistein memiliki target aksi yang tidak tunggal. Dalam Meiyanto (2008), dijelaskan pada kadar tinggi genistein tidak hanya berinteraksi dengan reseptor estrogen saja, namun juga dapat menghambat protein kinase yang berperan penting pada transduksi sinyal dan menyebabkan *cell cycle arrest*. Pawiroharsono (2007) menambahkan, apabila konsentrasi genistein lebih dari 5 μM dapat menghambat dan proliferasi sel. Hal ini yang juga dapat terjadi pada P3 (20 μM) yang dapat terlihat dengan notasi yang hampir sama dengan P1. Menurut Wang dan Kurzer (2003), konsentrasi fitoestrogen lebih dari 10 μM dapat bersifat menghambat sintesis DNA.

Perlakuan selanjutnya yang memiliki pengaruh yang sama terhadap proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro* adalah P0 (0 μM) dan P4 (30 μM) yang dapat diketahui oleh notasi yang sama. Rata-rata nilai PDT pada P0 yaitu 5.16 ± 0.66 dan rerata nilai PDT pada P4 yaitu 5.69 ± 0.28 . Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 30 μM ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) memiliki potensi yang sama dengan perlakuan tanpa pemberian ekstrak. Faktor tersebut dapat disebabkan pertumbuhan kultur

endometrium dengan konsentrasi 30 μM lebih lambat dibandingkan dengan P2 (10 μM) dan P3 (20 μM), sehingga potensi P4 sama dengan P0.

P5 (40 μl) memiliki pengaruh berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dengan rata-rata nilai PDT paling tinggi yaitu 21.3 ± 0.54 . Sehingga dapat diketahui P5 memiliki potensi paling rendah terhadap proliferasi kultur sel endometrium. Kandungan ekstrak buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) dengan konsentrasi yang tinggi menyebabkan tingginya kadar kandungan fitoestrogen. Lecomte *et. al* (2017) menyatakan, dalam kondisi fitoestrogen tinggi, fitoestrogen akan berikatan dengan $\text{Er}\beta$ yang menyebabkan pertumbuhan sel endometrium terhambat. Selain itu, konsentrasi estrogen yang terlalu tinggi dapat menyebabkan efek antiestrogenik sehingga menghambat proliferasi kultur sel endometrium kambing.

Masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan adanya pengaruh terhadap proliferasi kultur sel endometrium kambing secara *in vitro*. Konsentrasi yang paling baik untuk meningkatkan proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro* adalah pada P2 yaitu (10 μM). Namun, diperlukan konsentrasi yang lebih rendah agar diperoleh nilai PDT yang lebih baik dan menunjukkan potensi proliferasi sel yang lebih baik juga.

Al- Qur'an menjelaskan secara implisit tentang peristiwa yang terjadi di dalam rahim (uterus), baik tentang proses awal pembentukan dan perkembangan janin, serta lemahnya rahim (uterus) yang dapat menyebabkan keguguran. Firman Allah dalam al- Qur'an surat Ar- Ra'du ayat 8 adalah sebagai berikut:

اللَّهُ يَعْلَمُ مَا تَحْمِلُ كُلُّ أُنْثَىٰ وَمَا تَغِيصُ الْأَرْحَامَ وَمَا تَزِدَادُ وَكُلُّ شَيْءٍ عِنْدَهُ بِمِقْدَارٍ ﴿٨﴾

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”.

Menurut Tafsir Jalalain (2007), ayat tersebut memiliki makna Allah mengetahui apa yang dikandung setiap perempuan atau betina di dalam perutnya, apakah dia laki-laki atau perempuan, apakah dia celaka ataukah bahagia. Allah juga mengetahui apa yang kurang dari rahim, apakah janin yang dikandungnya akan keguguran atau dilahirkan sebelum umur sembilan bulan, serta apa yang lebih dari

masa hamilnya. Segala sesuatu telah ditetapkan takdirnya di sisi Allah telah diketahui kadarnya dan ditetapkan waktunya.



BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan yang diperoleh adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) berpengaruh terhadap viabilitas sel endometrium kambing secara *in vitro*. Konsentrasi ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) yang paling berpengaruh terhadap viabilitas sel endometrium kambing secara *in vitro* adalah 10 μ M.
2. Pemberian ekstrak buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) berpengaruh terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro*. Konsentrasi ekstrak etanol buah kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) yang paling berpengaruh terhadap nilai PDT sel endometrium kambing secara *in vitro* adalah 10 μ M.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan teknik isolasi sel endometrium yang lebih baik dan penggunaan enzim yang tepat, sehingga diperoleh nilai viabilitas sel endometrium yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan isolasi kandungan fitoestrogen buah kurma Ajwa sehingga lebih diketahui peran yang lebih spesifik terhadap proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro*.
3. Perlu ditinjau kembali konsentrasi ekstrak etanol buah kurma Ajwa yang lebih baik untuk mendapatkan nilai PDT yang lebih baik dalam mendukung proliferasi sel endometrium kambing secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.S.B. *Keistimewaan Kurma Dalam Al-qur'an Ditinjau Dari Perspektif Ilmu Kesehatan*. Riau: UIN Sultan Syarif Kasim. SKRIPSI.
- Ahwani, F.A., 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Polong Kedawung (Parkia roxburghii G. Don.) Pada Tahap Pascaimplantasi Lanjut Terhadap Fertilitas Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Betina Galur Sprague Dawley*. Jakarta: Universitas Muhammadiyah Prof.Dr.Hamka. SKRIPSI.
- Al- Farsi M, Morris A, Baron M. 2007. Functional properties of Omani dates (*Phoenix dactylifera* L.). *Acta Hort* 736: 479–87.
- Al- Mahally, I.J. dan J. as-Suyuti. 2007. *Tafsir Jalalain*. Terj. Bahrun Abubakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al-Qarawi, AA; Mousa HM; Ali BEH; Abdel-Rehman H dan El-Mougy SA. 2004. Protective effects of extracts from date (*Phoenix dactylifera* L.) on CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 2(3): 176-180.
- Alawi R.A, Jawhara H.A, Jawaher S. M. Al-Nadabi, Badria I. Al- Shihi and Younis Baqi. 2017. Date Palm Tree (*Phoenix dactylifera* L.): Natural Products and Therapeutic Options. *Front. Plant Sci.* 8:845. doi: 10.3389/fpls.2017.00845.
- Albert, B.D. 2002. *Cell Communication in Molecular Biology of the Cell, edisi 4*. New York: Garland Publishing Inc.
- Al-Daihan S and Bhat R.S. Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed and bark of *Phoenix dactylifera*. *Afr. J. Biotechnol.*, 11(42): 10021-10025.
- Abed, H.e, Mouna C, Zaineb A, Nouredin D, Naziha M, Hafedh M dan Bassem K. 2018. Antioxidant, Antiinflammatory, and Antitumoral Effects of Aqueous Ethanolic Extraction from *Phoenix dactylifera* L. Partenocarpic Dates. *BioMed Research International*. Vol. 2018
- Aslanturk, O.S. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principle, Advantages, and Disadvantages. Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World. DOI: 10.5772.

- Ash- Shiddieqy, Teungku M.H. 2000. *Tafsir Al-qur'anul Majid AN-Nuur*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra.
- American Type Culture Collection (ATCC). 2014. *Animal Cell Culture Guide*. Manassas: University Blvd.
- Ashraf, Z., and Hamidi, E.Z. 2011. Date and date processing: a review. *Food Rev. Int.* 27, 101–133. doi: 10.1080/87559129.2010.535231.
- Badziad, A. 2003. *Endokrinologi Ginekologi*. Jakarta: Media Aesculapius. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bolt, M.W. 2006. Neuronal Cell Culture Kept on The Straight and Narrow. (Online). http://www/nist.gov/mml/cell_052506.cfm. Diakses 1 Mei 2019.
- Cavalcanto, T.D. 2007. Hormone Regulated Inflammatory of the Immature Rat Uterus in Response TO Leukocyte Infiltration and MMP activation. *Journal of ProQuest*.
- Campbell, N.A. 2008. *Biologi Jilid*. Jakarta: Erlangga.
- Caiyarit, P, Waearutsil P, Wongraweewiwat R, Kotchoom A, dan Rattanathongkum. 2019. Inhibitory Effect Of Date Fruit (*Phoenix dactylifera* L.) Extracts on Oral Cancer Cell Lines. *KDJ*. Vol 22 (1).
- Chao, C.T dan Krueger, R.R. 2007. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of Biology, uses, and cultivation. *HortSci* 42: 1077–81.
- Dellman, H.D dan Brown E.M. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner Edisi ke 3*. R. Hartono, penerjemah. Jakarta: Universitas Kedokteran Hewan.
- Deshpande N.S dan Manasi M.D. 2017. Date Fruit (*Phoenix dactylifera* Linn)-A Review On Nutritional Values, Phytochemicals And Pharmacological Actions. *World Journal of Pharmaceutical Research*. Vol 6. Issue 8.
- Dharmayanti, N.L.P. dan Nindi. 2003. Kajian Biologi Molekuler: Gen Supresor Tumor (p53) Sebagai Target Gen Dalam Pengobatan Kanker. *Wartazoa*. Vol. 13. (3).
- Diedrich K, Fauser BCJM, Devroey P, Griesinger G. 2007. The role of the endometrium and embryo in human implantation. *Hum Reprod Update* 13: 365-377.
- Djuwita, I. 2002. *Biologi Kultur Jaringan Modul Pelatihan Dosen Universitas*. IPB, Bogor.

- Eoin, L.N. 2016. Systematics: blind dating. *Nat. Plants* 2:16069. doi: 10.1038/nplants.2016.69.
- Faradina, H. 2018. *Efek Fitoestrogen Ekstrak Buah Kurma (Phoenix dactylifera) Ruthab Terhadap Tebal Endometrium Mencit (Mus musculus) Betina*. Surabaya: Uin Sunan Ampel. Surabaya. Skripsi.
- Fernandez, M. A. M., Wiratmini, N. I., Ermayanti, N. G. A. M. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata, Schott*) terhadap Perkembangan Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina yang Telah Diovarektomi. *Jurnal Biologi*. Vol. 19 (2).
- Frade, J. M. dan Ovejero-Benito M. C. 2015. Neuronal Cell Cycle: The Neuron Itself and Its Circumstances. *Cell Cycle*. 14(5): 712-20.
- Freshney, R. I. 2005. *Introduction Basic Principles Animal Cell Culture A Practical Approach*. Oxford University Press, New York.
- Gargett CE. 2007. Uterine stem cells: what is the evidence? *Hum Reprod Update* 13: 87- 101.
- Ghnimi, S.S.U, Azharul K. dan Afaf K.E. 2016. Date fruit (*Phoenix dactylifera* L.): An underutilized food seeking industrial volarization. *NFS Journal*. Vol. 6 (1-10).
- Ghobadi, F., Rahmanifar, F., Mehrabani, D., Tamadon, A., Dianatpour, M., Zare, S., & Razeghian, I. (2018). Endometrial mesenchymal stem stromal cells in mature and immature sheep: An in vitro study, *16*(2), 83–92.
- Gibco. 2011. *Cell Culture Basics*. 56p. www.invitrogen.com.
- Giudice LC. 2003. Elucidating endometrial function in the post-genomic era. *Hum Reprod* 9: 223-235.
- Haibin, W., T. Sussane, X. Huirong, H. Gregory, K.D. Sanjoy and K.D. Sudhansu, 2005. Variation in Commercial Rodent Diets Induces Disparate Molecular and Physiological Changes in The Mouse Uterus. *PNAS*. 28 (102): 9960 – 9965.
- Hanafiah, K. A. 2016. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Palembang: Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

- Hikmah, E.M. 2014. Pengaruh Ekstrak Air Daun Katu (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Mencit (*Mus musculus* L.) Premenopause. UIN *Maulana Malik Ibrahim*. Malang. Skripsi.
- Hull ML, Prentice A, Wang DY, Butt RP, Philips SC, Smith SK, Jones DSC. 2005. Nimesulide, a COX-2 inhibitor, does not reduce lesion size or number in a nude mouse model of endometriosis. *Hum Reprod* 20: 350-358.
- [ITIS] Integrated Taxonomic Information System. 2020. *Taxonomic Hierarchy: Phoenix dactylifera*. <https://www.itis.gov>.
- Jaji, AZ, RA B., Al A., M Zachariah, J Luka dan B Gambo. 2012. Pregnancy related biometric changes in the ovaries and uterus of the sahelian goat. *Sakoto Journal of Veterinary Science*. Vol. 10 (1).
- Jaouni, S.K.A., Abear H., Nora A., Mohammed Q., Dalia E.H; Mohammed S. A, Duaa O, Rajaa A, Steve H dan Shaker A. Mousa. 2019. Effects of Phoenix dactylifera Ajwa on Infection, Hospitalization, and Survival Among Pediatric Cancer Patients in a University Hospital: A Nonrandomized Controlled Trial. *Integrative Cancer Therapies*. Volume 18(1): 1–9.
- Jones, S.M. dan Andrius K. 2001. Growth Factor-Dependent Signaling and Cell Cycle Progression. *Chem Rev*. Vol. 101. No(8).
- Kaiin, E.M dan Ita D. 2016. Potensi Transdiferensiasi Sel Fibroblas Menjadi Sel Saraf secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10 (1).
- Kalajanti, W.W. 2006. *Perbedaan Konfluenitas dan Viabilitas Sel Kultur Primer Sel Fibroblas dan Jaringan Daun Telinga Rusa Bawean (Axis kullii) pada Medium TCM 199 dan MEM*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Skripsi.

- Khalid, S., Nauman K., Rao S.K dan Haroon A. 2017. A review on chemistry and pharmacology of Ajwa date fruit and pit. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 63 (60-69).
- Lecomte, S, Florence D, Francais F, dan Farzad P. 2017. Phytochemicals Targetting Receptors: Beneficial Rather Than Adverse Effects? *International Journals Of Molecular Science*.18. 1381
- Lusiana, N. 2017. Pengaruh Fitoestrogen Daging Buah Kurma Ruthab (*Phoenix dactylifera*) terhadap Sinkronisasi Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) Betina. *Klorofil*. Vol 1(1): 24-31.
- Mallhi, T.H., Muhammad I.Q., Muhammad A., Bashir A., Yusra H.K and Atta U.R. 2014. Ajwa Date (*Phoenix dactylifera*): An Emerging Plant in Pharmacological Research. *Pak. J. Pharm. Sci*. Vol.27(3).
- Malole, M. B. 1990. *Kultur Sel dan Jaringan Hewan*. Bogor: Institute Pertanian Bogor.
- Moshfegh, F; Baharara J; Farideh N; Saeedeh Z; Elaheh A; Lobat J. 2016. Effects of date palm pollen on fertility and development of reproductive system in female Balb/C mice. *J HerbMed Pharmacol*. Vol. 5(1): 23-28.
- Paul J. 1972. *Cell and Tissue Culture 4th Ed*. E. & S. Livingstone Ltd, London.
- Pollard J. W. dan Walker J. M. 1990. *Animal Cell Culture*. USA: The Humana Press Inc.
- Potter, S. M. dan DeMerse T.B. 2001. A New Approach to Neural Cell Culture for Longterm Studies. *Journal of Neuroscience Methods*. 110: 17-24.
- Prishastanti, E. 1999. Isolasi Sel Mesofil Daun Pegagan (*Centella asiatica* (1) urban). *Sellula. MIPA UNDIP Semarang*. (VII) 7.
- Qurthubi, S.I. 2009. *Tafsir Al- Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam.

- Rahmani, AH; Aly SM; Ali H; Babiker AY; Srikar S; Khan AA. 2014. Therapeutic effects of date fruits (*Phoenix dactylifera*) in the prevention tumor activity. *Int J Clin Exp Med*. Vol. 7(3): 483-91.
- Rosselli, M dan R. K. Dubey. 2006. Estrogen Metabolism and Reproduction – is there a relationship? *Journal Fur Fertilitat Und Reproduktion*. Vol 16(4).
- Roupa, Z; M. Polikandrioti; P, Sotiropoulo; E. Faros; A. Koulouri; G. Wozniak dan M. Gourni. 2009. Causes of Infertility in Women at Reproductive Age. *Health Science Journal*. 3 (2): 80-87.
- Sakr, M.M, M. Abu Z., A.E.Hassan, A-G.I.O.Baz dan W.M.Hassan. 2010. Identification of some Date palm (*Phoenix dactylifera*) cultivars by fruit characters. *Indian Journal of Science and Technology*. Vol. 3(3).
- Salahuddin, M.S., Safitri E., Maya N.Y, Suherni S, Iwan S.H, dan Aditya Y. 2019. Pengaruh Ekstrak Kedelai (*Glycicine max*) Terhadap Proliferasi Lapisan Endometrium Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Medik Veteriner*. Vol 2(1).
- Salsano.S, Silvia P.D., Alicia Q., Roberto G.M. dan Fransisco D. 2019. Phytoestrogen exposure alters endometrial stromal cells and interferes with decidualization signaling. *Reproductive endocrinology*. 0015-0282.
- Saraswat, G., Rajdeep G., Kalyani M., Piyali S., Sayani B., Prarthana C., Aditya K. dan Syed N.K. 2016. Molecular cues to the anti-implantation effect of nano puerarin in rats. *Society for Reproduction and Fertility*. ISSN 1470-1626. 174-7899.
- Senger PL. 2003. *Pathways to Pregnancy and Parturition*, 2 nd Edition. Washington State University Research and Technology Park, Washington.
- Shabib W, Marshall RJ. 2003. The Fruit of the Date Palm: Its Possible Use As The Best Food For Future? *Internatonal Jurnal of Food Sciences and Nutrition*. Vol. 54 (4): 247-59.

- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Siddiq, M., Aleid, S. M., and Kader, A. A. (2013). *Dates Postharvest Science, Processing Technology and Health Benefits, 1st Edn*. New Delhi: WileyBlackwell.
- Simon C, Martin JC, Pellicer A. 2000. Paracrine regulators of implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 14: 815-826.
- Staar, S., Dagmar U.K., Josef M., Volker B. Dan Claudia B. 2005. Stimulation of Endometrial Glandular Cells with Genistein and Daidzein and their Effects on ER- and ER,-mRNA and Protein Expression. *Anticancer Research*. 25: 1713-1718.
- Sumadi dan Aditya M. 2007. *Biologi Sel*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Takeuchi, T. 2014. Cell Proliferation and Development. *Development, Growth & Differentiation*. Vol. 56. No(6).
- Trenggono, Bambang S. 2009. *Metode Dasar Kultur Jaringan Hewan*. Jakarta: Universitas Trisakti.
- Thompson, L. U, Beatrice A. B, Zen L, Michelle C, dan Nancy K. 2006. Phytoestrogen Content of Foods Consumed in Canada, Including Isoflavones, Lignan, and Coumestan. *Nutrition and cancer*. Vol 54. No(2).
- Wong, Y.S dan Chang Q. 2004. Identification of Flavonoids In Hakmeitau Beans (*Vigna sinensis*) By High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectorometry (LC-ES1/MS). *J. Agric. Food Chem*. 52 (22).
- Waseh, S.L. 2016. *Pengaruh Lama Paparan Murottal Surat Al-Fatihah Terhadap Proliferasi Sel Granulosa Kambing (Capra aegagrus Hircus) Secara In Vitro*. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang. Skripsi.

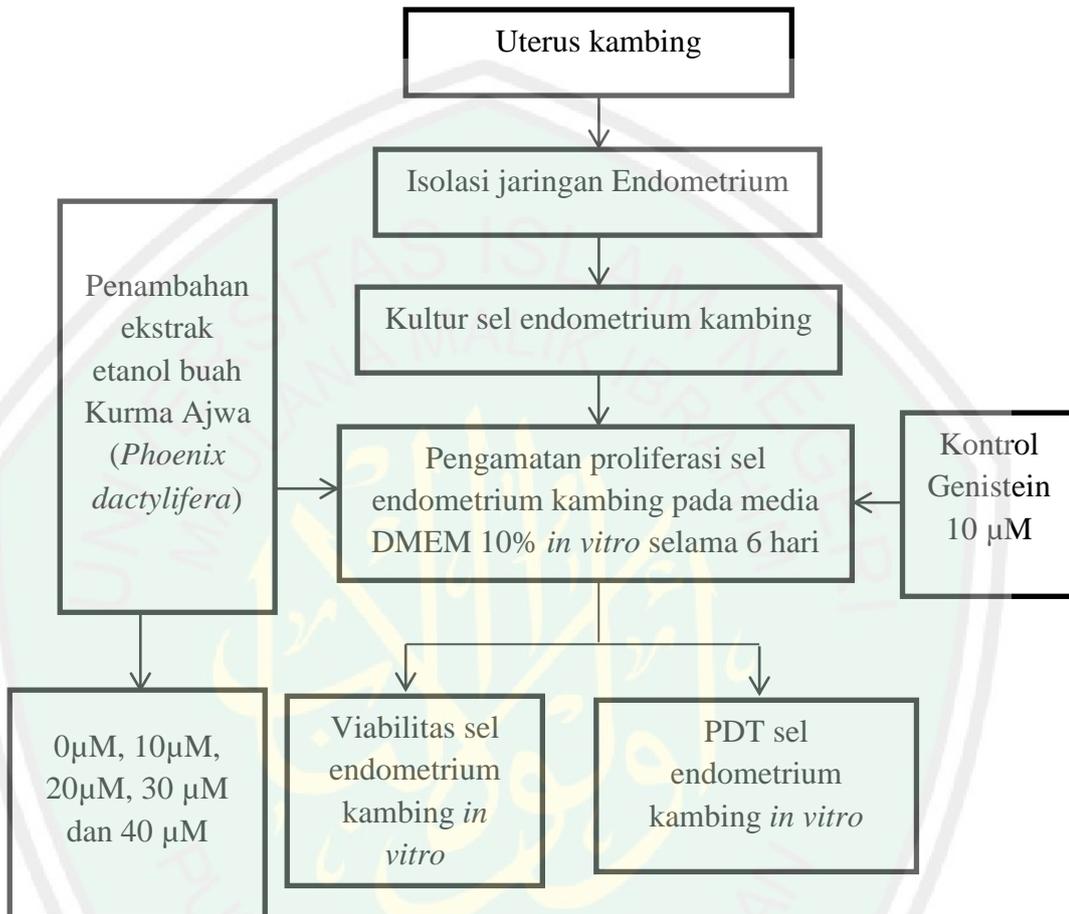
Yao, T. dan Yuta A. 2017. Animal-cell Culture Media: History, Characteristics, and Current Issues. *Reprod Med Biol.* 16(2): 99-117.

Zaid, A dan de Wet PF. 2002. Botanical and systematic description of the date palm. In: Zaid A, Arias-Jiménez EJ, editors. *Date Palm Cultivation.* Rome, Italy: FAO Plant Production and Protection Paper 156.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Penelitian



Lampiran 2. Perhitungan penentuan volume ekstrak yang akan ditambahkan ke dalam masing-masing perlakuan media berdasarkan konsentrasi yang digunakan

Keterangan:

Volume total media masing-masing perlakuan	= 3000 μ l
Mr Fitoestrogen	= 272 g/mol
1 μ M	= $\frac{1\mu\text{mol}}{1000\text{ml}} \times \text{Mr} (\mu\text{g/ml})$
Konsentrasi awal ekstrak (M1)	= 1000 $\mu\text{g/ml}$

1. Konsentrasi 0 μ M

$$0 \mu\text{M} = 0 \mu\text{g/ml} = 0\mu\text{l}$$

2. Konsentrasi 10 μ M

$$10 \mu\text{M} = 2,72 \mu\text{g/ml}$$

$$V_2 = \frac{3000 \mu\text{l} \times 2,72 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} = 8,16 \mu\text{l}$$

3. Konsentrasi 20 μ M

$$20 \mu\text{M} = 5,44 \mu\text{g/ml}$$

$$V_2 = \frac{3000 \mu\text{l} \times 5,44 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} = 16,32 \mu\text{l}$$

4. Konsentrasi 30 μ M

$$30 \mu\text{M} = 8,16 \mu\text{g/ml}$$

$$V_2 = \frac{3000 \mu\text{l} \times 8,16 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} = 24,48 \mu\text{l}$$

5. Konsentrasi 40 μ M

$$40 \mu\text{M} = 10,88 \mu\text{g/ml}$$

$$V_2 = \frac{3000 \mu\text{l} \times 10,88 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}} = 32,64 \mu\text{l}$$

Lampiran 3. Analisis Perhitungan Data Nilai Viabilitas

1. Data Hasil Penelitian

Perlakuan	Viabilitas (%) pada ulangan ke-				Rerata Viabilitas ± SD (%)
	1	2	3	4	
P0 (0 µM)	13.04	12.82	11.76	4.87	10.6 ± 3.87
P1 (10 µM Genistein)	13.33	20	27.27	26.53	21.7 ± 6.51
P2 (10 µM)	53.08	36.58	29.15	23.25	35.5 ± 12.9
P3 (20 µM)	33.68	28.24	30.43	15.95	27.0 ± 7.74
P4 (30 µM)	17.80	14.75	15.87	7.14	13.8 ± 4.67
P5 (40 µM)	7.69	0.99	0	1.44	2.53 ± 3.49

2. Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS v16.0

a) Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Viabilitas
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	1.85726E1
	Std. Deviation	1.285995E1
Most Extreme Differences	Absolute	.122
	Positive	.122
	Negative	-.074
Kolmogorov-Smirnov Z		.599
Asymp. Sig. (2-tailed)		.866
a. Test distribution is Normal.		

Keterangan :

- ✓ Syarat data normal (5%) = >0.05
- ✓ Sig. 0.866 >0.05, dilanjutkan Uji Homogenitas

b) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Viabilitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.667	5	18	.194

Keterangan :

- ✓ Syarat data homogen (5%) = >0.05
- ✓ Sig. 0.194 >0.05, dilanjutkan Uji *One way* ANOVA

c) Uji *One way* ANOVA

ANOVA

Viabilitas	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2848.949	5	569.790	10.742	.000
Within Groups	954.751	18	53.042		
Total	3803.700	23			

Keterangan :

- ✓ Syarat data berpengaruh (5%) = <0.05
- ✓ Sig. 000 < 0.05, menunjukkan data berpengaruh
- ✓ Nilai KK 2, 96% dilanjutkan uji Lanjut Tukey

d) Uji Lanjut Tukey

Viabilitas

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
40uM	4	2.53083			
0uM	4	1.06267E 1	1.06267E 1		
30uM	4	1.38945E 1	1.38945E 1	1.38945E 1	
10uM genistein	4		2.17842E 1	2.17842E 1	2.17842E 1
20uM	4			2.70801E 1	2.70801E 1
10uM	4				3.55191E 1
Sig.		.282	.300	.158	.131

Viabilitas

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
40uM	4	2.53083			
0uM	4	1.06267E 1	1.06267E 1		
30uM	4	1.38945E 1	1.38945E 1	1.38945E 1	
10uM genistein	4		2.17842E 1	2.17842E 1	2.17842E 1
20uM	4			2.70801E 1	2.70801E 1
10uM	4				3.55191E 1
Sig.		.282	.300	.158	.131
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					

Multiple Comparisons

Viabilitas
as
Tukey
HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0uM	10uM genistein	-11.157482	5.149841	.300	-27.52386	5.20889
	10uM	-24.892450*	5.149841	.002	-41.25882	-8.52608
	20uM	-16.453436*	5.149841	.048	-32.81981	-.08706
	30uM	-3.267861	5.149841	.987	-19.63424	13.09851
	40uM	8.095854	5.149841	.626	-8.27052	24.46223
10uM genistein	0uM	11.157482	5.149841	.300	-5.20889	27.52386
	10uM	-13.734968	5.149841	.131	-30.10134	2.63141
	20uM	-5.295954	5.149841	.902	-21.66233	11.07042

	30uM	7.889621	5.149841	.650	-8.47675	24.25599
	40uM	19.253336*	5.149841	.016	2.88696	35.61971
10uM	0uM	24.892450*	5.149841	.002	8.52608	41.25882
	10uM genistein	13.734968	5.149841	.131	-2.63141	30.10134
	20uM	8.439014	5.149841	.586	-7.92736	24.80539
	30uM	21.624589*	5.149841	.006	5.25821	37.99096
	40uM	32.988304*	5.149841	.000	16.62193	49.35468
20uM	0uM	16.453436*	5.149841	.048	.08706	32.81981
	10uM genistein	5.295954	5.149841	.902	-11.07042	21.66233
	10uM	-8.439014	5.149841	.586	-24.80539	7.92736
	30uM	13.185575	5.149841	.158	-3.18080	29.55195
	40uM	24.549290*	5.149841	.002	8.18292	40.91566
30uM	0uM	3.267861	5.149841	.987	-13.09851	19.63424
	10uM genistein	-7.889621	5.149841	.650	-24.25599	8.47675
	10uM	-21.624589*	5.149841	.006	-37.99096	-5.25821
	20uM	-13.185575	5.149841	.158	-29.55195	3.18080
	40uM	11.363715	5.149841	.282	-5.00266	27.73009
40uM	0uM	-8.095854	5.149841	.626	-24.46223	8.27052
	10uM genistein	-19.253336*	5.149841	.016	-35.61971	-2.88696
	10uM	-32.988304*	5.149841	.000	-49.35468	-16.62193
	20uM	-24.549290*	5.149841	.002	-40.91566	-8.18292
	30uM	-11.363715	5.149841	.282	-27.73009	5.00266

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4. Analisis Perhitungan Data Nilai PDT

1. Data hasil Pengamatan

Perlakuan	PDT (jam) pada ulangan ke-				Rerata PDT ± SD (jam)
	1	2	3	4	
P0 (0µM)	5.724	5.718	4.763	4.43	5.16 ± 0.66
P1 (10 µM Genistein)	1.658	1.557	1.392	1.503	1.53 ± 0.11
P2 (10 µM)	0.906	0.948	0.948	1.404	1.05 ± 0.23
P3 (20 µM)	1.538	1.685	1.624	2.039	1.72 ± 0.22
P4 (30 µM)	5.821	5.304	5.979	5.647	5.69 ± 0.28
P5 (40 µM)	20.97	21.66	21.93	20.78	21.3 ± 0.54

2. Hasil Uji Statistik Menggunakan SPSS v16. 0

a). Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PDT
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	6.08125
	Std. Deviation	7.217993
Most Extreme Differences	Absolute	.339
	Positive	.339
	Negative	-.237
Kolmogorov-Smirnov Z		1.661
Asymp. Sig. (2-tailed)		.008
a. Test distribution is Normal.		

Keterangan :

- ✓ Syarat data normal (5%) = >0.05
- ✓ Sig. 0.08 >0.05, dilanjutkan Uji Homogenitas

b). Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

PDT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.453	5	18	.000

Keterangan :

- ✓ Syarat data homogen (5%) = >0.05
- ✓ Sig. $0.00 < 0.05$ (data tidak homogen), dilanjutkan Uji Brown-Fosythe

c). Uji Brown-Forsythe

Robust Tests of Equality of Means

PDT	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	1.531E3	5	8.962	.000

a. Asymptotically F distributed.

Keterangan :

- ✓ Syarat data berpengaruh (5%) = <0.05
- ✓ Sig. $0.000 < 0.05$, menunjukkan data berpengaruh
- ✓ Dilanjutkan uji lanjut Games-Howell

d). Uji Lanjut Games-Howell

Multiple Comparisons

Dependent Variable:PDT

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Games-Howell	0uM	genistein 10uM	3.632000*	.335715	.007	1.79683	5.46717
		10uM	4.108000*	.351479	.003	2.38029	5.83571
		20uM	3.438000*	.348917	.005	1.69730	5.17870
		30uM	-.528250	.361375	.701	-2.21837	1.16187
		40uM	-	-	-	-	-
			16.180250*	.429263	.000	17.91006	-14.45044
	genistein 10uM	0uM	-	-	-	-	-
		10uM	3.632000*	.335715	.007	-5.46717	-1.79683
		10uM	.476000	.130292	.106	-.12183	1.07383
		20uM	-.194000	.123213	.646	-.74890	.36090
		30uM	-	-	-	-	-
		40uM	4.160250*	.155018	.000	-4.90969	-3.41081
	10uM	0uM	-	-	-	-	-
		10uM	4.108000*	.351479	.003	-5.83571	-2.38029
		genistein 10uM	-.476000	.130292	.106	-1.07383	.12183
20uM		-.670000*	.161289	.042	-1.31296	-.02704	
30uM		-	-	-	-	-	
40uM		4.636250*	.186717	.000	-5.38993	-3.88257	
	40uM		-	-	-	-	
			20.288250*	.297553	.000	21.68455	-18.89195
			-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-
			-	-	-	-	-

20uM	0uM	3.438000*	.348917	.005	-5.17870	-1.69730
	genistein	.194000	.123213	.646	-.36090	.74890
	10uM	.670000*	.161289	.042	.02704	1.31296
	30uM	3.966250*	.181848	.000	-4.70811	-3.22439
	40uM	19.618250*	.294522	.000	21.02469	-18.21181
30uM	0uM	.528250	.361375	.701	-1.16187	2.21837
	genistein	4.160250*	.155018	.000	3.41081	4.90969
	10uM	4.636250*	.186717	.000	3.88257	5.38993
	20uM	3.966250*	.181848	.000	3.22439	4.70811
	40uM	15.652000*	.309180	.000	17.02534	-14.27866
40uM	0uM	16.180250*	.429263	.000	14.45044	17.91006
	genistein	19.812250*	.278757	.000	18.31370	21.31080
	10uM	20.288250*	.297553	.000	18.89195	21.68455
	20uM	19.618250*	.294522	.000	18.21181	21.02469
	30uM	15.652000*	.309180	.000	14.27866	17.02534

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 5. Dokumentasi Langkah Kerja

1. Langkah Kerja Isolasi Uterus Kambing di RPH Kota Malang

<p>1.</p>  <p>Dibersihkan uterus kambing dari jaringan ikat yang menempel</p>	<p>2.</p>  <p>Uterus kambing yang sudah dibersihkan dari jaringan ikat</p>
<p>3.</p>  <p>Dibersihkan uterus menggunakan NaCl 0.9% 37°C</p>	<p>4.</p>  <p>Dipindahhkan uterus ke larutan Nacl 0.9% + penicillin-streptomycin</p>

5.



Dibersihkan uterus menggunakan NaCl 0.9% + penicillin-streptomycin 37⁰C

6.



Uterus disimpan dalam NaCl 0.9%+ penicillin-streptomycin hangat dan dimasukkan di dalam termos untuk dibawa ke laboratorium

2. Langkah Kerja Isolasi Sel Endometrium Kambing di Laboratorium

<p>1.</p>  <p>Uterus diinkubasi dalam <i>waterbath</i> selama alat dan bahan disterilisasi dalam LAF</p>	<p>2.</p>  <p>Sterilisasi alat dan bahan dalam UV LAF sebelum digunakan selama 30 menit</p>
<p>3.</p>  <p>Disiapkan media DMEM 10% dengan ditambahkan konsentrasi pada masing-masing kelompok perlakuan + kontrol media DMEM 0% dan diinkubasi selama langkah kultur sel endometrium selesai</p>	<p>4.</p>  <p>Diambil uterus dalam <i>waterbath</i> untuk dibedah di dalam LAF</p>

5.



Dibedah uterus menggunakan *forceps* dan pinset

6.



Dikerok lapisan atas endometrium yang sudah diberi PBS menggunakan spatula untuk memperoleh jaringan endometriurnya

7.

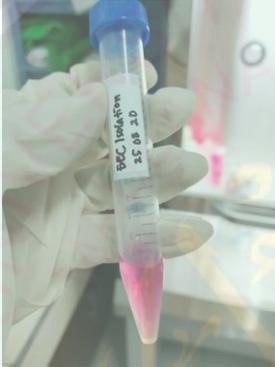


Diambil jaringan endometrium dalam PBS menggunakan spuit 10 ml

8.



Dimasukkan dalam *tube sentrifuge* 15 ml untuk disentrifugasi.

<p>9.</p>  <p>Disentrifugasi dengan kecepatan 2000rpm selama 5 menit</p>	<p>10.</p>  <p>Hasil sentrifugasi, diperoleh sel endometrium kambing (pellet).</p>
<p>11.</p>  <p>Supernatant dibuang untuk ditambahkan tripsin 300μl diinkubasi dalam <i>waterbath</i> selama 45 menit. Kerja tripsin dinonaktifkan dengan penambahan DMEM 0%</p>	<p>12.</p>  <p>Disentrifugasi dengan kecepatan 2000rpm selama 5 menit sebanyak 3 kali, dengan konsentrasi serum dalam media bertingkat 0%, 0%, dan 10%</p>
<p>13.</p>  <p>Diambil sel endometrium kambingsebanyak 50μl untuk ditanam dala masing-masing media perlakuan</p>	<p>14.</p>  <p>Ditanam sel ke dalam masing-masing perlakuan</p>

15.

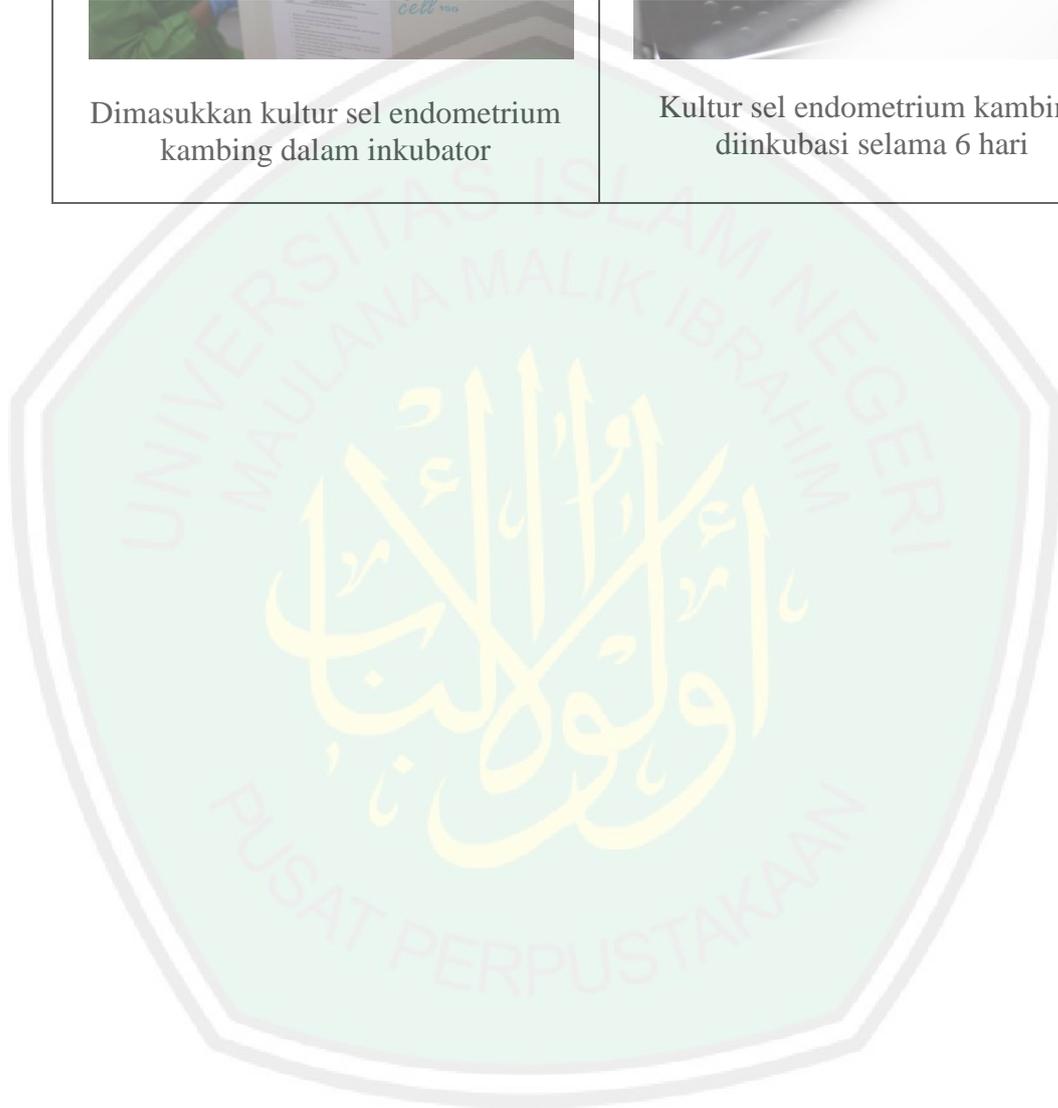


Dimasukkan kultur sel endometrium kambing dalam inkubator

16.



Kultur sel endometrium kambing diinkubasi selama 6 hari



Lampiran 6. Lembar Bukti Konsultasi



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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nuri Thobibatus Shofia Alfaruqi
NIM : 15620117
Program Studi : SI Biologi
Semester : Ganjil / Genap TA. 2020/2021
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si
Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL BUAH KURMA AJWA (*Phoenix
dactylifera*) TERHADAP PROLIFERASI SEL
ENDOMETRIUM KAMBING SECARA *IN
VITRO***

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	09 November 2018	Konsultasi Pengajuan Judul Skripsi	
2.	04 Desember 2018	Konsultasi Penulisan Latar Belakang	
3.	13 Februari 2019	Konsultasi Penulisan BAB 1	
4.	13 Mei 2019	Konsultasi Penulisan BAB 1	
5.	02 Juni 2019	Konsultasi Penulisan BAB 3	
6.	09 Juni 2019	Konsultasi Penulisan BAB 3	
7.	18 Juni 2019	Konsultasi Penulisan BAB 2	
8.	24 Januari 2020	Konsultasi Penulisan BAB 2	
9.	08 September 2020	Konsultasi Hasil Penelitian	
10.	15 September 2020	Konsultasi Hasil Analisis Penelitian	
11.	05 Oktober 2020	Konsultasi Penulisan BAB 4	
12.	12 Oktober 2020	Konsultasi Penulisan BAB 4	
13.	19 Oktober 2020	Konsultasi Penulisan BAB 4	
14.	26 Oktober 2020	Konsultasi Penulisan BAB 4	
15.	25 November 2020	Konsultasi Penulisan BAB 5	
16.	03 Desember 2020	Konsultasi Penulisan Abstrak	

Pembimbing Skripsi,

Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002



Desember 2020
Ketua Program Studi Biologi,

Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

