

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*  
(L) Urban) DAN BELUNTAS (*Pluchea indica* L) TERHADAP KADAR  
HORMON ESTROGEN DAN BERAT UTERUS TIKUS PUTIH (*Rattus  
norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

Oleh :

**IHDA SAYIDATUN NASIROH**

**11620025**



**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI**

**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2015**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*  
(L) Urban) DAN BELUNTAS (*Pluchea indica* L) TERHADAP KADAR  
HORMON ESTROGEN DAN BERAT UTERUS TIKUS PUTIH (*Rattus*  
*norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

**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)**

**Oleh :**

**IHDA SAYIDATUN NASIROH  
NIM. 11620025**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2015**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*  
(L) Urban) DAN BELUNTAS (*Pluchea indica* L) TERHADAP KADAR  
HORMON ESTROGEN DAN BERAT UTERUS TIKUS PUTIH (*Rattus  
norvegicus*) BETINA**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**IHDA SAYIDATUN NASIROH**

**NIM : 11620025**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,



**Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si**

**NIP. 19710919 200003 2 001**

Pembimbing II,



**Mujahidin Ahmad, M.Sc**

**NIPT. 2013 0902 1313**

**Malang, 10 November 2015**

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi,



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**

**NIP. 19741018 200312 2 002**



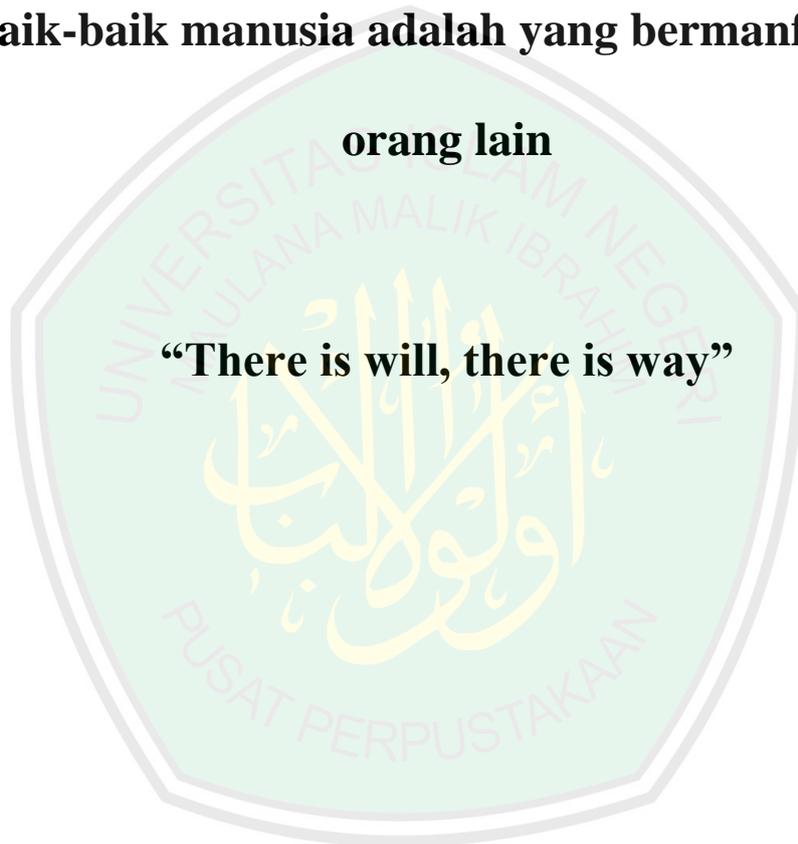


**MOTTO :**

خير الناس انفعهم للناس

**Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi  
orang lain**

**“There is will, there is way”**



## LEMBAR PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya ini untuk :

Kedua orang tuaku yang sangat aku cintai Bapak Sujari dan Ibu Siti Alfiyah. Yang dengan sabar, tulus serta ikhlas merawatku, mengasihiku dan mendoakanku setiap waktu. Semoga pengorbanan dan jerih payahmu tidak akan sia-sia. Dan semoga aku kelak aku bisa membahagiakan serta membanggakanmu ayah dan ibuku tercita.

Untuk adikku Ahmad Sholehuddin Anshori, dan seluruh keluarga besarku yang sangat aku sayangi, yang telah mendoakan dan memberiku semangat disetiap waktu. Teruntuk adikku jadilah anak yang sholeh serta buatlah ayah dan ibu bangga kepadamu.

Para pembaca yang haus akan ilmu pengetahuan, dan untuk semua yang telah membantu saya dalam menyelesaikan karya ini. Semoga karya ini dapat menambah pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua.

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr.Wb*

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, MP selaku ketua Jurusan Biologi Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku dosen pembimbing Biologi karena atas bimbingan, pengarahan dan kesabarannya sehingga penulisan ini skripsi dapat terselesaikan.
5. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen pembimbing agama, yang telah banyak memberikan pengarahan dan membimbing terkait dengan kajian Al-quran dan As-sunnah.
6. Seluruh dosen dan staf administrasi atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Ayahanda Bapak Sujari dan Ibunda Siti Alfiyah tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
8. Adikku Ahmad Sholehuddin Anshori, Mbah Kakungku Abdul Halim, Mbah Putriku Kasni, Bulek Umi Rohmatin dan sanak saudara penulis yang senantiasa memberikan semangat serta doanya kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

9. Seluruh koordinator laboratorium Muhammad Basyaruddin, S.Si, Mahrus Ismail, M.Si, Murtadla Zulfan, S.Si, Lil Hanifah, S.Si, dan Salehurrahman S.Si yang telah memberikan arahannya selama menjalankan penelitian.
10. Bapak Satuman yang telah membantu dalam pengujian kadar hormon estrogen (ELISA).
11. Teman seperjuangan di laboratorium Biosistematik, Hesty Amita, Wahyuningrum Mustikasari, Mukholifah dan Amanatul Mubtadiyah yang senantiasa membantu dan bekerjasama dalam mengerjakan penelitianku.
12. Teman seperjuanganku di Al-Fadholi Afif Chonita Purwanti, Ika Rinda Rosana, dek Arinal Muna dan seluruh warga komplek B yang telah memberikan semangat kepada penulis dan dukungan kepada penulis.
13. Sahabat-sahabat dan kawan-kawanku angkatan 2011 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, yang telah memberikan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
14. Serta semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amiin Yaa Rabbal 'Alamiin.*

*Wassalamu'alaikum Wr.Wb*

Malang, 9 November 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	8
1.3 Hipotesis .....	8
1.4 Tujuan .....	8
1.5 Manfaat .....	9
1.6 Batasan Masalah.....	9
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA</b>	
2.1 Pegagan ( <i>Centella asiatica</i> ) .....	11
2.1.1 Karakteristik .....	11
2.1.2 Klasifikasi .....	12
2.1.3 Kandungan Kimia .....	13
2.2.4 Efek Biologi dan Farmakologi.....	14
2.2 Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> ).....	16
2.2.1 Karakteristik .....	16
2.2.2 Klasifikasi .....	17

2.2.3 Kandungan Kimia .....	18
2.2.4 Efek Biologi dan Farmakologi .....	19
2.3 Mekanisme Senyawa Aktif Pegagan dan Beluntas .....	21
2.4 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	23
2.4.1 Karakteristik .....	23
2.4.2 Klasifikasi .....	27
2.5 Sistem Hormon Betina .....	27
2.5.1 Siklus Estrus Pada Tikus.....	34
2.6 Profil Uterus Tikus Putih .....	38
2.7 Kajian Reproduksi Pada Betina .....	40

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Jenis Penelitian .....	44
3.2 Populasi dan Sampel .....	44
3.3 Waktu dan Tempat .....	45
3.4 Variabel Penelitian .....	45
3.4.1 Variabel Bebas .....	45
3.4.2 Variabel Terikat .....	45
3.4.3 Variabel Terkendali.....	46
3.5 Metode .....	46
3.6 Alat dan Bahan .....	46
3.6.1 Alat.....	46
3.6.2 Bahan .....	46
3.7 Langkah Kerja .....	47
3.7.1 Persiapan Hewan Coba .....	47
3.7.2 Pembagian Kelompok Sampel .....	47
3.7.3 Pembuatan Ekstrak .....	48
3.7.4 Pembuatan Na – CMC .....	48
3.7.5 Penyerentakan Siklus Birahi .....	49
3.7.6 Pemberian Perlakuan dan Pengambilan Data .....	49
3.7.7 Metode Ulas Vagina .....	49

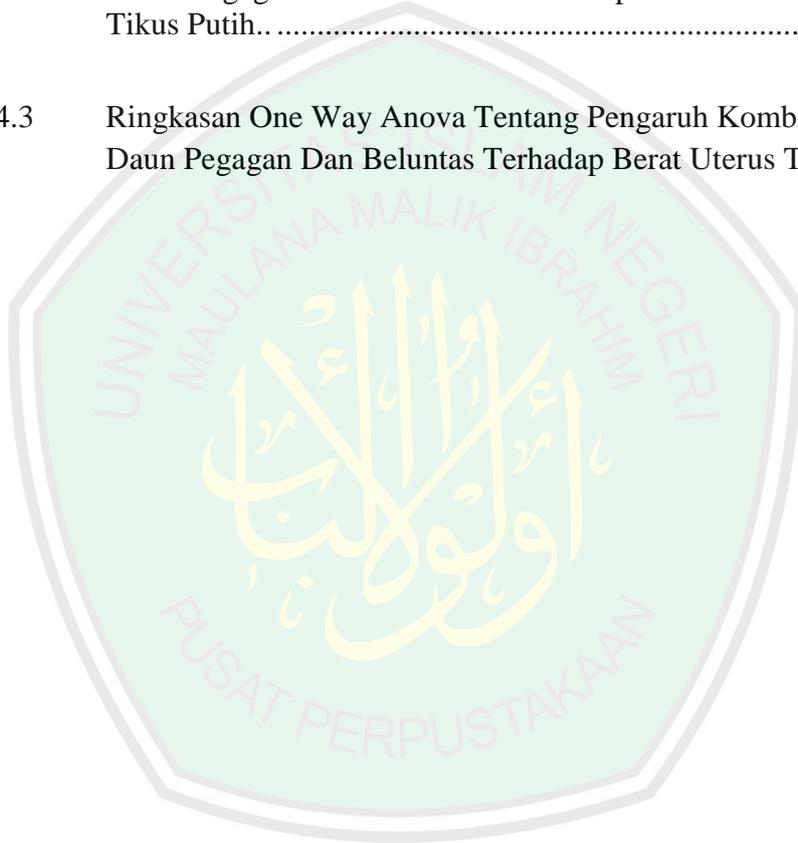
3.7.8 Pengumpulan Sampel dan Penyimpanan .....	50
3.7.9 Prosedur Uji .....	50
3.8 Analisis Berat Uterus .....	52
3.9 Analisa Data .....	52
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil dan Pembahasan .....	53
4.1.1 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar Hormon Estrogen Tikus Putih .....	53
4.1.2 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Berat Uterus Tikus Putih .....	61
4.2 Kajian Al-Quran dan As-Sunah Terkait Hasil Penelitian .....	66
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Penutup.....	74
5.2 Saran.....	74
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	75
<b>LAMPIRAN</b> .....	81

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tumbuhan Pegagan.....	11
Gambar 2.2	Struktur Kimia Jenis-jenis Senyawa Triterpen .....	13
Gambar 2.3	Tumbuhan Beluntas .....	17
Gambar 2.4	Tikus Putih .....	25
Gambar 2.5	Struktur Kimia Jenis-jenis Estrogen.....	31
Gambar 2.6	Struktur Kimia Progesteron.....	34
Gambar 2.7	Siklus Estrus.....	38
Gambar 2.8	Profil Hormon Pituitari dan Hormon Ovarium .....	38
Gambar 2.9	Morfologi Uterus Tikus .....	39
Gambar 4.1	Rata-rata Kadar Hormon Estrogen.....	55
Gambar 4.2	Rata-rata Berat Uterus.....	62
Gambar 4.3	Rata-rata Berat Badan Tikus Putih.....	65

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Produk Ekstrak Pegagan .....	14
Tabel 2.1	Kadar Senyawa Kimia Pada beluntas .....	19
Tabel 4.1	Ringkasan One Way Anova Tentang Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan Dan Beluntas Terhadap Kadar Hormon Estrogen Tikus Putih .....	54
Tabel 4.2	Ringkasan Uji BNT 5% Tentang Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan Dan Beluntas Terhadap Kadar Hormon Estrogen Tikus Putih.. ..	55
Tabel 4.3	Ringkasan One Way Anova Tentang Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan Dan Beluntas Terhadap Berat Uterus Tikus Putih.	66



## ABSTRAK

Ihda Sayidatun Nasiroh, 2015. **Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) Dan Beluntas (*Pluchea indica* L) Terhadap Kadar Hormon Estrogen Dan Berat Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si . (II) Mujahidin Ahmad, M.Sc

Kata kunci : Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban), Beluntas (*Pluchea indica* L), ELISA, Kadar Hormon Estrogen, Berat Uterus

Profil hormon reproduksi selama siklus estrus dapat menggambarkan fungsi ovarium betina. Sehingga menganalisis profil hormonalnya dapat mengindikasikan kondisi reproduksi betina tersebut. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh kombinasi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

Penelitian ini menggunakan metode Post test only control group design, terhadap tikus putih betina dengan berat badan 150-200 gram. Sampel terdiri dari 24 ekor tikus yang dibagi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1, 2, 3, 4, dan 5. Kelompok perlakuan diberikan kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas dengan dosis masing ekstrak 25 mg, 50 mg, 75 mg, 125 mg dan 200 mg setiap hari selama 15 hari. Setelah 15 hari perlakuan, tikus diambil darahnya dan diperiksa kadar hormon estrogennya. Serta diambil uterus dan ditimbang beratnya.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan terdapat pengaruh kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen tikus putih betina. Namun terhadap berat uterus, kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas tidak memberikan pengaruh yang nyata pada signifikansi  $\alpha = 5\%$ .

## ABSTRACT

Ihda Sayidatun Nasiroh, 2015. **The Effect of Combination *Centella asiatica* (L) Urban and *Pluchea indica* L. Leaf Extract toward Level of Estrogene Hormone and Weight of Uterine Female White Rat (*Rattus norvegicus*).** Thesis. Biology Departement of Science and Technology Faculty State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor (I) Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si . (II) Mujahidin Ahmad, M.Sc

Keywords : *Centella asiatica* (L) Urban., *Pluchea indica* L, ELISA, Level of Estrogene Hormone, Weight of Uterine

Profile of reproductive hormones during estrous cycle can describe the female ovarian function. Thus analyzing the hormonal profile can indicate the condition of the female reproductive. Changes in reproductive hormone content in turn causes changes in the structure of the network constituent reproductive tract. The purpose in this study was to determine whether or not the influence of a combination of extracts *Centella asiatica* (L) Urban and *Pluchea indica* L. toward estrogen and weight of uterine in female white rat (*Rattus norvegicus*).

This study uses the Post test only control group design, toward female white rats weighing 150-200 grams. The sample consisted of 24 rats were divided into 6 groups : control group (K), treatment 1, 2, 3, 4, and 5. The treatment group was given a combination of *Centella asiatica* (L) Urban extract and *Pluchea indica* L with doses of 25 mg extract, 50 mg, 75 mg , 125 mg and 200 mg daily for 15 days. After 15 days of treatment, the rats were taken and examined blood levels of the hormone estrogen. As well as the uterine is taken and weighed.

Based on the research results, it can be concluded there is a combination effect of *Centella asiatica* (L) Urban extract and *Pluchea indica* L toward estrogen female white rat. But combination of *Centella asiatica* (L) Urban extract and *Pluchea indica* L there's not significant effect toward the weight of the uterus on the significance of  $\alpha = 5\%$ .



## ABSTRAK

Ihda Sayidatun Nasiroh, 2015. **Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) Dan Beluntas (*Pluchea indica* L) Terhadap Kadar Hormon Estrogen Dan Berat Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si . (II) Mujahidin Ahmad, M.Sc

Kata kunci : Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban), Beluntas (*Pluchea indica* L), ELISA, Kadar Hormon Estrogen, Berat Uterus

Profil hormon reproduksi selama siklus estrus dapat menggambarkan fungsi ovarium betina. Sehingga menganalisis profil hormonalnya dapat mengindikasikan kondisi reproduksi betina tersebut. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh kombinasi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

Penelitian ini menggunakan metode Post test only control group design, terhadap tikus putih betina dengan berat badan 150-200 gram. Sampel terdiri dari 24 ekor tikus yang dibagi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1, 2, 3, 4, dan 5. Kelompok perlakuan diberikan kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas dengan dosis masing ekstrak 25 mg, 50 mg, 75 mg, 125 mg dan 200 mg setiap hari selama 15 hari. Setelah 15 hari perlakuan, tikus diambil darahnya dan diperiksa kadar hormon estrogennya. Serta diambil uterus dan ditimbang beratnya.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan terdapat pengaruh kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen tikus putih betina. Namun terhadap berat uterus, kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas tidak memberikan pengaruh yang nyata pada signifikansi  $\alpha = 5\%$ .

## ABSTRACT

Ihda Sayidatun Nasiroh, 2015. **The Effect of Combination *Centella asiatica* (L) Urban and *Pluchea indica* L. Leaf Extract toward Level of Estrogene Hormone and Weight of Uterine Female White Rat (*Rattus norvegicus*).** Thesis. Biology Departement of Science and Technology Faculty State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor (I) Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si . (II) Mujahidin Ahmad, M.Sc

Keywords : *Centella asiatica* (L) Urban., *Pluchea indica* L, ELISA, Level of Estrogene Hormone, Weight of Uterine

Profile of reproductive hormones during estrous cycle can describe the female ovarian function. Thus analyzing the hormonal profile can indicate the condition of the female reproductive. Changes in reproductive hormone content in turn causes changes in the structure of the network constituent reproductive tract. The purpose in this study was to determine whether or not the influence of a combination of extracts *Centella asiatica* (L) Urban and *Pluchea indica* L. toward estrogen and weight of uterine in female white rat (*Rattus norvegicus*).

This study uses the Post test only control group design, toward female white rats weighing 150-200 grams. The sample consisted of 24 rats were divided into 6 groups : control group (K), treatment 1, 2, 3, 4, and 5. The treatment group was given a combination of *Centella asiatica* (L) Urban extract and *Pluchea indica* L with doses of 25 mg extract, 50 mg, 75 mg , 125 mg and 200 mg daily for 15 days. After 15 days of treatment, the rats were taken and examined blood levels of the hormone estrogen. As well as the uterine is taken and weighed.

Based on the research results, it can be concluded there is a combination effect of *Centella asiatica* (L) Urban extract and *Pluchea indica* L toward estrogen female white rat. But combination of *Centella asiatica* (L) Urban extract and *Pluchea indica* L there's not significant effect toward the weight of the uterus on the significance of  $\alpha = 5\%$ .

## مستخلص البحث

إحدى سيدة النصورة، ٢٠١٥. آثار ضمّ خلاصة ورقة فيغاغان (جيتيلا أسياتك (لـ) أربان) و بيلونتاس (فلوجيا إنديجسا لـ) بنسبة مقدار هورمون إستروغين وزن الرحم لفأرة بيضاء راتوس نورفغيجوس). البحث العلم بقسم علم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتور الحاج بينة الماجستير. المشرف الثاني مجاهدين أحمد الماجستير.

الكلمة الأساسية : فيغاغان (جيتيلا أسياتك (لـ) أربان) ورقة بيلونتاس (فلوجيا إنديجسا لـ) إيليسا. مقدار هورمون إستروغين وزن الرحم لفأرة بيضاء.

بيانات هورمون استنساخ طول دورة إسترس تصف فائدة مبيضة الفأرة. فتحليل بيانات هورمون يدل على حال استنساخ الأنثى. تحويل محتويات هورمون الاستنساخ يسبب إلى تغيير هيكل الأنسجة التناسلية. وهدف هذا البحث هو لمعرفة آثار ضمّ خلاصة فيغاغان (جيتيلا أسياتك (لـ) أربان) ورقة بيلونتاس (فلوجيا إنديجسا لـ) بنسبة مقدار هورمون إستروغين وزن الرحم لفأرة بيضاء راتوس نورفغيجوس).

يستخدم هذا البحث منهج الاختبار القبلي بتصميم مجموعة المراقبة بنسبة فأرة البيضاء بوزن ١٥٠-٢٠٠ غرام. وعيناتها ٢٤ فأرة الذي يقسم إلى ٦ فرق وهي فرقة الطابط، علاج ١، ٢، ٣، ٤، و ٥. يضم فرقة العلاج بخلاصة فيغاغان وخلاصة ورقة بيلونتاس بمقدار كلّ خلاصة ٢٥ ميلي غرام، ٥٠ ميلي غرام، ٧٥ ميلي غرام، ١٢٥ ميلي غرام و ٢٠٠ ميلي غرام كلّ ١٥ يوما. فيأخذ دم الفأرة وتفحص مقدار هورمون إستروغين بعد ١٥ يوما. وكذلك يوزن الرحم.

على أساس حصول البحث العلم، يعرف أن هناك آثار ضمّ خلاصة ورقة فيغاغان مع خلاصة ورقة بيلونتاس بنسبة مقدار هورمون إستروغين وزن الرحم لفأرة بيضاء. وأما مقدار الرحم، ضمّ خلاصة ورقة فيغاغان مع ورقة بيلونتاس ليس هناك تأثير حقيقي بالدلالة ٥%.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan ketrampilan yang secara turun - temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya.

Masyarakat lebih memilih alternatif ini karena dianggap relatif lebih murah, efisien dan lebih aman dari efek samping dibandingkan dengan obat sintetik. Tetapi bukan berarti tanaman obat atau obat tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan bila penggunaannya kurang tepat. Ketepatan itu menyangkut tepat dosis, cara dan waktu penggunaan serta pemilihan bahan ramuan yang sesuai dengan indikasi penggunaannya (Lusiana, 2013).

Firman Allah ﷻ dalam surat As – syu'araa' ayat 7 :

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

Artinya :

*“dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik ? “* (QS. As – syu'araa' : 7).

Bagian yang dicetak tebal merupakan bagian yang memiliki korelasi dengan penelitian ini. Dalam tafsir Al-Maraghyi dijelaskan, bahwa di

bumi terdapat berbagai jenis, bentuk dan warna tumbuh-tumbuhannya yang membuktikan kekuasaan serta kekuasaan Allah Yang Maha Tinggi dan Maha Besar (Al-Maraghyi, 1987).

Tumbuhan merupakan salah satu sumber kehidupan di bumi. Berbagai macam manfaat tumbuhan untuk menunjang kehidupan makhluk hidup khususnya manusia sehari-hari antara lain sebagai bahan makanan, bahan sandang, bahan obat-obatan, bahan pewarna tekstil maupun pewarna makanan, bahkan tumbuhan juga digunakan untuk menjadi pelengkap dari upacara adat istiadat.

Berdasarkan ayat di atas, dapat diartikan bahwa Allah ﷻ menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan bukan tanpa maksud dan tujuan atau bernilai sia-sia. Sebagaimana firman Allah ﷻ dalam surat Ali-Imran ayat 190-191 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ  
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ  
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ



Artinya :

*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat **tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal**, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): **"Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka** (QS. Ali – ‘imran : 190-191).*

Potongan kalimat yang dicetak tebal pada ayat 190, oleh Abdullah (1994) ditafsirkan, bahwa terdapat petunjuk bagi orang yang mau memikirkan ciptaan Allah ﷻ. Hanya saja yang dapat mengambil pelajaran dan manfaat dari ayat kauniyah ini adalah orang yang akalannya jalan, mata hatinya hidup dan nuraninya paham.

Al-Jazairi (2007) menjelaskan bagian yang dicetak tebal pada ayat 191, bahwa kata sia-sia dalam ayat tersebut maksudnya adalah bahwa Allah menciptakan segala sesuatu bukan tanpa adanya hikmah yang bisa dijadikan pelajaran dan tanpa ada tujuan.

Sehingga sebagai makhluk yang berakal, sudah semestinya manusia memperhatikan ciptaan – ciptaan Allah ﷻ. Karena Allah ﷻ menumbuhkan berbagai tumbuhan bukan hanya baik dari segi keindahannya saja, akan tetapi juga bermanfaat dalam kehidupan manusia salah satunya sebagai obat.

Pengobatan suatu penyakit dengan berbagai alternatif merupakan sebuah ikhtiar yang harus dilakukan, sebagaimana Hadist Nabi ﷺ:

يَا عِبَادَ اللَّهِ ، تَدَاوَوْا ، فَإِنَّ اللَّهَ عَزَّ وَجَلَّ لَمْ يَصْنَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً غَيْرُ دَاءٍ  
وَاحِدٍ

Artinya :

*“Wahai para hamba Allah, berobatlah. Sebab Allah ﷻ tidaklah meletakkan sebuah penyakit melainkan meletakkan pula obatnya.” (Hadits ini merupakan hadits shahih).*

Berdasarkan hadits di atas dapat kita ketahui, bahwasanya terdapat perintah untuk berobat. Dengan adanya perintah tersebut, maka merupakan suatu kewajiban bagi kita untuk mencari obat. Salah satu caranya adalah dengan melakukan penelitian guna menemukan suatu obat untuk menanggulangi suatu penyakit.

Penggunaan tumbuhan sebagai obat, berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut, yakni zat bioaktif. Tanpa adanya suatu senyawa bioaktif dalam tumbuhan maka secara umum tumbuhan itu tidak dapat digunakan sebagai obat. Edeoga (2005) menyatakan senyawa bahan alam dalam tanaman telah menyumbang sekitar 40% dari bahan obat. Di antara beberapa tanaman yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat adalah pegagan dan beluntas.

Pegagan telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional baik dalam bentuk bahan segar, kering maupun dalam bentuk ramuan. Tumbuhan ini diduga memiliki kandungan yang dapat menyuburkan sistem reproduksi (Lusiana, 2013).

Dalam penelitiannya, Andria (2012) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan pada dosis 560 mg, 630 mg, dan 700 mg yang diekstrak dengan menggunakan etanol 70% berpengaruh terhadap kadar hormon estrogen. Kadar hormon estrogen mengalami penurunan dikarenakan pada daun pegagan mengandung triterpenoid saponin. Triterpenoid saponin mengandung steroid yaitu diosgenin atau yang sering disebut dengan genin.

Genin dapat diubah menjadi progesteron melalui proses kimia yang akan menghasilkan testosteron dan estrogen.

Daun beluntas mengandung beberapa senyawa aktif, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Beluntas mempunyai efek dapat menyebabkan kontraksi uterus dan sebagai obat keputihan. Khasiat beluntas yang digunakan sebagai obat keputihan dapat mendukung penggunaan beluntas sebagai obat ingin punya anak (fertilitas). Akan tetapi, khasiat beluntas yang dapat menaikkan kontraksi uterus justru dapat menyebabkan keguguran (Sa'roni, 2012).

Berdasarkan penelitian Fajriaty (2008), hasil pengamatan mikroskopik pada tikus putih betina menunjukkan bahwa fase metestrus dan fase diestrus bertambah lama sedangkan fase proestrus dan fase estrus menjadi lebih pendek setelah pemberian ekstrak beluntas dengan dosis 945 mg dan 9450 mg.

Kombinasi pegagan dan beluntas digunakan oleh masyarakat Sumatra Barat sebagai ramuan ingin punya anak (fertilitas) dengan dosis 1 ggm yang dikonsumsi 2 kali sehari (Sa'roni, 2012). Namun, banyaknya pemakaian bahan masih dalam ukuran tradisional misalnya hanya dikatakan secukupnya atau sekian genggam.

Hasil dari kombinasi dapat bersifat sinergis maupun antagonis. Hasil dikatakan sinergis apabila hasil kombinasi memiliki efek yang lebih besar dibandingkan dengan penggunaan tunggal, sebaliknya hasil dikatakan

antagonis apabila hasil kombinasi memiliki efek yang lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan tunggal.

Profil hormon reproduksi selama siklus estrus dapat menggambarkan fungsi ovarium betina. Sehingga menganalisis profil hormonalnya dapat mengindikasikan kondisi reproduksi betina tersebut. Siklus estrus merupakan salah satu aspek reproduksi yang menggambarkan perubahan kandungan hormon reproduksi yang disebabkan oleh aktivitas ovarium dibawah pengaruh hormon gonadotrophin. Perubahan kandungan hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusun saluran reproduksi.

Estrogen merupakan salah satu hormon pada wanita yang mengatur siklus menstruasi, kesuburan, menopause, serta hormon yang memiliki andil besar dalam tubuh manusia. Bentuk hormon estrogen dalam tubuh hewan betina berupa estradiol 17- $\beta$ , estron dan estriol, namun yang paling poten dan dijumpai dengan jumlah yang cukup tinggi dalam tubuh adalah estradiol 17- $\beta$  (Ganong, 2003). Jumlah estrogen dalam tubuh dapat memberikan efek sangat luas pada organ dan jaringan terlebih pada organ reproduksi yakni ovarium, uterus, serviks, vulva dan vagina (Baziad, 2003).

Uterus merupakan organ reproduksi yang memiliki reseptor estrogen (Sitasiwi, 2008) sehingga perubahan yang terjadi pada lapisan penyusun dinding uterus merupakan hasil regulasi hormon, terutama hormon estrogen. Hasil penelitian Sitasiwi (2008) menunjukkan bahwa ukuran tebal

endometrium uterus saat fase folikular berjalan seiring dengan kenaikan hormon estrogen.

Berat uterus sangat dipengaruhi oleh tebal endometrium uterus dan secret yang dihasilkan oleh kelenjar uterus. Tebal endometrium uterus merupakan faktor utama yang mempengaruhi berat uterus karena endometrium uterus merupakan lapisan yang paling responsif terhadap perubahan hormon reproduksi, terutama hormon estrogen (Puspitadewi, 2007).

Dalam keadaan di mana tubuh kekurangan estrogen atau tidak menghasilkan estrogen, organ yang berhubungan dengan sistem reproduksi, terutama uterus dapat mengalami atrofi (penyusutan) (Guyton, 2007). Estrogen dapat meningkatkan sekresi dan proliferasi kelenjar mukosa uterus dan vagina, sehingga dapat mencegah atrofi uterus (Guyton, 2007).

Pengetahuan mengenai reproduksi secara menyeluruh dan mendalam merupakan bekal untuk pengaturan fertilitas. Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

Berbekal pengetahuan dan hasil penelitian terdahulu, maka digunakan variasi dosis untuk mengetahui status reproduksi tikus putih betina. Karena dengan perbedaan penggunaan dosis, akan diperoleh hasil yang berbeda pula. Sehingga diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi

mengenai penggunaan kombinasi daun pegagan dan beluntas untuk mengatasi masalah terkait dengan reproduksi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah Apakah terdapat pengaruh kombinasi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina ?

## 1.3 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat pengaruh kombinasi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina

## 1.4 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh kombinasi ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

## **1.5 Manfaat**

### **1.5.1 Masyarakat**

Manfaat penelitian ini bagi masyarakat adalah didapatnya informasi tentang potensi kombinasi pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai bahan fertilitas maupun antifertilitas khususnya pada hewan betina. Setelah diperoleh hasil yang nyata, dosis yang diinjeksikan kepada tikus tersebut kemudian dikonversi menjadi dosis manusia sehingga dapat dikonsumsi untuk menanggulangi masalah reproduksi khususnya masalah kesuburan ataupun kontrasepsi.

### **1.5.2 Peneliti**

Manfaat penelitian ini bagi peneliti adalah peneliti mendapatkan pengetahuan dan skill yang memadai dalam upaya memanfaatkan dan mengembangkan pegagan dan beluntas sebagai bahan fertilitas maupun antifertilitas.

## **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hewan coba yang digunakan sebanyak 24 ekor tikus betina fertil galur Wistar dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan
2. Ekstrak yang digunakan adalah kombinasi daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diperoleh dari Materia Medika Batu

3. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode ELISA dan analisis berat basah uterus
4. Parameter yang digunakan adalah kadar hormon estrogen dan berat uterus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina
5. Pengambilan darah sampel dan pengukuran berat uterus adalah pada saat fase diestrus



## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Pegagan (*Centella asiatica* (L.))

##### 2.1.1 Karakteristik

Pegagan termasuk familia Umbelliferae atau Apiaceae. Tanaman ini memiliki nama latin *Centella asiatica* (L.) Urban atau *Hydrocotyle asiatica*. Pada beberapa daerah di Indonesia dikenal dengan nama daun kaki kuda, rumput kaki kuda, antanan gede, panegowang, kisu-kisu, pegagan, tapak kuda dan kuku kuda (Sulastry, 2009).

Pegagan merupakan tanaman tahunan yang tumbuh menjalar dan tidak berbatang. Perkembangbiakannya menggunakan stolon. Panjang tanaman bisa mencapai 10-80 cm, bahkan lebih. Jumlah daun bisa 10 helai atau lebih. Panjang tangkai daun sekitar 50 mm. Daun berbentuk seperti kipas atau ginjal dengan diameter 1-7 cm dan tepinya bergerigi (Sulastry, 2009) seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.1. Berikut adalah morfologi dari pegagan :



**Gambar 2.1** Pegagan (Winarto, 2003)

**Keterangan :**

1. Daun
2. Tangkai daun

Bunga tersusun dalam karangan berupa payung, tunggal atau 3-5 bunga bersama-sama keluar dari ketiak daun, berwarna merah muda atau putih. Buah kecil bergantung, berbentuk lonjong, pipih, panjang 2-2,5 mm, baunya wangi dan rasanya pahit. Daunnya dapat dimakan sebagai lalap untuk penguat lambung. Pegagan dapat diperbanyak dengan pemisahan stolon dan biji (Januwati, 2005). Menurut Nurliani (2008), ada keragaman pada sifat morfologi kualitatif dan kuantitatif pegagan, antara lain ukuran, warna dan bentuk daun, jumlah, ukuran dan warna geragih, jumlah bunga per geragih, panjang dan warna buku, warna batang, berat segar dan berat kering.

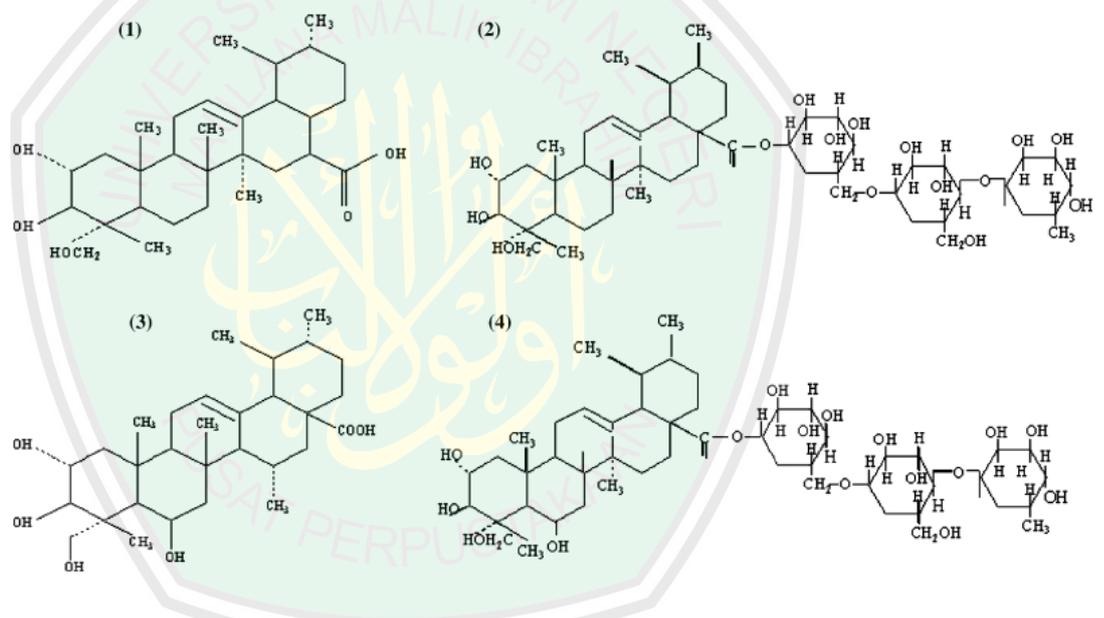
**2.1.2 Klasifikasi**

Klasifikasi pegagan menurut Hidayat (1991) adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
- Divisio : Spermatophyta
- Classis : Dicotyledoneae
- Ordo : Umbellales
- Familia : Umbelliferae (Apiaceae)
- Genus : Centella
- Spesies : *Centella asiatica* (L.) Urban

### 2.1.3 Kandungan Kimia

Penelitian ilmiah telah membuktikan terdapat berbagai komponen biokimia yaitu metabolit sekunder yang ditemukan pada pegagan. Kandungan kimia tanaman Centella memiliki peran yang sangat penting dalam bidang obat-obatan karena komponen biologis aktif triterpen saponin. Senyawa biologis (triterpen) yang paling aktif dan yang paling penting adalah asam Asiatik, Asam madekasik, asiatikosida, serta madekasoida (Seevaratnam, 2012).



**Gambar 2.2** Struktur kimia dari asam asiatik (1), asiatikosida (2), asam madekasik (3), madekasoida (4) (Kim, 2009)

Berikut adalah persentase (kadar) beberapa kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak pegagan (James dan Dubery (2009)) :

Tabel 2.1 Tabel Produk Ekstrak Pegagan

No.	Ekstrak	Komposisi Kimia	Manfaat
1.	Asiatik acid	> 95% Asiatik acid	Anti-aging
2.	Asiatica (TECA)	33-44% Asiatikosida	Anti-aging, perawatan kelembaban kulit
3.	Asiatikosida	> 95% Asiatikosida	Anti-inflamasi, menyembuhkan iritasi dan kulit yang memerah, anti alergi
4.	Heterosida	> 55% Madekasosida > 14% Asiatikosida	Efek slow releas, kosmetik anti-aging, krim malam
5.	Genin	> 25% Asiatik acid > 60% Madekasik acid	Antibiotik alami, antibakteri, anti-acne, perawatan higienis organ intim

#### 2.1.4 Efek Biologi dan Efek Farmakologi

Senyawa triterpenoid/steroid merupakan salah satu kandungan metabolit sekunder yang banyak digunakan sebagai obat antara lain untuk mengobati gangguan kulit, diabetes, gangguan menstruasi, malaria dan antiinflamasi. Sedangkan senyawa triterpenoid/steroid saponin banyak

digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan hormon steroid, dan sampai sekarang usaha pencarian tumbuhan penghasil saponin semakin banyak dilakukan (Robinson, 2003).

Pegagan merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan untuk reproduksi. Pegagan mengandung sejumlah bahan aktif golongan triterpenoid yang diduga mampu mempengaruhi organ-organ reproduksi betina, termasuk perkembangan sel telur. Bahan aktif tersebut diduga pula mampu melindungi sel-sel granulosal yang selanjutnya berpengaruh pada kualitas sel telur (Sari, 2011).

Hasil penelitian Sari (2011) menunjukkan bahwa daun pegagan yang diekstrak dengan menggunakan etanol 70%, berpengaruh terhadap peningkatan produktivitas mencit (*Mus musculus* L.) Strain Balb-C. Penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak daun pegagan yang berpengaruh terhadap peningkatan jumlah korpus luteum, jumlah implantasi, kepadatan serabut kolagen, jumlah anakan, berat anakan dan lama kebuntingan adalah pada dosis 100 mg/kg BB.

Pada penelitian Andria (2012), pemberian ekstrak etanol 70% daun pegagan berpengaruh terhadap kadar hormon estrogen dengan terjadinya penurunan akibat kandungan dari daun pegagan yaitu triterpenoid saponin. Triterpenoid saponin mengandung steroid yaitu diosgenin atau yang sering disebut dengan genin. Genin dapat diubah menjadi progesteron melalui proses kimia yang disebut penguraian maker yang menghasilkan testosteron dan estrogen. Progesteron dibentuk dari pregnenolon melalui penghilangan

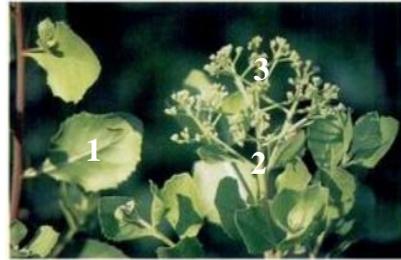
atom hydrogen dari C<sub>3</sub> dan pergeseran ikatan ganda dari cincin B pada posisi 5-6 ke cincin A pada posisi 4-5, perubahan ini oleh adanya bantuan enzyme 3 β hidroksi dehidrogenase dan Δ<sup>4-5</sup> isomerase, selanjutnya dengan bantuan enzyme 17α hidroksilase, progesteron akan diubah menjadi 17 hidroksi progesteron yang kemudian mengalami demolase menjadi bentuk testosteron, yang selanjutnya testosteron mengalami aromatisasi (pembentukan gugus hidroksi fenolik pada atom C<sub>3</sub>) menjadi estrogen.

## **2.2 Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less)**

### **2.2.1 Karakteristik**

Beluntas adalah tanaman perdu kecil, tumbuh tegak, tinggi mencapai 0,5-2 meter dan kadang-kadang lebih. Percabangannya banyak, berusuk halus, berambut lembut, daun bertangkai pendek dan letak berseling. Helaian daun bulat telur sungsang, ujung bulat melancip, tepi bergerigi, panjang 2,5-9 cm, lebar 1-1,5 cm, warnanya hijau terang, dan bila diremas baunya harum. Bunganya majemuk, keluar dari ketiak daun dan ujung tangkai. Cabang-cabang perbungaannya banyak, bunga berbentuk bogol bergagang atau duduk serta berwarna putih kekuningan sampai ungu. Beluntas memiliki buah seperti bentuk gasing, kecil, keras, coklat, sudut-sudut putih. Bijinya kecil dan berwarna coklat keputihan (Dalimarta, 1999).

Berikut adalah gambar dari morfologi beluntas :



**Gambar 2.3** Beluntas (Dalimarta, 2008)

**Keterangan :**

1. Daun
2. Tangkai
3. Bunga

Beluntas umumnya tumbuh liar di daerah kering pada tanah yang keras atau berbatu maupun ditanam sebagai tanaman pagar. Tumbuhan ini memerlukan cukup cahaya matahari atau sedikit naungan. Banyak ditemukan pada daerah pantai dekat laut, terdapat sampai 1000 m di atas permukaan laut (Ardiansyah, 2005).

**2.2.2 Klasifikasi**

Menurut Pujowati (2006) klasifikasi dari tanaman beluntas adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae

Genus : *Pluchea*  
Spesies : *Pluchea indica* [L] Less

### 2.2.3 Kandungan Kimia

Beluntas mengandung bermacam-macam senyawa aktif. Pada bagian daun terkandung senyawa aktif, yang berupa alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Tanin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis yang berwarna coklat kuning dan dapat larut dalam air, terutama air panas, membentuk larutan koloid namun bukan larutan sebenarnya. Makin murni tanin, maka kurang kelarutannya dalam air dan makin mudah memperoleh bentuk kristal. Tanin juga larut dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar, seperti benzena dan kloroform. Interaksi tanin dengan protein mempunyai sifat yang khas dan bergantung pada struktur tanin (Susetyarini, 2011).

Tanin dapat menyebabkan penggumpalan sperma. Dari data sel spermatogenesis terlihat bahwa pembentukan sel spermatogonia menjadi spermatosit, spermatid menjadi spermatozoa mengalami hambatan karena pengaruh pemberian senyawa aktif tanin yang ditunjang dengan senyawa aktif alkaloid (Kapsul, 2007).

Alkaloid menurut (Winterstein dan Trier, 1990 dalam Wurlina, 2003) didefinisikan sebagai senyawa senyawa yang bersifat basa, mengandung atom nitrogen berasal dari tumbuhan dan hewan. Alkaloid merupakan golongan fitoestrogen. Alkaloid memiliki efek hormonal khususnya efek estrogenik. Menurut Kapsul (2007), alkaloid juga dapat

menekan sekresi hormon reproduksi, yaitu testosteron sehingga spermatogenesis terganggu.

Flavanoid merupakan senyawa alam yang mengandung 15 atom karbon sebagai rangka dasarnya. (William, 1955). Gil, dkk. (2000) dan Juneja, dkk. (2001) dalam Wurlina (2003) menyatakan flavanoid termasuk dalam golongan fitoestrogen yaitu sumber estrogen yang berasal dari tanaman yang merupakan senyawa non steroid dan memiliki aktivitas estrogenik.

Kadar senyawa yang terdapat pada beluntas disajikan dalam tabel di bawah ini (Triyanto, 2014).

Tabel 2.2 Tabel Kadar senyawa kimia pada beluntas :

No.	Senyawa	Kadar
1.	Alkaloid	0,316%
2.	Flavonoid	4,18%
3.	Tanin	2,351%
4.	Minyak Atsiri	4,47%

#### 2.2.4 Efek Biologi dan Efek Farmakologi

Daun beluntas secara tradisional digunakan untuk obat pengatur haid atau peluruh haid. Hasil pengamatan mikroskopik pada penelitian Fajriaty (2008) dalam dosis 945 mg/Kg BB dan 9450 mg/kg BB dengan ekstrak aquades, menunjukkan bahwa fase metestrus dan fase diestrus bertambah lama sedangkan fase proestrus dan estrus akan berkurang dengan

pemberian rebusan daun beluntas. Hal ini menunjukkan bahwa rebusan daun beluntas mempunyai efek antifertilitas terlihat dari berkurangnya jumlah kelahiran janin yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol.

Selain itu, beluntas mempunyai efek dapat menyebabkan kontraksi uterus dan sebagai obat keputihan. Khasiat beluntas yang digunakan sebagai obat keputihan dapat mendukung penggunaan beluntas sebagai obat ingin punya anak (fertilitas). Akan tetapi, khasiat beluntas yang dapat menaikkan kontraksi uterus justru dapat menyebabkan keguguran (Sa'roni, 2012).

Beluntas ini ada di dalam ramuan tradisional yang digunakan sebagai obat ingin punya anak (fertilitas) (Sa'roni, 2012). Dan senyawa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti reverse transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson, 2003).

Uji farmakologis dan hasil penelitian tentang uji fertilitas daun beluntas dapat berupa perasan, infuse, maserasi, dan ekstrak dengan alat soxhlet pada mencit betina yang diberikan secara oral, mempunyai pengaruh antifertilitas pada mencit betina (Willys, 1990).

Senyawa aktif pada daun beluntas juga dapat mempengaruhi fertilitas pada hewan coba jantan. Tanin dapat menyebabkan penggumpalan sperma. Dari data sel spermatogenesis terlihat bahwa pembentukan sel spermatogonia menjadi spermatosit, spermatid menjadi spermatozoa mengalami hambatan karena pengaruh pemberian senyawa aktif tanin ditunjang dengan senyawa aktif alkaloid. Alkaloid dapat menekan sekresi

hormon reproduksi, yaitu testosteron sehingga proses spermatogenesis terganggu (Kapsul, 2007). Serta dipengaruhi oleh senyawa aktif flavonoid. Flavonoid, menghambat enzim aromatase, yaitu enzim yang mengkatalis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormon testosteron.

### **2.3 Mekanisme Senyawa Aktif Pegagan dan Beluntas**

Menurut Nurliani (2007) senyawa sejenis saponin, alkaloid dan triterpenoid diduga ikut masuk dalam jalur biosintesa steroid terutama hormon estrogen sehingga akan dihasilkan bahan yang strukturnya mirip dengan hormon tersebut. Selanjutnya bahan ini disekresi bersama hormon tersebut ke sel target. Pada sel target bahan tersebut akan masuk ke sel bersama hormon, selanjutnya akan menempati reseptor hormon akibatnya aksi hormon pada sel target akan berkurang.

Kandungan dari triterpenoid saponin daun pegagan selain asiaticosida terdapat juga madecosida dan asam asiatic. Asam asiatic diduga bersifat sitotoksik bila kadarnya dalam darah berlebihan akan menyebabkan apoptosis sel pada folikel ovarium (Andria, 2012). Apoptosis sel dimulai dengan rusaknya mitokondria sehingga sitokrom C akan terdisosiasi dari membran mitokondria. Akibatnya permukaan sel akan menggelembung seperti balon dan kromatin (DNA bersama proteinnya) mengalami degradasi. Protein yang dihasilkan mirip dengan protein Bcl 2 yang menyebabkan sel

meningkatkan produksi Bcl 2 sendiri, hal ini membuat sel menjadi resisten terhadap apoptosis (Fitriyah, 2009).

Pegagan juga diduga memiliki sifat narkotis sehingga dalam pemakaiannya harus sangat hati-hati. Dosis yang tinggi menyebabkan orang yang mengonsumsi menjadi pening (Lusiana, 2013).

Apabila ditinjau dari kajian fertilitas (terutama pada betina), tampaknya pegagan memiliki potensi yang cukup besar. Bahan-bahan aktif yang terkandung dalam pegagan disinyalir mampu mempengaruhi metabolisme pada organ-organ yang terkait dengan reproduksi betina. Bahan aktif dari golongan triterpenoid diduga mampu mempengaruhi jalur hipotalamus yang selanjutnya akan mempengaruhi sekresi GnRH yang berperan penting terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Limbong, 2007).

*Centella asiatica* (L.) Urban mengandung bahan aktif triterpenoid saponin. Dalam kajian fertilitas, komposisi triterpenoid saponin ini sangat dibutuhkan untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal tersebut dikarenakan pada sel-sel granulosa terdapat reseptor-reseptor hormon LH-FSH (Suheimi, 2007).

Beluntas mengandung bermacam senyawa aktif, pada daun terkandung senyawa aktif, yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, minyak atsiri (Susetyarini, 2011). Flavonoid dapat menghambat enzim aromatase yaitu enzim yang berfungsi mengkatalis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormon testosteron. Tingginya konsentrasi testosteron akan

menyebabkan umpan balik negatif ke hipofisis yaitu tidak melepaskan FSH dan LH, menghambat proses mitosis dan proses spermatogenesis. Enzim aromatase juga mengkatalis perubahan testosteron ke estradiol dapat mempengaruhi proses ovulasi (Winarno, 1997). Flavonoid pada beluntas bersifat estrogenik sehingga dapat menurunkan kadar hormon testosteron (Rukmana, 2010).

Sebagaimana sifat bahan antifertilitas lainnya, bahan yang bersifat estrogenik akan mempengaruhi siklus menstruasi dan perkembangan folikel. Ada dugaan bahwa kemungkinan bahwa bahan estrogenik turut aktif meningkatkan kadar estrogen efektif di dalam darah. Oleh karena tingginya kadar estrogen dalam darah dapat menghambat hipofisis dalam mensekresikan hormon gonadotropin (FSH) melalui umpan balik negatif. Menurunnya kadar FSH mengakibatkan terhambatnya perkembangan folikel di dalam ovarium (Nurliani, 2007).

## **2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

### **2.4.1 Karakteristik**

Tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan yang banyak dimanfaatkan dalam berbagai penelitian ilmiah (Wolfensohn dan Lioyd, 2003 dalam Simbolon, 2013). Tikus ini umumnya digunakan sebagai hewan model dalam penelitian-penelitian di bidang psikologi kedokteran, biologi, dan genetika (Wagner, 1984). Para ilmuwan telah memunculkan banyak strain tikus khusus untuk eksperimen. Strain

Wistar dan Sprague Dawley merupakan strain yang paling sering digunakan dalam penelitian (Wagner, 1984).

Strain tikus mempengaruhi karakteristik biologisnya (Lorentzen dan Klareskong, 1991 dalam Simbolon, 2013) dan jenis pakan yang lebih disukai (Laruachagiotis et al., 1994 dalam Simbolon, 2013). Pemilihan strain tertentu dalam suatu penelitian dapat memiliki pengaruh yang signifikan terhadap hasil-hasil penelitian. Penelitian tentang reproduksi pada umumnya menggunakan tikus-tikus strain Wistar dan Sprague Dawley. Kedua strain ini merupakan hasil turunan hubungan jauh (outbreed) yang memiliki fertilitas yang tinggi dan sifat-sifat perkawinan yang konsisten (Wilkinson et al., 2000 dalam Simbolon, 2013).

Lebih dari 90% hewan uji yang digunakan di dalam berbagai penelitian adalah binatang pengerat, terutama mencit dan tikus. Hal ini disebabkan karena secara genetik, manusia dan kedua hewan uji tersebut mempunyai banyak sekali kemiripan. Jenis mencit dan tikus yang paling umum digunakan salah satunya adalah jenis albino galur *Sprague Dawley*, seperti yang terlihat pada gambar 2.4. Kedua jenis hewan tersebut sering digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian dan pelatihan medis pada pengelolaan kesehatan gigi, obesitas, diabetes mellitus dan hipertensi serta digunakan dalam bidang gizi, terutama untuk mempelajari hubungan antara nutrisi dengan penuaan dini (Husaeni, 2008).



**Gambar 2.4** Tikus Putih (Jondriatno, 2012)

Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya. Tikus putih dapat tinggal sendirian dalam kandang dan hewan ini lebih besar dibandingkan dengan mencit, sehingga untuk percobaan laboratorium, tikus putih lebih menguntungkan daripada mencit (Mangkoewidjojo, 1988).

Umumnya berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya berat badan tikus pada umur 4 minggu berkisar 35-40 gram dan berat badan tikus dewasa rata-rata 200-250 gram, tetapi berat badan ini bervariasi tergantung pada galur. Galur *Sprague Dawley* adalah kelompok tikus paling besar, hampir sebesar tikus liar dengan berat mencapai 500 gram untuk tikus jantan tua dan tikus betina jarang lebih dari 350 gram (Mangkoewidjojo, 1998). Tingkah laku tikus laboratorium sangat dipengaruhi ukuran dan tipe kandang serta kondisi lingkungan sekitar, tikus ini memiliki kebiasaan berlari, berdiri dengan kedua kaki belakangnya, melompat dan memanjat. Tikus jantan lebih agresif dibandingkan dengan tikus betina dan dapat menggigit untuk

mempertahankan diri dari serangan musuh, tikus dapat memakan segala jenis makanan (omnivore) dan beraktivitas pada malam hari (nocturnal) serta dapat melakukan perkawinan sepanjang tahun (Wagner, 1984).

Data tentang fisiologi tikus putih menurut Bivin, Crawford dan Brewer (1979), Ringler dan Dabch (1979), Carr dan Krantz (1949), Mitruka dan Rawnsley (1981) dalam Mangkoewidjojo (1988) antara lain :

Jangka hidup	: 2-3 tahun, ada yang dapat hidup selama 4 tahun
Produksi ekonomi	: 1 tahun
Kehamilan	: 20-22 hari
Umur saat disapih	: 21 hari
Umur ketika dewasa	: 40-60 hari
Berat lahir	: 5-6 gram
Volume darah	: 57-70 ml/gr
Sel darah merah	: $7,2-9,6 \times 10^6/\text{mm}^3$
Sel darah putih	: $5,0-13,0 \times 10^6/\text{mm}^3$
Trombosit	: $150-460 \times 10^3/\text{mm}^3$

Tikus memiliki satu lambung (monogastric) terletak di sisi kiri rongga abdomen dan berbatasan dengan hati. Lambung tikus terbagi menjadi 2 bagian, sisi glandular dan sisi lambung depan non-glandular yang berdinding tipis. Kedua bagian tersebut dibatasi oleh sebuah jembatan yang sekaligus melapisi pintu masuknya esofagus. Struktur lambung ini mencegah terjadinya muntah pada tikus (Harris, 2009).

Tikus albino betina galur Sprague Dawley merupakan salah satu hewan pengerat memiliki ukuran tubuh yang paling besar dibandingkan galur lainnya sehingga lebih mudah dalam pengambilan suatu sampel atau pemberian perlakuan. Selain itu, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, memiliki siklus estrus pendek, lebih tenang saat diberi perlakuan sehingga mempermudah penanganannya. Oleh karena itu, tikus tersebut sering digunakan untuk penelitian ilmiah di berbagai bidang, misalnya bidang kedokteran, psikologi, dan bidang lainnya (Rat Systematics, 2004).

#### 2.4.2 Klasifikasi

Tikus putih dalam sistematika hewan percobaan diklasifikasikan sebagai berikut (Hedrich, 2006) :

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Subfilum : Vertebrata  
Classis : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Familia : Muridae  
Genus : Rattus  
Species : *Rattus norvegicus*

#### 2.5 Sistem Hormon Betina

Hormon adalah zat organik yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin yang langsung dialirkan ke dalam peredaran darah dan mempengaruhi organ

target. Regulasi pada siklus estrus melibatkan interaksi resiprokal antara hormon reproduksi dari hipotalamus, hipofisis anterior, dan ovarium (Prayogha, 2012).

Hormon reproduksi yang berasal dari ovarium adalah hormon steroid. Hormon steroid sangat berperan penting dalam pengendalian siklus estrus. Hormon steroid merupakan lipid, turunan dari kolesterol dan disekresikan oleh gonad korteks adrenal dan plasenta. Secara umum, fungsi hormon adalah mempertahankan keseimbangan atau homeostatis tubuh, membantu tubuh bereaksi secara tepat terhadap stress (bekerja sama dengan sistem saraf), mengatur pertumbuhan dan perkembangan tubuh, dan mengontrol perkembangan seksual serta reproduksi (Prayogha, 2012).

Sistem hormon wanita, seperti pada pria, terdiri dari tiga hirarki hormon sebagai berikut (Guyton, 2007) :

1. Hormon yang dikendalikan hipotalamus, *hormon pelepas-gonadotropin (GnRH)*
2. Hormon seks hipofisis anterior, *hormon perangsang folikel (FSH)* dan *hormon lutein (LH)*, keduanya disekresi sebagai respons terhadap pelepasan GnRH dari hipotalamus.
3. Hormon-hormon ovarium, *estrogen* dan *progesteron*, yang disekresi oleh ovarium sebagai respons terhadap kedua hormon seks wanita dari kelenjar hipofisis anterior.

Berbagai macam hormon ini tidak disekresikan dalam jumlah konstan sepanjang daur seksual bulanan wanita, hormon tersebut disekresi

dengan kecepatan yang sangat berbeda selama berbagai bagian yang berbeda dari daur tersebut.

### **1. GnRH (Gonadotropin-releasing hormone)**

Merupakan suatu neurohormon peptida yang disekresikan hipotalamus sebagai central nervous system dengan target organ kelenjar hipofisis anterior untuk mensekresikan FSH (Follicle Stimulating Hormone) dan LH (Luteinizing Hormone). Hormon GnRH terdiri atas 10 asam amino meskipun prekursornya terdiri atas 92 asam amino. Inaktivasi GnRH dilakukan dengan proteolisis. Pengaturan sekresi FSH dan LH dilakukan berdasar frekuensi sekresi GnRH sebagai umpan balik dari esterogen. Bila frekuensi sekresinya rendah maka akan mempengaruhi sekresi FSH dan bila frekuensinya tinggi maka akan memacu sekresi LH (memberikan feed back positif pada hormon LH) (Scanlon, 2007).

### **2. Follicle Stimulating Hormone (FSH)**

FSH memacu pertumbuhan folikel menjadi folikel matang (dewasa) yang disebut dengan folikel de Graff. Folikel de Graff melepaskan inhibin yang menghambat sekresi FSH (feed back negatif terhadap FSH). FSH merupakan hormon glukoprotein yang tiap monomernya terikat dengan gugus gula. Komponen gula mayoritas terdiri atas : frukosa, galaktosa, manosa, galaktosamin, glukosamin dan asam sialik. Komponen protein terdiri atas dua rantai yaitu rantai  $\alpha$  yang terdiri atas 52 asam amino dan berperan sebagai protein struktural dan rantai  $\beta$  yang terdiri atas 118

asam amino yang merupakan sisi aktif dan berikatan dengan reseptor FSH (Scanlon, 2007).

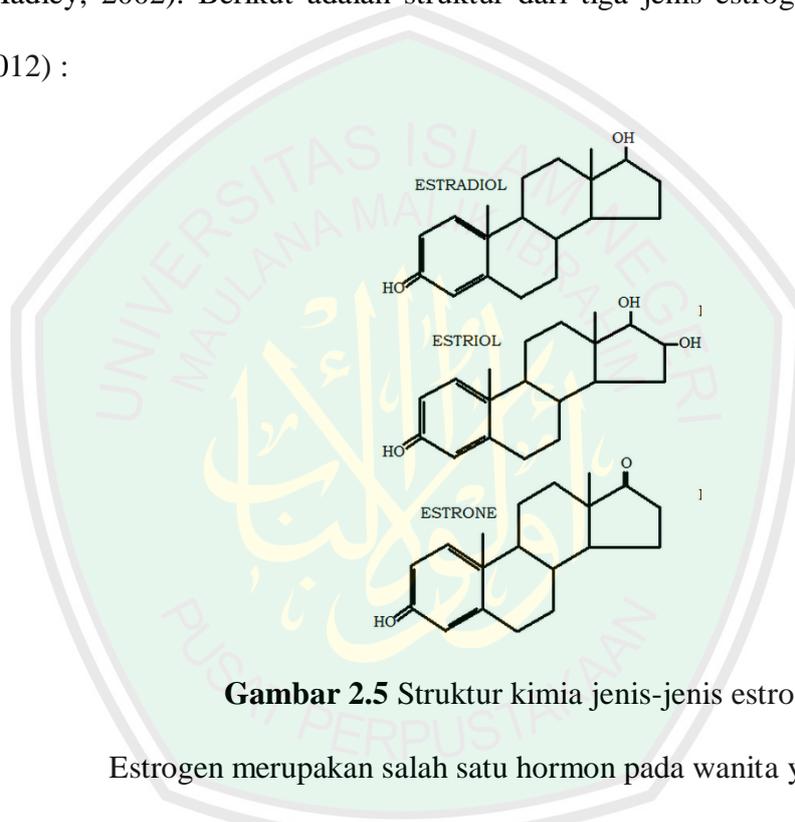
### **3. Luteinizing hormone (LH)**

Fungsi utama LH adalah : memacu ovulasi, proses perubahan folikel menjadi korpus luteum dan menyiapkan endometrium untuk implantasi. Sekresi LH diatur oleh GnRH. Luteinizing hormone merupakan glikoprotein yang terdiri atas dua rantai dimana rantai  $\alpha$  terdiri atas 92 asam amino sama seperti FSH dan rantai  $\beta$  yang terdiri atas 121 asam amino yang berfungsi sebagai sisi aktif yang berikatan dengan reseptor LH (Scanlon, 2007).

### **4. Estrogen**

Estrogen adalah senyawa steroid yang berfungsi sebagai hormon reproduksi pada betina. Hormon tersebut bertanggung jawab untuk pertumbuhan dan perkembangan vagina, uterus, dan organ penting untuk transportasi ovum, pematangan zigot, dan konsepsi implantasi zigot. Selain itu hormon tersebut menyebabkan perkembangan dan mempertahankan tanda-tanda kelamin sekunder pada tikus betina, seperti kelenjar mammae dan juga terlibat dalam penebalan endometrium maupun dalam pengaturan siklus estrus. Estrogen mempengaruhi distribusi pengendapan lemak pada tikus betina yang telah melewati masa pubertas (*postadolescent*). Oleh karena itu, kandungan estrogen jauh lebih tinggi dalam tubuh tikus betina yang berada pada usia subur (Hadley, 2000).

Tiga jenis estrogen utama yang terdapat secara alami dalam tubuh betina adalah estron ( $E_1$ ), estradiol ( $E_2$ ), dan estriol ( $E_3$ ). Ketiga jenis estrogen tersebut dibuat dari androgen dengan bantuan enzim aromatasase dalam tubuh. Estradiol dibuat dari testosteron, sedangkan estron dibuat dari androstenedion. Estron tersebut bersifat lebih lemah daripada estradiol (Hadley, 2002). Berikut adalah struktur dari tiga jenis estrogen (Prayogha, 2012) :



**Gambar 2.5** Struktur kimia jenis-jenis estrogen

Estrogen merupakan salah satu hormon pada wanita yang mengatur siklus menstruasi, kesuburan dan menopause, serta hormon yang memiliki andil besar dalam tubuh manusia. Jumlah estrogen dalam tubuh dapat memberikan efek sangat luas pada organ dan jaringan terlebih pada organ reproduksi yakni ovarium, uterus, serviks, vulva dan vagina (Baziad, 2003).

Ovarium, tuba fallopi, uterus dan vagina semuanya akan bertambah besar atas pengaruh estrogen. Pembesaran juga terjadi pada genitalia eksterna akibat meningkatnya deposisi lemak. Estrogen juga mengubah epitel vagina

yang semula adalah epitel pipih selapis menjadi kuboid bertingkat. Estrogen menyebabkan perubahan nyata pada endometrium dan kelenjarnya akibatnya ukuran uterus bertambah dua sampai tiga kali lipat dibandingkan sebelum pubertas (Guyton, 2007).

Sintesis hormon estrogen sendiri terjadi di dalam sel-sel teka dan sel-sel granulosa ovarium. Dimana kolesterol merupakan prekursor dari hormon ini. Proses pembentukannya sendiri melalui serangkaian reaksi enzimatik (Jacob, 1994).

LH diketahui berperan dalam sel teka untuk meningkatkan aktivitas enzim yang membelah rantai sisi kolesterol melalui pengaktifan ATP menjadi cAMP. Dan dengan melalui beberapa proses reaksi enzimatik terbentuklah androstenedion. Kemudian androstenedion yang dibentuk dalam sel teka masuk kedalam sel granulosa, untuk melakukan aromatisasi yakni membentuk estron dan estradiol  $17\beta$  (Baziad, 2003).

Kolesterol mengandung 27 atom karbon, setelah hidroksilasi dari kolesterol pada atom  $C_{20}$  dan atom  $C_{22}$  terjadi pemecahan rantai samping menjadi bentuk pregnenolon dan asam isocaproat. Pemecahan ini dibantu oleh adanya enzim  $20\beta$  hidroksilasi dan  $22\beta$  hidroksilasi serta LH guna meningkatkan aktivitas enzim. Dari pregnenolon proses pembentukan estrogen terjadi melalui 2 cara. Cara yang pertama melalui pembentukan dehidroepiandrosteron, sedangkan cara yang kedua melalui pembentukan progesterone (Wibowo, 1994).

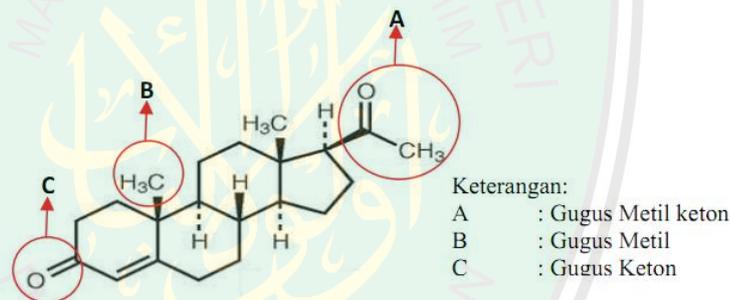
Progesteron dibentuk dari pregnenolon melalui penghilangan atom hydrogen dari C<sub>3</sub> dan pergeseran ikatan ganda dari cincin B pada posisi 5-6 ke cincin A pada posisi 4-5, perubahan ini terjadi dengan adanya bantuan enzyme 3 β hidroksi dehidrogenase dan Δ<sup>4-5</sup> isomerase, selanjutnya dengan bantuan enzyme 17α hidroksilase, progesteron akan diubah menjadi 17 hidroksi progesterone yang kemudian mengalami demolase menjadi bentuk testosteron. Selanjutnya testostosterone mengalami aromatisasi (pembentukan gugus hidroksi fenolik pada atom C<sub>3</sub>) menjadi estradiol (E<sub>2</sub>), sedangkan androstenedion juga dapat mengalami aromatisasi membentuk eston (E<sub>1</sub>). Proses aromatisasi androstenedion dipengaruhi juga oleh FSH. Sedangkan pembentukan estrogen melalui pembentukan dehidroepiandrosteron yaitu dengan cara perubahan pregnenolon menjadi 17 hidroksi pregnenolon dengan bantuan enzim 17α hidroksilase, yang kemudian 17 hidroksi pregnenolon mengalami demolase membentuk dehidroepiandrosteron. Dengan bantuan enzim 3β OH dehidrogenase serta Δ<sup>4-5</sup> isomerase, dehidroepiandrosteron diubah menjadi androstenedion dengan cara penghilangan hydrogen dan atom C<sub>3</sub> serta pergeseran ikatan ganda dari cincin B (posisi 5-6) ke cincin A (posisi 4-5), proses selanjutnya sintesis hormon estrogen sama halnya seperti yang diperlihatkan melalui pembentukan progesteron (Speroff, 1999).

## 5. Progesteron

Progesteron adalah hormon steroid yang terlibat dalam siklus estrus dan kehamilan. Progesteron termasuk kelas hormon progestagen.

Progesteron diproduksi oleh korpus luteum dalam ovarium setelah ovulasi dan dalam kelenjar adrenal yang terletak di dekat ginjal, serta di dalam plasenta selama kehamilan (Hadley, 2000).

Progesteron bertanggung jawab mempersiapkan sistem reproduksi untuk implantasi zigot. Hal tersebut menunjukkan bahwa progesteron yang berada pada plasma preovulatori dapat memicu perilaku seksual pada beberapa spesies. Progesteron memiliki peranan dominan dalam mengatur siklus estrus. Kadar progesteron dalam darah tikus pada awal siklus estrus kurang dari 5 ng/ml, setelah ovulasi kadarnya lebih dari 5 ng/ml (Hadley, 2000).



**Gambar 2.6** Struktur Kimia Progesteron

### 2.5.1 Siklus Estrus Pada Tikus

Siklus estrus tikus berlangsung selama empat sampai enam hari. Meskipun pemilihan waktu siklus dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor eksteroseptif seperti cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial. Secara umum siklus estrus pada tikus dibagi menjadi empat fase (Turner 1976) yaitu fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Masing-masing fase ini menggambarkan proses fisiologis yang berbeda.

**Proestrus.** Stadium ini berlangsung dalam dua tahap yaitu proestrus awal (60 jam) dan proestrus akhir (12 jam). Stadium ini menandakan akan datangnya birahi, stadium ini ditandai dengan terjadinya involusi fungsional korpus luteum dari fase sebelumnya serta pembengkakan praovulasi folikel. Pada fase ini cairan yang terkumpul di dalam uterus akan menyebabkan uterus menjadi sangat kontraktile. Preparat apus vagina didominasi oleh sel-sel epitel berinti, yang muncul secara tunggal atau berbentuk lapisan (Turner 1976).

**Estrus.** Stadium ini merupakan periode birahi. Kopulasi dimungkinkan pada saat ini karena hanya pada fase ini hewan betina mau didekati oleh pejantan. Selama estrus, terjadi perubahan perilaku seperti telinga yang bergerak-gerak dan sikap lordosis dalam menanggapi perlakuan manusia atau mendekatnya hewan jantan. Fase berakhir 9 sampai 15 jam dan dicirikan dengan aktivitas berlari-lari yang sangat tinggi. Dibawah pengaruh FSH, selusin atau lebih folikel ovarium tumbuh dengan cepat, dengan demikian periode ini merupakan periode yang didominasi oleh kadar estrogen yang tinggi. Salah satu fungsi estrogen dapat dilihat pada uterus yang mengalami perbesaran progresif dan mengembung lantaran akumulasi cairan lumen (Turner, 1976). Tingginya kadar estrogen ini akan menekan sekresi FSH dan sebaliknya merupakan umpan balik positif terhadap LH sehingga terjadi lonjakan LH yang sangat tinggi (LH surge) sesaat sebelum ovulasi. Ovulasi terjadi selama estrus dan didahului oleh perubahan histologis di dalam folikel yang menunjukkan adanya luteinisasi awal.

Cairan lumen di dalam uterus banyak yang hilang sebelum ovulasi. Apabila terjadi fertilisasi dan kebuntingan siklus terganggu selama masa gestasi (masa kebuntingan), yang berakhir 20 sampai 22 hari pada tikus. Hewan menjadi estrus pada akhir kebuntingan, namun siklusnya sekali lagi terganggu sampai berakhirnya laktasi (Turner, 1976).

Sel-sel menanduk di dalam preparat apus vagina dipakai sebagai petunjuk estrus. Sel-sel menanduk ini merupakan gambaran banyaknya mitosis yang terjadi di dalam mukosa vagina, lapisan permukaannya menjadi squamosa. Menjelang estrus berakhir, di dalam lumen vagina terdapat massa seperti keju terdiri atas sel-sel menanduk dengan inti berdegenerasi (Turner, 1976).

**Metestrus.** Stadium ini terjadi segera sesudah ovulasi, dan merupakan saat antara estrus dan diestrus yang berakhir 10 sampai 14 jam. Perkawinan biasanya tidak dimungkinkan pada stadium ini. Ovari mengandung korpus luteum yang mengandung sel-sel lutein dan folikel-folikel kecil; vaskularisasi dan kontraktibilitas uterus akan berkurang. Banyak leukosit muncul di dalam lumen vagina bersama dengan sedikit sel-sel menanduk (Turner, 1976). Pada fase ini produksi estrogen mulai berkurang digantikan oleh dominasi hormon progesteron yang dihasilkan oleh sel-sel lutein. Estrogen, progesteron dan inhibin (dihasilkan oleh sel granulosa dari folikel antral yang matang) pada fase ini akan memberikan efek umpan balik negatif terhadap hipotalamus dan hipofisa anterior sehingga menyebabkan

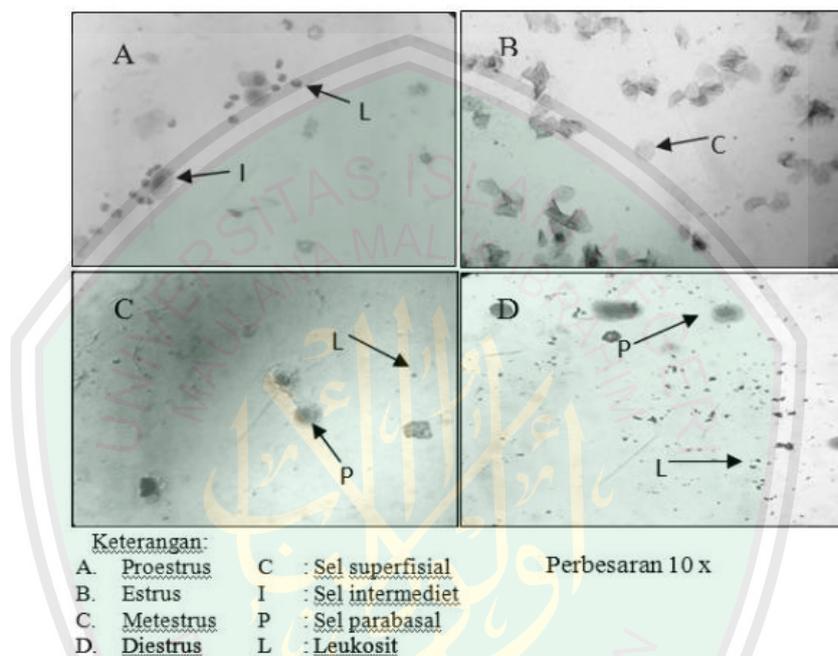
penekanan FSH dan LH serta perkembangan folikel sejenak terhenti (Guyton, 2007).

**Diestrus.** Stadium ini berakhir 60 sampai 70 jam, pada masa tersebut terjadi regresi fungsional korpus luteum. Uterus menjadi kecil, anemik dan sedikit kontraktile. Mukosa vagina tipis dan banyak ditemukannya leukosit pada preparat apus vagina. Pada fase ini terjadi regresi korpus luteum yang mengakibatkan terjadinya penurunan progesteron yang dihasilkan. Rendahnya kadar progesteron dan estrogen pada fase ini akan merangsang kembali hipotalamus dan hipofisa anterior untuk mensekresi FSH dan LH dan siklus berulang ke proestrus. Fase diestrus didominasi oleh sel leukosit dan mulai munculnya sel epitel berinti.

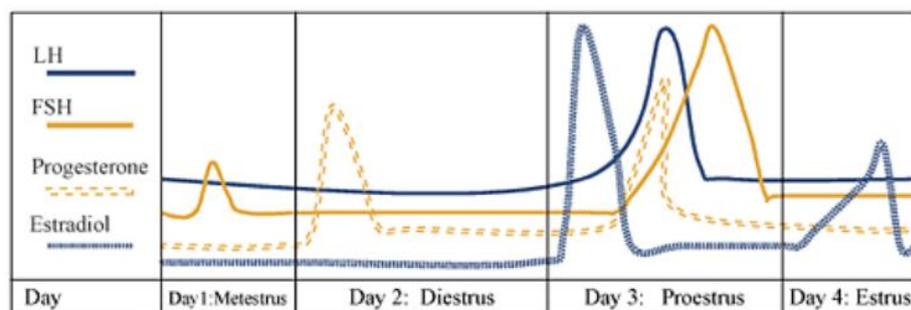
Keempat siklus ini sangat erat kaitannya dengan siklus ovarium. Siklus ovarium terbagi menjadi fase folikular dan fase luteal. Fase proestrus dan estrus terletak di dalam fase folikular. Sedangkan fase metestrus dan diestrus terletak di dalam fase luteal. Di saat fase folikular atas pengaruh dari FSH terjadi pertumbuhan beberapa folikel primordial dalam ovarium. Fase proestrus adalah tingkat perkembangan folikel sampai pertumbuhan maksimal. Fase estrus adalah fase pematangan folikel de Graaf hingga menunggu ovulasi yang ditandai dengan tingginya kadar estrogen dan sekresi LH. Fase metestrus adalah fase pembentukan korpus luteum yaitu badan kuning yang terdiri dari sel-sel teka dan granulosa yang mengalami proliferasi dan diferensiasi menjadi sel-sel lutein atas pengaruh LH. Fase ini ditandai oleh tingginya kadar progesteron yang diperlukan untuk

memelihara kebuntingan jika terjadi fertilisasi. Seandainya tidak terjadi fertilisasi dan kebuntingan maka korpus luteum akan beregresi. Fase ini disebut fase diestrus atau fase istirahat (Guyton, 2007).

Di bawah ini adalah gambaran sitologi vagina tikus selama fase estrus yang ditunjukkan dalam **gambar 2.7** (Sjahfirdi, 2013) :



Berikut adalah profil hormon pituitari dan hormon ovarium dalam plasma darah tikus (*Rattus norvegicus*) sepanjang siklus estrusnya (Emanuele (2002) dalam Prayogha (2012)) :



**Gambar 2.8** Profil hormon pituitari dan hormon ovarium (Prayogha, 2012)

## 2.6 Profil Uterus Tikus Putih

Uterus adalah salah satu saluran reproduksi wanita selain tuba fallopi, serviks dan vagina. Perubahan struktur dan fungsi uterus ditentukan oleh siklus hormonal wanita. Secara histologi, dinding uterus terdiri dari tiga lapisan. Lapisan pertama adalah membran serosa yang merupakan dinding terluar dari uterus. Lapisan kedua adalah miometrium, berupa lapisan otot polos yang terdiri dari tiga lapis dari luar ke dalam yaitu serabut-serabut otot polos yang berjalan longitudinal, lapis tengah yang mengandung urat syaraf dan pembuluh darah, serta lapisan serabut otot polos yang berbentuk sirkular. Lapisan ketiga adalah endometrium, lapisan yang merupakan dinding lumen uterus dan terdiri atas epitel, lapisan kelenjar-kelenjar uterus dan tenunan pengikat (Partodihardjo, 1992).



**Gambar 2.9** Uterus Tikus (Treuting, 2012)

Uterus merupakan organ reproduksi yang memiliki reseptor estrogen (Johnson dan Everitt, 1988; Cooke et al., 1995; Haibin, 2005 dalam Sitasiwi, 2008) sehingga perubahan yang terjadi pada lapisan penyusun

dinding uterus merupakan hasil regulasi hormon, terutama hormon estradiol. Hasil penelitian Sitasiwi (2008) menunjukkan bahwa ukuran tebal endometrium uterus saat fase folikular berjalan seiring dengan kenaikan hormon estradiol.

Berat uterus sangat dipengaruhi oleh tebal endometrium uterus dan secret yang dihasilkan oleh kelenjar uterus. Tebal endometrium uterus merupakan faktor utama yang mempengaruhi berat uterus karena endometrium uterus merupakan lapisan yang paling responsif terhadap perubahan hormon reproduksi, terutama hormon estrogen (Puspitadewi, 2007).

Dalam keadaan di mana tubuh kekurangan estrogen atau tidak menghasilkan estrogen, organ yang berhubungan dengan sistem reproduksi, terutama uterus dapat mengalami atrofi (penyusutan). Estrogen dapat meningkatkan sekresi dan proliferasi kelenjar mukosa uterus dan vagina, sehingga dapat mencegah atrofi uterus (Guyton, 2007).

## **2.7 Kajian Reproduksi Pada Betina**

Di dalam tubuh terdapat berbagai macam sistem yang menunjang hidup seorang manusia sehingga menjadi seimbang. Salah satunya adalah sistem endokrin yang merupakan sistem dasar komunikasi dan regulasi di seluruh tubuh (Campbell, 2010). Sistem endokrin itu sendiri melibatkan hormon. Di mana hormon dihasilkan oleh kelenjar yang terdapat di dalam tubuh manusia.

Al-Qur'an juga telah menjelaskan bahwa Allah ﷻ menciptakan segala sesuatu dengan seimbang dan sesuai ukurannya, sebagaimana Allah telah berfirman dalam surat Al – Qamar ayat 49.

Firman Allah ﷻ :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya :

“*Sesungguhnya Kami **menciptakan segala sesuatu menurut ukuran***” (QS. Al – Qamar : 49).

Al-Jazairi (2007) menjelaskan bahwa dari ayat tersebut terdapat sebuah pemberitahuan dari Allah tentang aturan alam semesta yang telah Dia ciptakan, bahwa segala kejadian yang terjadi di alam ini telah diketahui oleh ilmu Allah dan telah ditentukan.

Hal ini juga ditegaskan kembali dalam surat Al-Infithar ayat 7-8 :

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾ فِي أَيِّ صُورَةٍ مَّا شَاءَ رَكَّبَكَ ﴿٨﴾

Artinya :

“*yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan **menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang**, dalam bentuk apa saja yang Dia kehendaki, Dia menyusun tubuhmu*” (QS. Al – Infithar ayat : 7 – 8).

Pada kalimat yang dicetak tebal, oleh Abdullah (1994) ditafsirkan, yakni bahwa Allah menjadikanmu normal, tegak, mempunyai tubuh yang seimbang, dengan tampilan dan bentuk yang sangat baik.

Konteks ayat di atas apabila dikaji dan dikembangkan secara mendalam dapat dihubungkan dengan hormon yang dibahas dalam penelitian ini. Karena pada hakikatnya hormon berfungsi untuk mempertahankan keseimbangan atau homeostatis tubuh. Salah satunya adalah proses reproduksi yang sangat berkaitan erat dengan mekanisme sistem hormonal.

Dalam surat Ar – Ra'd : 8 Allah ﷻ menjelaskan terkait dengan keadaan rahim wanita. Firman Allah ﷻ :

اللَّهُ يَعْلَمُ مَا تَحْمِلُ كُلُّ أُنْثَىٰ وَمَا تَغِيضُ الْأَرْحَامُ وَمَا تَزْدَادُ ۗ 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”* (QS. Ar – Ra'd : 8).

Al – Jazairi (2007) menjelaskan dalam tafsir Al – Aisar, Firman Allah ﷻ pada ayat (8), *“Allah mengetahui apa yang dikandung oleh setiap perempuan...”* yaitu laki-laki atau perempuan, satu atau dua, kulit putih atau coklat, bahagia atau sengsara. Firman Allah Ta'ala, *“Dan kandungan rahim yang kurang sempurna* (maksudnya, kebiasaannya adalah jika darah haid tidak keluar maka menunjukkan kehamilan, dan keluarnya darah haid menunjukkan tidak adanya kehamilan, penafsiran ayat seperti ini baik sekali, Allah Ta'ala mengetahui kandungan yang kurang sempurna karena kesibukan rahim dengan adanya gumpalan darah dan janin, dan juga Allah mengetahui sesuatu yang lebih dari adanya darah hingga mengalir dan keluar darinya, itu adalah

darah orang yang sedang tidak mengalami kehamilan) Dia mengetahui rahim yang kurang sempurna karena adanya darah haid dan yang bertambah karenanya, maka ketidaksempurnaannya dapat mengurangi usia kehamilan dan bertambahnya dapat menambah usia kehamilan terkadang mencapai satu tahun atau lebih. Firman Allah Ta'ala *“Dan segala sesuatu pada sisi-Nya ada ukurannya.....”* yakni segala sesuatu ada dalam hukum, ketentuan dan aturan-Nya. Yaitu terdapat ukuran tertentu yang tidak akan bertambah atau berkurang dalam dzat, sifat, kondisi, waktu dan tempat.

Apabila dikaitkan dengan embriologi, ayat di atas berhubungan erat dengan siklus reproduksi pada wanita. Karena ayat di atas membahas tentang menstruasi. Di mana menstruasi adalah siklus reproduksi pada mamalia (primata). Selain mamalia (primata), mamalia (non primata) pun juga mengalami siklus reproduksi yang sama, namun biasa dikenal dengan istilah siklus estrus.

Seperti pada pembahasan sebelumnya, bahwa siklus reproduksi sangat erat kaitannya dengan mekanisme hormonal. Sehingga apabila ditelaah lebih lanjut, ada hal menarik yang dapat yang dapat dikaji dari ayat tersebut. Yaitu terjadinya siklus reproduksi yang tidak terlepas oleh peran hormon dalam tubuh. Karena salah satu pelajaran yang dapat diambil dari ayat tersebut adalah besarnya kekuasaan Allah ﷻ dan keluasaan ilmu-Nya. Maka dari itu, perlu kiranya sebagai makhluk yang berakal, kita dapat mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya bidang embriologi yang terkait dengan ayat di atas.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian Post Test Only Control Group Design yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur efek setelah diberikan perlakuan pada beberapa buah kelompok (kontrol dan perlakuan) yang dikondisikan secara identik. Pada kelompok-kelompok tertentu diberikan intervensi sedangkan kelompok yang lain tidak diberikan intervensi. Selanjutnya dibandingkan efek yang terjadi antara kelompok-kelompok tersebut (Yanwirasti, 2008). Desain penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan dengan masing – masing perlakuan sebanyak 4 ulangan.

#### 3.2 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis kelamin betina galur Wistar. Jumlah hewan coba pada penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus Fereder, yaitu :

$$(t-1) (n-1) > 15$$

Pada rumus tersebut, t adalah jumlah perlakuan dan n adalah banyaknya sampel setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dan 4 ulangan. Tikus yang digunakan berasal

dari salah satu peternak tikus putih kota Malang yang berumur 2 bulan dengan berat badan 150 – 200 gram.

### **3.3 Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei – September 2015. Pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang. Pemeliharaan hewan coba akan dilaksanakan di laboratorium Biosistematik. Pembedahan dan pengukuran berat uterus akan dilaksanakan di laboratorium Fisiologi Hewan. Pemeriksaan siklus estrus akan dilaksanakan di laboratorium Optik. Sedangkan pengukuran kadar hormon estrogen akan dilaksanakan di laboratorium Faal Universitas Brawijaya Malang.

### **3.4 Variabel Penelitian**

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban dan ekstrak etanol beluntas (*Pluchea indica* (L.) Urban).

#### **3.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah berupa kadar hormon estrogen (ng/mL) dan berat uterus (mg) tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina fertil dari galur Wistar. Tikus yang digunakan berumur 2 bulan dengan berat rata-rata 105 – 180 gram.

### 3.5 Metode

Metode yang digunakan dalam pengukuran kadar hormon estrogen adalah metode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Sedangkan berat uterus diukur dengan Analisis Berat Basah Uterus (Wet Weight Uterin).

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : Kandang pemeliharaan, timbangan analitik, seperangkat alat bedah, spuit 3 ml, tabung reaksi, corong Buchner, perangkat rotary evaporator vacuum, labu ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, beaker glass 50 ml, beaker glass 500 ml, Erlenmeyer 500 ml, pengaduk gelas, hot plate, corong gelas, pipet tetes, papan seksi, sentrifus, vortex, ependorf, mikropipet, mikro plate, rotary shaker, water bath, kaca film dan spektrofotometer ELISA.

#### 3.6.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina fertil galur Sprague Dawley, ethanol 70%, pelet (SP 1), serbuk daun pegagan (*Centella asiatica*) dan

serbuk daun Beluntas (*Pluchea indica*) yang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu, hormon prostaglandin dengan merek dagang Capriglandin Inj., Na CMC, aquades, serum darah tikus putih betina, Estrogen Enzym Conjugate, Washing solution, TBM Substrat, alumunium foil, Stop solution serta Tisu.

### **3.7 Langkah Kerja**

Langkah kerja dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

#### **3.7.1 Persiapan Hewan Coba**

Sebelum penelitian dilakukan, disiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang meliputi kandang (bak plastik) berbentuk segi empat, sekam, tempat makan dan tempat minum tikus. Hewan coba yang akan digunakan diaklimatisasi selama 1 minggu.

#### **3.7.2 Pembagian Kelompok Sampel**

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit sebagai ulangan. Kelompok perlakuan dibagi sebagai berikut :

1. Kelompok I (kontrol) : Tikus yang diberikan 0,5 ml Na CMC 0,5%.
2. Kelompok II : Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dosis 25 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 25 mg/kg BB + 2,5 ml Na CMC 0,5%.

3. Kelompok III : Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dosis 50 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 50 mg/kg BB + 2,5 ml Na CMC 0,5%.
4. Kelompok IV : Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dosis 75 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 75 mg/kg BB + 2,5 ml Na CMC 0,5%.
5. Kelompok V : Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dosis 125 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 125 mg/kg BB + 2,5 ml Na CMC 0,5%.
6. Kelompok VI : Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dosis 200 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 200 mg/kg BB + 2,5 ml Na CMC 0,5%.

### **3.7.3 Pembuatan Ekstrak**

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara serbuk daun pegagan dan daun beluntas yang telah halus dimaserasi dengan pelarut ethanol 70% selama 24 jam. Serbuk yang telah dimaserasi disaring, selanjutnya filtrat yang diperoleh dipekatkan sampai diperoleh ekstrak kental yang digunakan untuk perlakuan.

### **3.7.4 Pembuatan Na – CMC**

Larutan Na CMC yang akan digunakan pada penelitian ini adalah larutan 4Na CMC 0,5 %. Larutan Na CMC 0,5 % dibuat dengan dengan cara melarutkan 500 mg Na CMC dalam 10 mL aquades panas dan didiamkan selama  $\pm$  10 menit sampai berwarna bening dan berbentuk

menyerupai gel. Selanjutnya diaduk hingga menjadi larutan yang homogen dan diencerkan dengan aquades dalam labu ukur hingga volume 100 mL.

### **3.7.5 Penyerentakan Siklus Birahi**

Penyerentakan siklus birahi dilakukan sebelum pemberian perlakuan kombinasi ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban dan ekstrak etanol beluntas (*Pluchea indica* (L.) Urban. Yakni dengan memberikan prostaglandin (PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ) merek dagang Capriglandin Inj. 0,55 mg yang diinjeksikan secara intramuskular sebanyak 0,1 ml. Pemberian prostaglandin dilakukan 1 kali yaitu 3 hari sebelum masa perlakuan.

### **3.7.6 Pemberian Perlakuan dan Pengambilan Data**

Kombinasi ekstrak etanol pegagan dan beluntas diberikan secara oral dengan cara dicekok menggunakan spuit 3 ml setelah berada pada fase estrus. Pemberian ekstrak dilakukan setiap hari pada pukul 9.00 pagi selama 15 hari sesuai dosis yang telah ditentukan. Setelah 15 hari masa perlakuan, dilakukan pengambilan uterus dan darah tikus dari aorta jantung.

### **3.7.7 Metode Ulas Vagina**

Pembuatan sediaan ulas vagina dilakukan untuk identifikasi dimulainya siklus estrus. Sampel diambil pada awal perlakuan dan akhir perlakuan. Pengambilan sampel menggunakan cotton bud yang dibasahi dengan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9 %, lalu dimasukkan ke dalam vagina tikus betina dan diulas sebanyak 1-2 kali putaran Hasil ulasan dioleskan pada gelas objek dan diwarnai dengan cara pewarnaan Giemsa.

Kemudian dikeringanginkan dan diamati di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 400 x untuk ditentukan fase siklusnya.

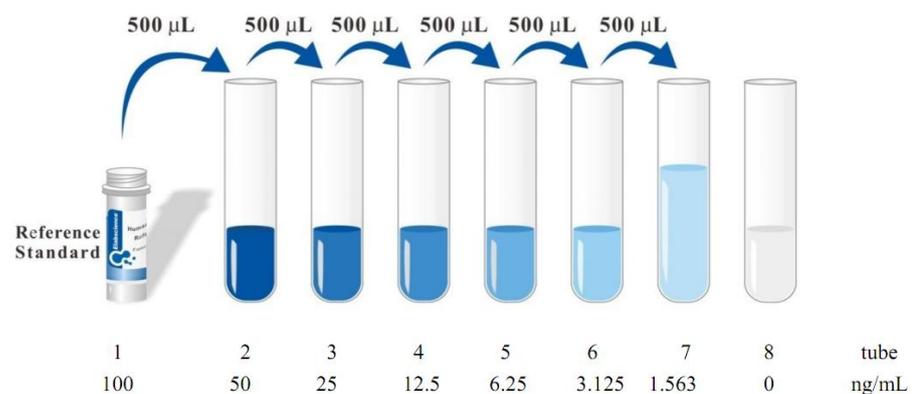
### 3.7.8 Pengumpulan Sampel dan Penyimpanan

Sampel darah diambil dari aorta jantung. Darah hewan coba yang telah diambil kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah diinkubasi, darah selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari pellet dan dimasukkan dalam ependorf yang baru. Kemudian disimpan dalam freezer dengan suhu  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### 3.7.9 Prosedur Uji

Langkah kerja dalam uji Elisa pada pemeriksaan hormon estrogen adalah sebagai berikut :

1. Dithawing sampel (serum darah) agar mencair
2. Disiapkan reference standart dan sample diluent pada tabung kecil. Sebelum digunakan dithawing terlebih dahulu agar mencair
3. Diencerkan standart dengan pengenceran :



Setiap pengenceran, divortex sebentar agar homogen (tercampur dengan sempurna) dan diberi label.

4. Dimasukkan standart sebanyak 50  $\mu\text{L}$ /well pada baris pertama
5. Ditambahkan sampel (serum darah) sebanyak 50  $\mu\text{L}$ /well pada baris kedua dan seterusnya. Sebelum dimasukkan, sampel dihomegenkan terlebih dahulu dengan menggunakan mikropipet.
6. Ditambahkan Biotinyled detection Ab pada setiap sumur sebanyak 50  $\mu\text{L}$ . Kemudian ditutup dan dishaker sebentar ( $\pm 5$  menit)
7. Diinkubasi pada suhu  $37,5^{\circ}\text{C}$  selama 45 menit
8. Ditepuk-tepukkan plate pada tisu
9. Dicuci plate dengan wash buffer menggunakan multi – channel pipet
10. Ditepuk-tepukkan plate pada tisu
11. Diulangi langkah 9 dan 10 sebanyak 5 kali
12. Ditambahkan HRP Conjugate sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada setiap sumur
13. Diinkubasi selama  $37,5^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit
14. Ditepuk-tepukkan plate pada tisu
15. Dicuci plate dengan wash buffer menggunakan multi – channel pipet
16. Ditepuk-tepukkan plate pada tisu
17. Diulangi langkah 15 dan 16 sebanyak 3 kali

18. Ditambahkan substrat sebanyak 90  $\mu\text{L}$  pada setiap sumur
19. Diinkubasi pada suhu 37,5 °C selama 15 menit
20. Ditambahkan dengan stop solution sebanyak 50  $\mu\text{L}$  pada setiap sumur
21. Diukur absorbansinya pada  $\lambda$  450 nm

### **3.8 Analisis Berat Basah Uterus**

Uterus yang telah diambil pada saat pembedahan dicuci dengan menggunakan PBS dan aquades. Kemudian diletakkan diatas kertas saring untuk dibersihkan sisa darah yang masih menempel. Selanjutnya, uterus ditimbang untuk mendapatkan data Berat Basah Uterus (Wet Weight Uterin).

### **3.9 Analisa Data**

Data profil hormonal dan berat basah uterus yang diperoleh dianalisis dengan uji normalitas *Kolmogorov – smirnov*. Apabila data tersebut terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji One Way Anova (signifikansi 5%) untuk melihat apakah terdapat pengaruh kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen dan berat uterus tikus putih. Selanjutnya, apabila terdapat perbedaan yang nyata data dianalisis dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (*LSD Test*).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar Hormon Estrogen Tikus Putih

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan one way anova tentang pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen, diperoleh bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  5%. Hal ini dapat diinterpretasikan bahwa  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, sehingga terdapat pengaruh dari pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan daun beluntas terhadap kadar hormon estrogen. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 4.1 di bawah ini :

Tabel 4.1 Ringkasan one way anova tentang pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen tikus putih

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	5	2027,015	405,403	2,925	2,77
Galat	18	2494,63	138,59056		
Total	23	4521,645			

Dari tabel 4.1 di atas telah diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , sehingga dilakukan uji lanjut menggunakan BNT (Beda Nyata Terkecil) atau yang biasa dikenal dengan uji LSD. Langkah ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh antar perlakuan yang telah diberikan.

Hasil dari uji lanjut BNT tersebut disajikan pada tabel 4.2 di bawah

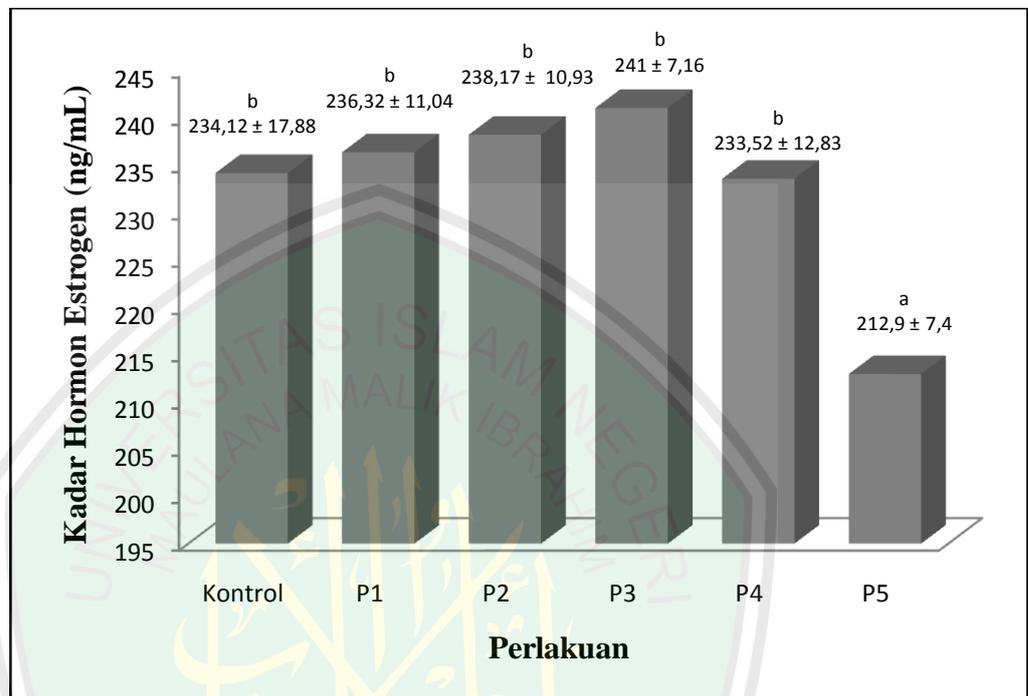
ini :

Tabel 4.2 Ringkasan uji BNT 5% tentang pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen

<b>Perlakuan</b>	<b>Rata-rata (ng/mL)</b>	<b>Notasi</b>
P5 (ekstrak pegagan 200 mg/kg BB + ekstrak beluntas 200 mg/kg BB)	212,9 ± 7,4	a
P4 (ekstrak pegagan 125 mg/kg BB + ekstrak beluntas 125 mg/kg BB)	233,52 ± 12,83	b
Kontrol	234,12 ± 17,88	b
P1 (ekstrak pegagan 25 mg/kg BB + ekstrak beluntas 25 mg/kg BB)	236,32 ± 11,04	b
P2 (ekstrak pegagan 50 mg/kg BB + ekstrak beluntas 50 mg/kg BB)	238,17 ± 10,93	b
P3 (ekstrak pegagan 75 mg/kg BB + ekstrak beluntas 75 mg/kg BB)	241 ± 7,16	b

Keterangan : Nilai BNT 5% adalah 17,49

Notasi pada tabel 4.2 di atas menunjukkan bahwa P5 berbeda nyata dengan kontrol dan semua perlakuan yakni P1, P2, P3 serta P4. Hal ini juga dapat dilihat dari grafik di bawah ini :



Gambar 4.1 Rata-rata kadar hormon estrogen (ng/mL)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, setelah pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas diperoleh hasil bahwa kadar estrogen mengalami penurunan pada perlakuan P4 dan P5. Sedangkan pada perlakuan P1, P2, dan P3 kadar estrogen mengalami peningkatan. Meskipun penurunan dan peningkatan ini memiliki selisih yang tidak berbeda jauh dengan kontrol.

Selisih pemberian dosis antara perlakuan P1, P2 dan P3 adalah 25 mg/Kg BB, sehingga kadar hormon estrogen pada perlakuan P1, P2, dan P3 mengalami peningkatan yang cukup stabil. Sedangkan pada dosis yang

semakin tinggi yakni P4 yang memiliki selisih dosis 50 mg/Kg BB dengan perlakuan P3, menyebabkan kadar hormon estrogennya mengalami penurunan. Hal yang sama juga terjadi pada perlakuan P5 yang memiliki selisih dosis 75 mg/Kg BB dengan dosis P4, di mana kadar hormon estrogennya mengalami penurunan yang cukup tajam, sehingga hasilnya berbeda nyata dengan kontrol dan perlakuan lainnya.

Perbedaan hasil tersebut diduga karena kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak yang digunakan. Penggunaan dosis yang bervariasi menyebabkan kandungan dalam masing-masing dosis pun juga bervariasi, sehingga akan diperoleh hasil yang berbeda-beda.

Pegagan memiliki berbagai macam kandungan senyawa dengan masing-masing fungsi pula. Berbagai dosis yang diberikan masing-masing memiliki pengaruh yang berbeda, khususnya pada dosis 200 mg/Kg BB yang mampu menurunkan kadar hormon estrogen secara signifikan. Namun, penggunaan dosis yang tinggi pada pegagan diduga memiliki sifat toksik, sehingga pemakaiannya harus hati-hati. Hal ini juga dapat menyebabkan orang yang mengonsumsinya menjadi pusing.

Estrogen sendiri mempunyai 2 jenis reseptor yaitu reseptor alfa ( $RE\alpha$ ) dan beta ( $RE\beta$ ). Reseptor  $\alpha$  terdapat pada organ ovarium, payudara, uterus, testis, hipofisis, ginjal, epididimis, dan adrenal sedangkan pada reseptor  $\beta$  ditemukan pada organ ovarium (Ganong, 2003).

Pada penelitian Andria (2012), kadar hormon estrogen pada tikus putih mengalami penurunan setelah pemberian ekstrak daun pegagan

dengan dosis 560 mg, 630 mg dan 700 mg. Terjadinya penurunan kadar hormon estrogen ini dikarenakan pada daun pegagan mengandung triterpenoid saponin. Triterpenoid saponin mengandung steroid yaitu diosgenin atau yang sering disebut dengan genin. Genin dapat diubah menjadi progesteron melalui proses kimia yang akan menghasilkan testosteron dan estrogen.

Progesteron dibentuk dari pregnenolon melalui penghilangan atom hydrogen dari  $C_3$  dan pergeseran ikatan ganda dari cincin B pada posisi 5-6 ke cincin A pada posisi 4-5, perubahan ini terjadi karena adanya bantuan enzyme  $3\beta$  hidroksi dehidrogenase dan  $\Delta^{4-5}$  isomerase. Selanjutnya dengan bantuan enzyme  $17\alpha$  hidroksilase, progesteron akan diubah menjadi  $17\alpha$  hidroksi progesteron yang kemudian mengalami demolase menjadi bentuk testosteron. Dan selanjutnya, testosteron mengalami aromatisasi, yakni pembentukan gugus hidroksi fenolik pada atom ( $C_3$ ) menjadi estrogen (Andria, 2012).

Kadar estrogen yang tinggi akan menghambat (inhibin) hipofisis anterior dengan umpan balik negatif, sehingga hormon FSH dan LH tidak dikeluarkan oleh hipofisis anterior. Hal inilah yang akan mengganggu proses perkembangan sel folikel ovarium, sehingga kadar estrogen menjadi menurun dan ovulasi tidak terjadi (Andria, 2012). Hal inilah yang kemungkinan menyebabkan hormon estrogen mengalami penurunan.

Di sisi lain dalam penelitian Andria (2012), bahwa kandungan asam asiatik pada pegagan diduga bersifat sitotoksik bila kadarnya dalam

darah berlebihan, sehingga akan menyebabkan apoptosis sel pada folikel ovarium. Apoptosis sel pada folikel yang terjadi akibat asam asiatik dimulai dengan rusaknya mitokondria sehingga sitokrom C akan terdisosiasi dari membran mitokondria. Akibatnya permukaan sel akan menggelembung seperti balon dan kromatin (DNA bersama proteinnya) mengalami degradasi. Protein yang dihasilkan mirip dengan protein Bcl 2 yang menyebabkan sel meningkatkan produksi Bcl 2 sendiri, hal ini membuat sel menjadi rentan terhadap apoptosis. Protein Bcl 2 terdapat pada sel granulosa yang dapat mengakibatkan folikel atresia. Atresia folikel mengakibatkan berhentinya mitosis pada sel granulosa.

Hal ini ditegaskan oleh Singh (2010) bahwa pemberian oral secara parsial ekstrak kasar pegagan dan fraksi yang telah dimurnikan dapat menginduksi apoptosis yang kuat. Delbo (2010) menambahkan kurangnya informasi yang rinci tentang toksisitas sistem reproduksi dan teratologi. Sebuah investigasi fertilitas *in vitro* menunjukkan efek yang merusak dari asiatikosida pada manusia dan sperma tikus. Pemberian oral ekstrak kasar pegagan juga dilaporkan mempunyai efek menurunkan fertilitas tikus betina dengan signifikan.

Daun beluntas mengandung senyawa aktif berupa tanin, alkaloid dan flavonoid. Menurut Satyaningtijas (2014), zat flavonoid yang dikandung oleh beluntas merupakan suatu senyawa yang bersifat estrogenik, yang mampu berfungsi seperti estrogen dalam tubuh yang akan meningkatkan efek estrogen. Flavonoid yang bersifat estrogenik dapat

menduduki reseptor estrogen yang berada di dalam tubuh dan menimbulkan efek seperti estrogen.

Bahan estrogenik diduga mampu meningkatkan kadar estrogen di dalam darah. Oleh karena tingginya kadar estrogen dalam darah dapat menghambat hipofisis dalam mensekresikan hormon gonadotropin (FSH) melalui umpan balik negatif, sehingga kadar FSH menjadi menurun dan mengakibatkan terhambatnya perkembangan folikel di dalam ovarium.

Selain itu menurut Widyawati (2010) senyawa fenolik, terutama flavonoid mampu menangkap radikal bebas, mereduksi, mendonorkan atom hidrogen dan meredam oksigen singlet. Potensial antioksidan flavonoid tergantung pada karakteristik struktur seperti jumlah dan pola substitusi gugus hidroksil dan jumlah gugus hidroksil yang tersubstitusi glikosida.

Kemampuan menangkap radikal bebas merupakan salah satu mekanisme aksi utama antioksidan yang ditunjukkan oleh fitokimia fenolik. Flavonoid diperlukan sel folikel ovarium untuk menjaga dari kerusakan atau toksik dari kandungan asam asiatik ekstrak pegagan.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan adalah ketertarikan besar untuk medical science, stress oksidatif saat ini dianggap sebagai faktor kritis pada pathogenesis dari berbagai penyakit. Jenis oksigen reaktif (ROSs) adalah radikal bebas dan hal tersebut dapat dibaca sebagai kerusakan berat pada DNA, protein dan lipid pada sel manusia (Suriyaphan, 2014).

Hasil pengujian kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dari ekstrak daun beluntas dan fraksi-fraksinya dibandingkan dengan antioksidan alami (ekstrak teh hijau dan rosemary) dan antioksidan sintetis (BHT dan alfa tokoferol suksinat) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat paling berpotensi sebagai antioksidan alami dari daun beluntas (Widyawati, 2010).

Penggunaan kombinasi sendiri lebih bagus karena saling melengkapi. Jadi, ketika suatu obat itu menyembuhkan tidak akan menimbulkan efek negatif. Seperti yang diketahui, kandungan asam asiatik pada pegagan diduga bersifat sitotoksik apabila kadarnya dalam darah berlebihan sehingga akan menyebabkan apoptosis sel. Namun, hal ini dapat dihindari karena kandungan flavonoid dan fenol dalam beluntas memiliki aktivitas antioksidan.

Pemanfaatan bahan tanaman masih merupakan prioritas untuk diteliti mengingat bahan obat-obatan yang berasal dari tanaman mempunyai keuntungan tersendiri yaitu toksisitasnya rendah, mudah diperoleh, murah dan lebih aman dari efek samping. Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas dosis 200 mg/Kg BB dapat digunakan sebagai salah satu bahan antifertilitas dikarenakan mampu menurunkan kadar hormon estrogennya yang signifikan.

Namun, penggunaan bahan yang berasal tanaman perlu diperhatikan pengaruhnya terhadap sistem reproduksi baik pada pria maupun wanita. Obat yang baik adalah obat yang bersifat sementara

(reversible). Sehingga ketika obat tidak digunakan lagi sistem reproduksinya akan normal kembali.

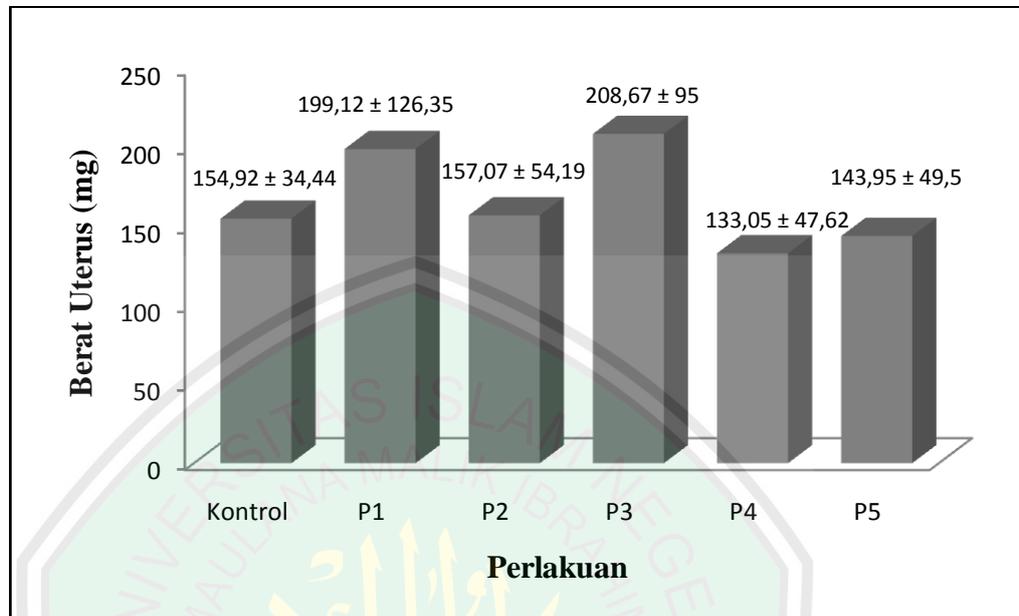
#### 4.2 Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Berat Uterus Tikus Putih

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan one way anova, dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$ . Hal ini menunjukkan bahwa  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak, sehingga tidak terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan ekstrak daun beluntas terhadap berat uterus pada  $\alpha = 5\%$ .

Tabel 4.3 Ringkasan one way anova tentang pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas terhadap berat uterus tikus putih

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	5	18770,123	3754,024667	0,666	2,77
Galat	18	101486,45	5638,136111		
Total	23	120256,57			

Untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar perlakuan yang telah diberikan dapat dilihat pada grafik di bawah ini :



Gambar 4.2 Rata-rata berat uterus

**Keterangan :**

- P1 : Dosis 25 mg/Kg BB
- P2 : Dosis 50 mg/Kg BB
- P3 : Dosis 75 mg/Kg BB
- P4 : Dosis 125 mg/Kg BB
- P5 : Dosis 200 mg/Kg BB

Grafik 4.2 di atas menunjukkan bahwa pada perlakuan P4 dan P5 memiliki rata-rata berat uterus yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan yang lain. Sedangkan perlakuan P1, P2 dan P3 memiliki rata-rata berat uterus yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, perlakuan P4 dan P5. Akan tetapi, hasil tersebut tidak berbeda nyata pada  $\alpha = 5\%$ , sehingga tidak dapat dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT.

Beberapa perlakuan yang telah diberikan mampu menurunkan dan meningkatkan berat uterus tikus putih, meskipun secara statistik tidak berbeda nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan dapat bekerja melalui dua cara, yaitu melalui sistem hormonal atau langsung bereaksi pada organ reproduksi. Target agensia organ reproduksi terdiri dari ovarium, saluran reproduksi betina (oviduk, uterus, serviks, saluran vagina) dan bagian luar alat kelamin.

Berat uterus sangat dipengaruhi oleh tebal endometrium uterus dan secret yang dihasilkan oleh kelenjar uterus. Tebal endometrium uterus merupakan faktor utama yang mempengaruhi berat uterus karena endometrium uterus merupakan lapisan yang paling responsif terhadap perubahan hormon reproduksi, terutama hormon estrogen.

Triterpenoid saponin bekerja dalam cara yang sama dengan estrogen, yaitu berikatan pada ER dan kompleks reseptor ligand untuk menginduksi ekspresi dari gen yang responsif terhadap estrogen, sehingga terjadi peningkatan massa uterus.

Cooke (1998) menyatakan bahwa aktivitas estrogenik hormon estrogen akan mempengaruhi aktivitas proliferasi pada sel stroma dan sel epitelium. Mekanisme estrogen dalam mempengaruhi aktivitas proliferasi sel yaitu, hormon estrogen akan berikatan dengan reseptor hormon pada sel target sehingga mampu mengubah konformasi reseptor hormon. Perubahan konformasi ini menyebabkan kompleks estrogen-reseptor menjadi aktif sehingga mampu berikatan dengan tempat pengikatan (site binding) pada

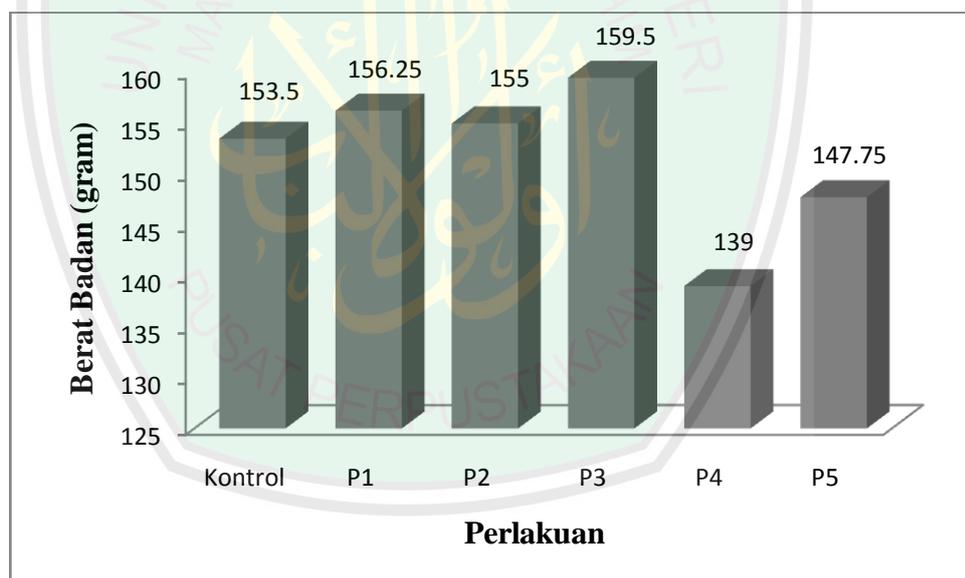
rantai DNA, khususnya pada sisi akseptor. Interaksi antara kompleks estrogen-reseptor dengan sisi akseptor DNA menyebabkan ekspresi gen menjadi meningkat. Ekspresi gen ini dikatalisis oleh enzim RNA polymerase yang menyebabkan peningkatan mRNA. Pada sisi lain sintesis tRNA juga akan meningkat sehingga pada akhirnya sintesis materi sel menjadi meningkat yang mendukung aktivitas proliferasi sel (Nurliani, 2007).

Prinsip kerja hormon sendiri dipengaruhi oleh reseptor. Hormon hanya akan bekerja seandainya di dalam sel target memiliki reseptor hormon tersebut (Ganong 2003). Triterpenoid saponin meskipun bukan hormon namun karena strukturnya yang mirip dengan estrogen dapat pula menduduki reseptor estrogen dan mampu menimbulkan efek layaknya estrogen endogenous sendiri. Organ yang dipengaruhi antara lain adalah ovarium, uterus, testis, prostat, dan beberapa organ lainnya. Walaupun afinitas terhadap reseptor estrogen tidak setinggi estradiol namun suatu karena strukturnya yang mirip estrogen sehingga mampu menimbulkan efek estrogenik (Putra, 2009). Kim et al. (1998) berpendapat aktivitas dan implikasi klinis senyawa aktif tersebut sangat tergantung pada jumlah reseptor estrogen, letak reseptor estrogen, dan konsentrasi estrogen endogen yang mampu bersaing.

Namun efek ini tidak diperoleh setelah masa perlakuan. Hal ini dikarenakan secara statistik tidak terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas.

Hasil penelitian di atas apabila dibandingkan dengan literatur akan sesuai. Sitaswi (2008) dalam jurnalnya menyatakan, di mana turunnya konsentrasi estrogen dalam darah menyebabkan tidak terjadinya penebalan endometrium dan kelenjar uterus berada dalam keadaan tidak mengeluarkan sekresi. Hal ini tentunya akan berpengaruh pada hasil penimbangan berat uterus.

Perbedaan berat badan juga diketahui merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan perbedaan berat uterus. Seperti yang disajikan pada grafik 4.3 di bawah ini, bahwa rata-rata berat uterus memiliki tampilan grafik yang sama dengan tampilan grafik berat badan.



Gambar 4.3 Rata-rata berat badan tikus putih (gram)

Hal inilah yang kemungkinan menyebabkan grafik antara kadar hormon estrogen dan berat uterus memiliki tampilan yang berbeda. Sedangkan tidak terjadinya penurunan berat uterus yang secara signifikan

dikarenakan uterus merupakan suatu organ, di mana dibutuhkan banyak faktor untuk menyebabkan turunnya berat uterus secara signifikan.

Berdasarkan mekanisme senyawa bioaktif yang terkandung dalam kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas tersebut, sehingga mampu mempengaruhi hasil penimbangan berat uterus. Meskipun hasil analisis statistik menunjukkan hasil yang tidak signifikan, namun dari hasil tersebut telah menunjukkan bahwa senyawa aktif pada kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas mampu memberikan efek estrogenik. Akan tetapi efek estrogenik yang terdapat pada kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas belum dapat mempengaruhi aktivitas sel-sel epitel uterus. Sehingga berat uterusnya belum turun secara signifikan.

Hal ini juga dimungkinkan karena pada dosis tersebut, senyawa estrogen yang dikandung belum mencukupi untuk berikatan dengan reseptor estrogen yang ada, sehingga belum memberikan perkembangan uterus yang bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

#### **4.3 Kajian Al-Quran dan As-Sunah Terkait Hasil Penelitian**

Tumbuhan merupakan salah satu sumber kehidupan di bumi. Berbagai macam manfaat tumbuhan untuk menunjang kehidupan makhluk hidup khususnya manusia sehari-hari antara lain sebagai bahan makanan, bahan sandang, bahan obat-obatan, bahan pewarna tekstil maupun pewarna makanan, bahkan tumbuhan juga digunakan untuk menjadi pelengkap dari upacara adat istiadat.

Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan tumbuhan sebagai bahan obat-obatan. Hal ini karena menggunakan obat-obatan berbahan alami lebih aman, murah, dan efisien. Di antara tumbuhan yang telah lama digunakan sebagai bahan obat-obatan adalah pegagan dan beluntas, baik digunakan secara tunggal maupun kombinasi.

Kombinasi daun pegagan dan beluntas telah digunakan sejak lama oleh masyarakat Sumatra Barat yakni sebagai bahan fertilitas. Namun, banyaknya pemakaian bahan masih dalam ukuran tradisional misalnya hanya dikatakan secukupnya atau sekian genggam (Sa'roni, 2012).

Pegagan dan beluntas mengandung sejumlah zat aktif yang mampu memberikatan efek fertilitas maupun antifertilitas pada tikus betina dengan dosis tertentu. Menurut Nurliani (2007) senyawa sejenis saponin, alkaloid dan triterpenoid diduga ikut masuk dalam jalur biosintesis steroid terutama hormon estrogen sehingga akan dihasilkan bahan yang strukturnya mirip dengan hormon tersebut. Selanjutnya bahan ini disekresi bersama hormon tersebut menuju sel target. Pada sel target bahan tersebut akan masuk menuju sel bersama hormon, selanjutnya akan menempati reseptor hormon, akibatnya aksi hormon pada sel target akan berkurang.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa kombinasi ekstrak daun pegagan dan daun beluntas pada perlakuan P1, P2, dan P3 mampu menaikkan kadar hormon estrogen, akan tetapi pada perlakuan P4 dan P5 mampu menurunkan kadar hormon estrogen dalam darah. Sedangkan terhadap berat uterus pada dosis perlakuan P1, P2, dan P3

mampu menaikkan berat basahnya, dan pada perlakuan P4 dan P5 mampu menurunkan berat uterus tikus putih. Dari hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas dapat digunakan sebagai bahan fertilitas dan bahan antifertilitas pada dosis tertentu.

Berbagai manfaat tumbuhan-tumbuhan yang berlainan tersebut sudah ditetapkan oleh Allah sebagaimana firman-Nya dalam surat Ar-Ra'd ayat 4. Firman Allah ﷻ:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَجَبَّرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ وَصِنَوَانٌ وَغَيْرُ  
صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لُبَّعُضَهَا عَلَىٰ بَعْضِ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي  
ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٤﴾

Artinya :

*“Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir”* (Ar – Ra'd : 4).

Al-Qarni (2007) dalam tafsir Al-Muyassar menjelaskan, bahwa di bumi ini tanaman memiliki rasa, warna dan ukuran buahnya berbeda-beda antara satu dengan lainnya. Ada yang manis, asam, putih, hitam, merah, hijau dan lainnya.

Hal ini merupakan dalil yang kuat dan ayat yang nyata tentang kekuasaan Allah ﷻ bagi orang yang mempunyai kalbu (bathin) yang dapat

berfikir. Dengan demikian, ia pun mendapat petunjuk untuk menaati dan mengimani Rabb-Nya (Al – Qarni, 2007).

Dalam bukunya, Al – Jazairi (2007) menafsirkan, firman Allah ﷻ, “*Sesungguhnya pada yang demikian itu ...*” yang telah disebutkan tadi berupa bagian-bagian yang berdampingan dengan perbedaan baik dan buruknya, kebun-kebun anggur, korma lalu diairi dengan air yang sama dan juga memiliki perbedaan rasa, bau serta manfaatnya. Ini adalah bukti nyata yang menunjukkan kepada kita suatu kewajiban untuk beriman kepada Allah, mengesankan-Nya dan beriman dengan hari pertemuan dengan-Nya.

Pelajaran yang dapat diambil dari surat Ar – Ra’d ayat 4 ini di antaranya adalah keutamaan berfikir terhadap ayat-ayat kauniyah, dan juga keutamaan akal untuk mencari petunjuk agar dapat mengetahui kebenaran dan mengikutinya, yang akan mengantarkan kepada kebahagiaan dan kesempurnaan (Al – Jazairi, 2007).

Dari tafsir ayat di atas, dengan jelas Allah memerintahkan kita sebagai makhluk yang berakal untuk merenungkan ciptaan-Nya yang berbeda antara satu dengan yang lainnya. Di mana pada peristiwa demikian terdapat suatu pelajaran penting yang dapat dikembangkan melalui ilmu sains yang kita pelajari. Karena Allah tidak akan menciptakan segala sesuatu dengan sia-sia.

Sebagaimana firman Allah ﷻ dalam surat Ali – Imran ayat 190 –

191 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي  
 الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ  
 فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا  
 عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya :

“ Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal,. (Yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): **"Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka"** (QS. Ali – Imran : 190 -191).

Dalam tafsir Al – Aisar pada Ali – Imran pada kalimat “*Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia...*”, maksudnya adalah sia-sia tanpa adanya hikmah yang bisa dijadikan pelajaran dan tanpa ada tujuan. Engkau menciptakan segalanya untuk tujuan-tujuan yang sangat luhur dan mulia. Dan dari ayat ini dapat diambil pelajaran yakni kewajiban memikirkan (*tafakkur*) tentang penciptaan langit dan bumi, agar dapat menambah keimanan dan keyakinan (Al – Jazairi, 2007).

Dari ayat di atas dapat diketahui bahwa Allah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan pasti memiliki manfaat apabila kita mau memikirkannya. Seperti yang disebutkan sebelumnya, di antaranya dapat

digunakan sebagai bahan makanan, bahan sandang, maupun bahan obat-obatan.

Allah pun berjanji dalam kitab-Nya pada surat As – Syu'araa' ayat 7 bahwa semua tumbuhan yang diciptakannya bermanfaat. Firman Allah ﷻ:

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

Artinya :

“ dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan **yang baik?**” (QS. As – syu'araa' : 7).

Dalam tafsir Al-Misbah, kata karim antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Dari ayat di atas dapat diketahui bahwa Allah tidak menciptakan segala sesuatu tanpa alasan dan manfaat. Di mana di dalamnya pasti terdapat suatu pelajaran yang dapat diambil asalkan kita mau berfikir. Karena pada akhir ayat sebelumnya telah disebutkan, bahwa terdapat tanda – tanda kebesaran Allah bagi kaum yang berfikir. Sehingga kita harus mampu mengembangkan tumbuhan tersebut menjadi suatu bentuk lain yang memiliki nilai guna dalam suatu penelitian yang sesuai dengan syariat islam. Karena sebagai makhluk yang berakal dan sebagai mahasiswa yang telah dibekali dengan berbagai ilmu pengetahuan, sudah semestinya mampu mengintegrasikan antara keduanya (sains dan agama).

Salah satu cara memanfaatkan tumbuhan adalah sebagai bahan obat. Dalam suatu hadits juga disebutkan pengobatan suatu penyakit dapat dilakukan dengan berbagai alternatif. Dan ini merupakan suatu ikhtiar yang harus dilakukan. Sebagaimana hadits Nabi ﷺ :

كنت عند النبي صلى الله عليه وسلم ، وجاءت الاعراب ، فقال : يَا رَسُولَ اللَّهِ ، أَتَتَدَاوَى ؟ فقال : نَعَمْ يَا عِبَادَ اللَّهِ ، تَدَاوَوْا ، فَإِنَّ اللَّهَ عَزَّ وَجَلَّ لَمْ يَصْنَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً غَيْرُ دَاءٍ وَاحِدٍ . قَالُوا : مَا هُوَ ؟ الهرم

Artinya :

“Aku pernah berada di samping Rasulullah ﷺ. Lalu datanglah serombongan Arab dusun. Mereka bertanya, “Wahai Rasulullah, bolehkah kami berobat ?” Beliau menjawab : “Iya, wahai para hamba Allah, berobatlah. Sebab Allah Subhanahu wa Ta’ala tidaklah meletakkan sebuah penyakit melainkan meletakkan pula obatnya, kecuali satu penyakit.” Mereka bertanya : “Penyakit apa itu ?” beliau menjawab : “Penyakit tua.” (No : 1961 , HR. Ahmad, Al – Bukhari dalam Al – Adabul mufrad, Abu Dawud, Ibnu Majah, dan At-Tirmidzi, beliau berkata bahwa hadits ini hasan shahih. Syaikh Muqbil bin Hadi Al – Wadi’I menshahihkan hadits ini dalam kitabnya Al – Jami’ Ash – Shahih mimma Laisa fish Shahihain, 4/486).

Bangsa Indonesia telah lama menggunakan tanaman sebagai bahan obat dalam menanggulangi berbagai masalah kesehatan. Alternatif ini dipilih karena dianggap relatif lebih murah, efisien dan lebih aman dari efek samping dibandingkan dengan obat sintetik.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diketahui, bahwasanya pada tumbuh-tumbuhan yang telah diciptakan oleh Allah, tidak hanya dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan pemandangan semata, namun di dalamnya terdapat manfaat lain yakni dapat digunakan sebagai

obat. Di mana obat ini lebih aman, murah, dan mudah diperoleh. Selain itu penggunaan obat berbahan tradisional ini juga diharapkan mampu bersifat sementara. Sehingga, apabila sudah tidak digunakan keadaan reproduksinya akan kembali normal.



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas terhadap kadar hormon estrogen. Sedangkan terhadap berat uterus, pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas tidak berpengaruh.

#### **5.2 Saran**

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan sampel dan objek yang sama untuk pengukuran kadar hormon estrogen dan berat uterus pada setiap fase (proestrus, diestrus, estrus dan metestrus).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah bin Muhammad. 1994. *Tafsir Ibnu Katsir*. Penerjemah : M. Abdul Ghofar dan Abu Ihsan Al-Atsari. Jakarta : Pustaka Amam Asy-Syafi'i
- Adib, Abu. 2012. *Allah Menurunkan Penyakit dan Obatnya*. <http://www.AllahMenurunkanPenyakitdanObatnya.wordpress.com/history.htm>. diakses tanggal 8 Januari 2015 pukul 10:35 WIB
- Al-Farisi, I. 2014. Penggunaan Tubektomi Di Desa Noreh Kecamatan Sreseh Kabupaten Sampang. *Skripsi*. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar Jilid 3*. Jakarta : Darus Sunnah
- Al-Maraghyi, Ahmad Musthafa. 1987. *Tafsir Al-Maraghyi*. Semarang : Toha Putra
- Al-Qarni, Aidh. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta : Qisthi Press
- Al-Quran dan Terjemahannya Add-Ins. *Quran In Word Ver 1.0.0. Created by Mohamad Taufiq*
- Andria, Yulianti. 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L) Urban) Terhadap Kadar Hormon Estradiol dan Kadar Hormon Progesteron Tikus Putih (Rattus norvegicus) Betina : Tesis*. Program Studi Ilmu Biomedik
- Ardiansyah. 2005. *Daun Beluntas Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*. Artikel IPTEK Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan
- Arpia. 2007. *Centella asiatica*. *Alternative Medicine Review*. Vol. 12 No. 1
- Baziad, Ali 2003. *Menopause dan Andropause Edisi 1*. Jakarta : Erlangga
- Campbell, N. A. 2010. *Biologi Edisi ke 8 Jilid III*. Erlangga. Jakarta
- Cooke, Paul S, Buchanan, David L., Lubahn, Dennis B., Cunha, Gerald. 1998. *Mechanism of Estrogen Action : Lessons from the Estrogen Receptor- $\alpha$  Knockout Mouse*. *Biology of Reproduction* 59. 470–475. Urbana
- Dalimarta, Setiawan. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia : Jilid 2 Cetakan ke-IV*. Trubus Agriwidya. Jakarta
- Delbo, Marisa. 2010. Assessment report on *Centella asiatica* (L.) Urban, herba. *European Medicines Agency Science Medicines Health*

- Edeoga, 2005. Phytochemical Constituents Of Some Nigerian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 4. No. 7. Page : 685-688
- Fajriaty, Inarah. 2008. Pengaruh Rebusan Daun Beluntas (*Pluchea indica*. L.Less) terhadap Siklus Estrus dan Jumlah Kelahiran Janin pada Tikus Betina Galur Wistar : *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia
- Fitriyah. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Malang : UIN Maulana Maliki Ibrahim
- Ganong, W.F. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC
- Guyton, A. C dan Hall, J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC
- Hadley, M.E. 2000. *Endocrinology ed. Ke – 5*. Prentice – Hall, Inc., New Jersey
- Harris. 2009. Peran Capsaicin dalam Mempercepat Penyembuhan Ulkus pada Lambung yang Diberi Paparan Deksametason : Suatu Studi Pada Tikus. *Skripsi*. Jakarta : Fakultas Kedokteran Program Pendidikan Dokter Umum Jakarta FK UI
- Hedrich HJ. 2006. Taxonomy and Stock and Strains. *J Lab Rat*. Page : 71-92
- Hidayat, S. dan J.R. Hutapea. 1991. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI
- Husaeni, H. Rijal Kamaluddin. 2008. *Efek Ekstrak Air Buah Tin (Ficus carica L.) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus L.) yang Diinduksi Aloksan Monohidrat : Tesis*. Bandung : Program Studi Kimia Institut Teknologi Bandung
- Jacob, TZ and Baziad A. 1994. *Endokrinologi Reproduksi Edisi ke-1*. Jakarta: KSERI
- James, Jacinda T. and Ian A. Dubery. 2009. Pentacyclic Triterpenoids from the Medicinal Herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. *Review. Molecules*. Vol. 14. Page : 3922-3941
- Januwati, M. dan M. Yusron. 2005. *Budidaya Tanaman Pegagan. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika

- Jondriatno, D. 2012. *Efektivitas Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng (Pimpinella alpina) pada Hari 1-13 Kebuntingan terhadap Keberhasilan Implantasi pada Tikus Putih (Rattus sp.). Skripsi.* Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Kapsul. 2007. Kadar Testosteron Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Mengonsumsi Buah Terong (*Solanum torvum*). *Bioscientiae*. Vol. 4. No. 1. Hal : 1-8
- Kim H, Peterson TG, and Barnes S. 1998. Mechanism of action of the soy isoflavone genestein : emerging role of its effects through transforming growth factor beta signaling. *Am J Clin Nutr*. 68 : 1418S-1425S
- Kim, Wan Joo, Jaehoon Kim, Bambang Veriansyaha, Jae-Duck Kim, Youn-Woo Lee, Seong-Geun Oh, Raymond R. Tjandrawinata. 2009. Extraction of Bioactive Components from *Centella asiatica* using subcritical water. *J. of Supercritical Fluids*. Vol. 48. Page : 211-216
- Limbong, Theresia. 2007. *Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakettu (Ficus superba Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (Mus musculus)*. Dalam abstrak jurnal penelitian. Surabaya : Universitas Erlangga
- Lusiana, Fatmah Dhahir dan Masrianih. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) Galur Ddy. *e-Jipbiol*. Vol. 2. Hal : 24-29
- Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakkan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press
- Nurliani, Anni. 2007. Penelusuran Potensi Antifertilitas Kulit Kayu Durian (*Dueio zibethinus* Murr) Melalui Skrinning Fitokimia. *Sains dan terapan Kimia*. Vol. 1. No. 2. Hal : 53-58
- Nurliani, Bermawie, Susi dan Mardiana. 2008. Keragaman Sifat Morfologi, Hasil dan Mutu Plasma Nutfah Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.). Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. *Bul. Litro*. Vol. 19. No. 1. Hal : 1-17
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta : Mutiara Sumber Widya
- Prayogha, Putri Krida Gita. 2012. *Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus Tikus (Rattus norvegicus) Betina Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) : Skripsi.* Depok : Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

- Pujowati, Penny. 2006. Pengenalan Ragam Tanaman Lanskap Asteraceae (Compositae). *Tesis*. Bogor : Departemen Arsitektur Lanskap Fakultas Pertanian ITB
- Puspitadewi, Sinthia dan Sunarno. 2007. Potensi Agensia Anti Fertilitas Biji Tanaman Jarak (*Jatropha curcas*) dalam Mempengaruhi Profil Uterus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster. *Jurnal Sains dan Matematika*. Vol. 15. No. 2. Hal : 1-6
- Putra, Adriyan Permana. 2009. Efektivitas Pemberian Kedelai pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Bunting dan Menyusui terhadap Pertumbuhan dan Kinerja Reproduksi Anak Tikus Betina. *Skripsi*. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor
- Rat Systematics. 2004. *History of Norway Rat (Rattus norvegicus)*. <http://www.ratbehavior.org/history.org/history.htm>. diakses 11 Februari 2015, pukul . 20:25 WIB
- Robinson, T. 2003. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB
- Rukmana, Rizal Maarif. 2010. *Pengaruh Ekstrak Beluntas (Pluchea indica Less) terhadap Proses Spermatogenesis pada Mencit (Mus musculus)*. *Skripsi*. Malang : UIN Malang
- Sa'roni, dan Yun Astuti Nugroho. 2012. Ramuan Obat Tradisional di Sumatra Barat dan Nusa Tenggara Barat untuk Keluhan pada Sistem Reproduksi. *Media Litbang Kesehatan*. Vol. 22. No. 3. Hal : 144-151
- Sari, Dewi Pramitha. 2011. *Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica [L.] Urban) terhadap Peningkatan Produktivitas Mencit (Mus musculus L.) Strain BALB-C : Skripsi*. Jember : Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Mipa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember
- Satyaningtias, Aryani Sismin, Hera Maheshwari, Pudji Achmadi, Wisnugroho Agung Pribadi, Sandra Hapsari, Divo Jondriatno, Isdoni Bustaman, Bambang Kiranadi. 2014. Kinerja Reproduksi Tikus Bunting Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol. 8. No. 1. Hal : 35 - 37
- Seevaratnam, Vasantharuba, P. Banumathi, M.R. Premalatha, Sp.Sundaram, T.Arumugam. 2012. Functional Properties of *Centella asiatica* (L.) : A Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 4. Suppl 5. Page : 8-14

- Scanlon Valerie C, dan Sanders Tina. 2007. *Buku Ajar Anatomi dan Fisiologi*. Jakarta : EGC
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta : Lentera Hati
- Simbolon, Indra Saputra, Triva Murtina Lubis, Mulyadi Adam. 2013. Persentase Spermatozoa Hidup pada Wistar dan Sprague-Dawley. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol. 7. No. 2. Hal : 79- 83
- Singh, Sakshi, Asmita Gautam, Abhimanyu Sharma, dan Amia Batra. 2010. *Centella asiatica* (L) : A Plant With Immense Medicinal Potential But Threared. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Vol. 4. No. 2. Hal : 1-9
- Sitasiwi, Agung Janika. 2008. *Efek Paparan Tepung Kedelai dan Tepung Tempe sebagai Sumber Fitoestrogen terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus Mencit (Mus musculus L.)*. Semarang : Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi F. Mipa UNDIP
- Sjahfirdi, Luthfiralda. 2013. Pemeriksaan Profil Hormon Progesteron Selama Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan Perangkat Inframerah. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol. 7. No. 1. Hal : 32 – 36
- Speroff, L, Glass RH, Kase NG. 1999. *Clinical Gynaecology Endocrinology and Infertility*. 6th ed. Baltimore : Williams and Wilkins
- Suheimi, K. 2007. *Fisiologi Folikulogenesis dan Ovulasi*. Dalam makakah pada symposium pertemuan ilmiah
- Sulastry, Feni. 2009. *Uji Toksisitas Akut yang Diukur Dengan Penentuan LD<sub>50</sub> Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) Terhadap Mencit BALB/C : Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah*. Semarang : Fakultas Kedokteran UNDIP
- Suriyaphan, O. 2014. Nutrition, Health Benefits and Application of *Pluchea indica* (L.) Less Leaves. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 41. No. 4. Hal : 1-10
- Susetyarini, Eko. 2011. *Khasiat Beluntas Sebagai Antifertilitas (Uji pre-klinis)*. Malang : UMM Press
- Treuting, Piper M., Suzanne M. Dintzis. 2012. *Comparative Anatomy and Histology* . British : AP
- Triyanto. 2014. *Pengaruh Penggunaan Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica Less) sebagai Pengganti Klorin terhadap Kecernaan Bahan Organik*,

*Retensi Nitrogen Dan Utilitas Protein Ayam Broiler. Skripsi.* Semarang : Program Studi S1 Peternakan Fakultas Peternakan dan Pertanian UNDIP Semarang

- Turner, C. Donnel dan Joseph T. Bagnara. 1976. *Endokrinologi Umum.* Penerjemah Harsojo. Surabaya : Airlangga University Press
- Wagner, H. 1984. *Immunostimulants of Fungi and Higher Plants. Definition Scope Aims Stimulants*
- Wibowo B. 1994. *Ilmu Kandungan Edisi Ke-2.* Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawiroharjo
- Widyawati Painsi Sri, C. Hanny Wijaya, Peni Suprpti Hardjosworo, Dondin Sajuthi. 2010. Evaluasi Aktivitas Antioksidatif Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Berdasarkan Perbedaan Ruas Daun. *Jurnal Penelitian.* Vol. 1. No. 1
- Willys. 1990. *Farmasi FMIPA.* Makasar. UNHAS
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi.* Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama
- Winarto, W.P. 2003. *Khasiat dan Manfaat Pegagan Tanaman Penambah Daya Ingat Edisi I.* Jakarta: Agromedia Pustaka
- Wurlina dan Wijayat S. 2003. Pengaruh Perasan *Achyranthes aspera* Linn terhadap Perkembangan Embrio (Cleavage) Mencit. <http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/file/J.%20Penelit.%20Med,%20Eksakta%203-3%20Des%202002%20%5B09%5D.pdf>, diakses tanggal 9 Februari 2015
- Yanwirasti. 2008. *Langkah – Langkah Pokok Penelitian Biomedik.* Padang : FK Andalas Padang

### Lampiran 1. Hasil Penelitian Setelah Pemberian Perlakuan

#### Kadar Hormon Estrogen (ng/mL)

	Ulangan Ke-					
	1	2	3	4	$\Sigma$	Rata-rata
Kontrol	207,5	241,4	246	241,6	936,5	234,125
P1	250,3	223,3	236,1	235,6	945,3	236,325
P2	234,4	247,4	246,5	249,4	977,7	244,425
P3	244,2	234,9	235,3	249,6	964	241
P4	216,2	243,1	231,4	243,4	934,1	233,525
P5	220,6	203,5	211	216,5	851,6	212,9

#### Berat Uterus (mg)

	Ulangan Ke-					
	1	2	3	4	$\Sigma$	Rata-rata
Kontrol	127,6	190,9	177,8	123,4	619,7	154,925
P1	78,9	370,6	210,4	136,6	796,5	199,125
P2	207,1	128	197,8	95,4	628,3	157,075
P3	262,6	315	125,4	131,7	834,7	208,675
P4	187,3	132	141,4	71,5	532,2	133,05
P5	163,8	143,7	76	192,3	575,8	143,95

### Lampiran 2. Perhitungan Manual Statistik Hasil Penelitian Setelah Pemberian Perlakuan

#### Kadar Hormon Estrogen (ng/mL)

	Ulangan Ke-					
	1	2	3	4	$\Sigma$	Rata-rata
Kontrol	207,5	241,4	246	241,6	936,5	234,125
P1	250,3	223,3	236,1	235,6	945,3	236,325
P2	234,4	247,4	246,5	249,4	977,7	244,425
P3	244,2	234,9	235,3	249,6	964	241
P4	216,2	243,1	231,4	243,4	934,1	233,525
P5	220,6	203,5	211	216,5	851,6	212,9

$$x = \frac{\text{total jumlah}}{\text{perlakuan} \times \text{ulangan}}$$

$$= \frac{5584,2}{24}$$

$$= 232,675$$

$$Fk = \frac{\text{kuadrat jumlah total}}{\text{perlakuan} \times \text{ulangan}}$$

$$= \frac{5584,2^2}{24}$$

$$= \frac{31183289,64}{24}$$

$$= 1299303,735$$

$$\text{JK total percobaan} = 207,5^2 + 241,4^2 + 246^2 + 241,6^2 + \dots + 216,5^2 - Fk$$

$$= (1303825,38) - (1299303,735)$$

$$= 4521,645$$

$$\text{JK perlakuan} = \frac{936,5^2 + 945,3^2 + 952,7^2 + 964^2 + 934,1^2 + 851,6^2}{4} - Fk$$

$$= (1301330,8) - (1299303,735)$$

$$= 2494,63$$

$$\text{JK galat} = \text{JK total percobaan} - \text{JK perlakuan}$$

$$= (4521,645) - (2494,63)$$

$$= 2494,63$$

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	5	2027,015	405,403	2,925	2,77
Galat	18	2494,63	138,59056		
Total	23	4521,645			

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t_{0,05} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KT Galat}}{\text{Ulangan}}} \\
 &= 2,101 \times 8,32438 \\
 &= 17,48952238
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t_{0,05} \times \sqrt{\frac{2 \text{ KT Galat}}{\text{Ulangan}}} \\
 &= 2,878 \times 8,32438 \\
 &= 23,95756564
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata (ng/mL)	Notasi
P5	212,900 ± 7,3986	a
P4	233,525 ± 12,8305	b
Kontrol	234,125 ± 17,8765	b
P1	236,325 ± 11,0382	b
P2	238,175 ± 10,9302	b
P3	241,000 ± 7,1624	b

### Berat Uterus (mg)

	Ulangan Ke-				Σ	Rata-rata
	1	2	3	4		
Kontrol	127,6	190,9	177,8	123,4	619,7	154,925
P1	78,9	370,6	210,4	136,6	796,5	199,125
P2	207,1	128	197,8	95,4	628,3	157,075
P3	262,6	315	125,4	131,7	834,7	208,675
P4	187,3	132	141,4	71,5	532,2	133,05
P5	163,8	143,7	76	192,3	575,8	143,95

$$\begin{aligned}
 x &= \frac{\text{total jumlah}}{\text{perlakuan} \times \text{ulangan}} \\
 &= \frac{3987,2}{24} \\
 &= 166,1333
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 Fk &= \frac{\text{kuadrat jumlah total}}{\text{perlakuan} \times \text{ulangan}} \\
 &= \frac{3987,2^2}{24} \\
 &= \frac{15897764}{24} \\
 &= 662406,8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK total percobaan} &= 127,6^2 + 190,9^2 + 177,8^2 + \dots + 192,3^2 - Fk \\
 &= 782663,4 - 662406,8 \\
 &= 120256,6
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK perlakuan} &= \frac{619,7^2 + 796,5^2 + 628,3^2 + 834,7^2 + 532,2^2 + 575,8^2}{4} - Fk \\
 &= 681177 - 662406,8 \\
 &= 18770,12
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK galat} &= \text{JK total percobaan} - \text{JK perlakuan} \\
 &= 120256,6 - 18770,12 \\
 &= 101486,5
 \end{aligned}$$

SK	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	5	18770,12	3754,024667	0,666	2,77
Galat	18	101486,5	5638,136111		
Total	23	120256,67			

### Lampiran 3. Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Dengan SPSS

#### Kadar Hormon Estrogen

#### NPar Tests

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hormon Estrogen
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	232,675
	Std. Deviation	14,0212
Most Extreme Differences	Absolute	,174
	Positive	,104
	Negative	-,174
Kolmogorov-Smirnov Z		,852
Asymp. Sig. (2-tailed)		,462

a Test distribution is Normal

b Calculated from data

#### ANOVA

#### Kadar Hormon

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2027,015	5	405,403	2,925	,042
Within Groups	2494,630	18	138,591		
Total	4521,645	23			

**Dependent Variable : Kadar Hormon  
LSD**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Kadar\_Estrogen

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Upper Bound	Lower Bound	
LSD	Kontrol	P1	-2,2000	8,3244	,795	-19,689	15,289
		P2	-4,0500	8,3244	,632	-21,539	13,439
		P3	-6,8750	8,3244	,420	-24,364	10,614
		P4	,6000	8,3244	,943	-16,889	18,089
		P5	21,2250(*)	8,3244	,020	3,736	38,714
	P1	Kontrol	2,2000	8,3244	,795	-15,289	19,689
		P2	-1,8500	8,3244	,827	-19,339	15,639
		P3	-4,6750	8,3244	,581	-22,164	12,814
		P4	2,8000	8,3244	,740	-14,689	20,289
		P5	23,4250(*)	8,3244	,011	5,936	40,914
	P2	Kontrol	4,0500	8,3244	,632	-13,439	21,539
		P1	1,8500	8,3244	,827	-15,639	19,339
		P3	-2,8250	8,3244	,738	-20,314	14,664
		P4	4,6500	8,3244	,583	-12,839	22,139
		P5	25,2750(*)	8,3244	,007	7,786	42,764
	P3	Kontrol	6,8750	8,3244	,420	-10,614	24,364
		P1	4,6750	8,3244	,581	-12,814	22,164
		P2	2,8250	8,3244	,738	-14,664	20,314
		P4	7,4750	8,3244	,381	-10,014	24,964
		P5	28,1000(*)	8,3244	,003	10,611	45,589
P4	Kontrol	-,6000	8,3244	,943	-18,089	16,889	
	P1	-2,8000	8,3244	,740	-20,289	14,689	
	P2	-4,6500	8,3244	,583	-22,139	12,839	
	P3	-7,4750	8,3244	,381	-24,964	10,014	
	P5	20,6250(*)	8,3244	,023	3,136	38,114	
P5	Kontrol	-21,2250(*)	8,3244	,020	-38,714	-3,736	
	P1	-23,4250(*)	8,3244	,011	-40,914	-5,936	
	P2	-25,2750(*)	8,3244	,007	-42,764	-7,786	
	P3	-28,1000(*)	8,3244	,003	-45,589	-10,611	
	P4	-20,6250(*)	8,3244	,023	-38,114	-3,136	

\*) Berarti Berbeda nyata pada signifikansi 0,05 (5%)

**Berat Uterus****NPar Tests****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Berat_Uterus
N		24
Normal Parameters(a,b)	Mean	166,133
	Std. Deviation	72,3087
Most Extreme Differences	Absolute	,163
	Positive	,163
	Negative	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,801
Asymp. Sig. (2-tailed)		,543

a Test distribution is Normal

b Calculated from data

**ANOVA****Berat Uterus**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18770.123	5	3754.025	.666	.654
Within Groups	101486.450	18	5638.136		
Total	120256.573	23			

#### Lampiran 4. Foto Penelitian



Injeksi Hormon Prostaglandin



Ulas Vagina



Pengamatan Hasil Ulas Vagina



Pemberian Perlakuan Melalui Sonde Lambung



Pembedahan Tikus



Pengambilan Darah untuk Uji ELISA



Penimbangan Berat Uterus



Sentrifius untuk Memisahkan Serum darah



Serum Darah Uji ELISA



Pengukuran Absorbansi Serum Darah Tikus



**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Ihda Sayidatun Nasiroh  
NIM : 11620025  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan Beluntas (*Pluchea indica* L) terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Berat Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina  
Pembimbing I : Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	3 Februari 2015	Konsultasi Judul	1.
2.	6 Februari 2015	Revisi Judul dan Konsultasi BAB I	2.
3.	18 Februari 2015	Revisi BAB I	3.
4.	20 Februari 2015	Konsultasi BAB II	4.
5.	12 Maret 2015	Revisi BAB II	5.
6.	20 Maret 2015	Konsultasi BAB III	6.
7.	1 April 2015	Revisi BAB III	7.
8.	23 April 2015	ACC BAB I, II, dan III	8.
9.	18 Agustus 2015	Konsultasi Data Hasil Penelitian	9.
10.	31 Agustus 2015	Konsultasi BAB IV	10.
11.	14 September 2015	Revisi BAB IV	11.
12.	21 Oktober 2015	Revisi BAB IV dan Konsultasi BAB V	12.
13.	9 November 2015	Konsultasi BAB I, II, III, IV dan V	13.

14.	10 November 2015	ACC BAB I, II, III, IV dan V	14.
-----	------------------	------------------------------	-----

Malang, 10 November 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002





**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Ihda Sayidatun Nasiroh  
NIM : 11620025  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan Beluntas (*Pluchea indica* L) terhadap Kadar Hormon Estrogen dan Berat Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina  
Pembimbing II : Mujahidin Ahmad, M.Sc

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	2 April 2015	Konsultasi BAB I Agama	1.
2.	17 April 2015	Revisi BAB I Agama	2.
3.	24 April 2015	Konsultasi BAB II Agama	3.
4.	30 April 2015	Revisi BAB II Agama	4.
5.	6 Oktober 2015	Konsultasi BAB IV Agama	5.
6.	12 Oktober 2015	Revisi BAB IV Agama	6.
7.	9 November 2015	Konsultasi BAB I, II, dan IV Agama	7.
8.	10 November 2015	ACC BAB I, II, dan IV Agama	8.

Malang, 10 November 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



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